

УДК 612.398.192:616.71-001.518  
© Безсмертний Ю.О., 2012

## ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ ПРИ ДІАФІЗАРНИХ ПЕРЕЛОМАХ НА ФОНІ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Безсмертний Ю. О.

*НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця*

**Вступ.** Відомо, що перебіг репаративного остеогенезу при діафізарних переломах, у значній мірі, детермінує низка зовнішніх і внутрішніх чинників: вік, стать, рівень фізичної активності, наявність супутньої патології (цукровий діабет, атеросклероз, остеопороз тощо) [2, 5]. В останні роки з'явилися повідомлення, що один із провідних факторів ризику серцево-судинних захворювань та тромбозів – гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) асоціюється з високим ризиком розвитку остеопорозу та переломів [3, 4, 6]. Негативний вплив ГГЦ на різні тканини та органи спричинює, насамперед, через порушення процесів регуляції судинного тонуусу та пригнічення продукції вазоактивних молекул – ацетилхоліну, нітрогенмонооксиду (NO), гідрогенсульфіду (H<sub>2</sub>S) тощо [7, 8]. Від'ємну дію ГГЦ на кісткову тканину здебільшого пов'язують з активізацією процесів остеокластичної резорбції та демінералізацією кісткової тканини, деградацією колагену та хімічною модифікацією кісткових білків тощо [8–10], що призводить до розладів процесів відновлення кісткової та інших функціонально пов'язаних з нею тканин. Не визначено також, у якій мірі засоби з гіпогомоцистеїнімичним ефектом за умов ГГЦ здатні запобігати розвитку небажаних змін у кістковій тканині.

**Мета дослідження:** вивчити в експерименті особливості перебігу репаративного остеогенезу на фоні гіпергомоцистеїнемії та обґрунтувати можливість їх корекції засобами з гіпогомоцистеїнімичним ефектом.

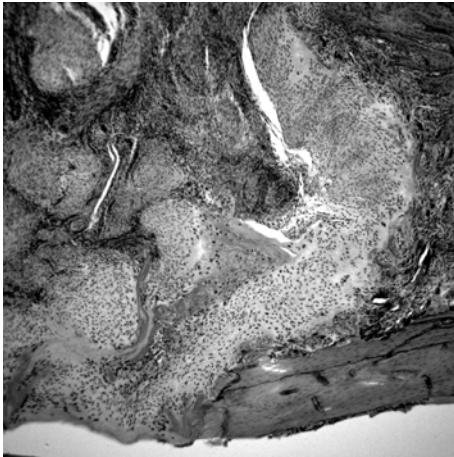
**Матеріали і методи.** Досліди проведені на 90 білих нелінійних щурах-самцях, масою 250–270 г. Під час експериментів усі тварини перебували в стандартних умовах, з 12-годинним світлотіньовим режимом, вільним доступом до води та їжі і отримували напівсинтетичну крохмально-казеїнову дієту з контрольованим вмістом усіх макро- та мікронутрієнтів [5]. Дослідні тварини були розділені на 6 груп. Першу (контрольну) групу склали 15 інтактних щурів. У тварин 2–6-ї груп у стерильних умовах моделювали поперечний перелом стегнової кістки на рівні середньої третини діафіза: ортопедичним сепаративним диском розпилювали діафіз на 2/3 його товщини і виконували перелом. У кістково-мозковий канал проксимального та дистального відламків вводили спицю Кіршнера, діаметром 1 мм. Після співставлення відламків виконували гемостаз та рану зашивали. Додаткову іммобілізацію кісткових відламків не застосовували. У тварин 3–6 груп (60 щурів) викликали ГГЦ шляхом інтрагастрального введення D, L-гомоцистеїну (Fluka, Німеччина) у дозі 100 мг/кг маси тіла на 1% розчині крохмалю 1 раз на добу протягом 14 днів до перелому та 45 днів після його моделювання. Тваринам 4–6 груп проводили метаболічну корекцію.

Тварини 4-ї групи отримували полівітамінний комплекс декамевіт (декамевіт®, АТ “Київський вітамінний завод”). Препарат декамевіт містить високі дози вітамінів B6, B9, B12 (20,0; 2,0; 0,1 мг відповідно в одній таблетці), що забезпечує гіпогомоцистеїнімичний ефект [1]. Щурів отримували з дієтою декамевіт (781 мг/кг сухого корму, що забезпечувало надходження 1430 мкг вітаміну B6, 143 мкг – вітаміну B9, 7,15 мкг – вітаміну B12 на 1 кг маси тіла). Тваринам 5-ї групи метаболічну корекцію проводили глутаргіном. Препарат глутаргін (сіль L-аргініну та L-глутамінової кислоти, ТОВ Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна) є донором оксиду азоту і володіє антигіпоксичною, антиоксидантною та мембраностабілізуючою дією. Глутаргін вводили в дозі 200 мг/кг інтрагастрально на 1% розчині крохмалю 1 раз на добу. Тварини 6-ї групи отримували комбіновану метаболічну корекцію декамевітом та глутаргіном. Щурів виводили з експерименту на 15, 30 та 45 добу шляхом декапітації під ефірним наркозом. Досліди виконували згідно міжнародних вимог «Європейської конвенції з захисту експериментальних тварин, які використовуються для експериментів або з іншою науковою метою» (Strasbourg, 18 березня 1986), правил гуманного відношення до експериментальних тварин, затверджених комітетом з біоетики ВНМУ ім. М. І. Пирогова.

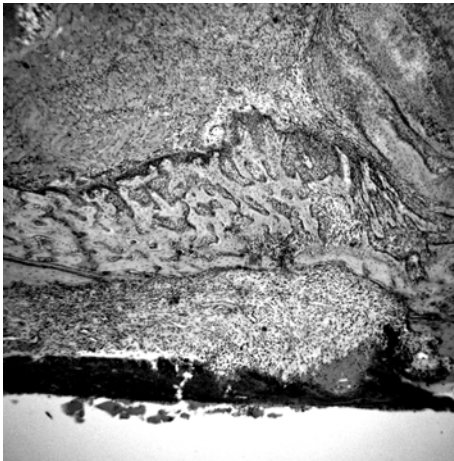
Морфологічні дослідження регенерату вивчали в строки 15, 30 та 45 днів після отримання перелому. Для цього після евтаназії тварини стегнову кістку виділяли, фіксували в 10% нейтральному формаліні, декальцінували в 8% розчині азотної кислоти та після зневоднення і знежирювання в ацетонах та спиртах наростаючої міцності заливали в целоїдин. Гістологічні зрізи товщиною 10–15 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином і середину ділянки перелому, гістологічних зрізів стегнової кістки, відмічали помірний набряк та слабко виразні дистрофічні зміни в м'язах. Між кістковими фрагментами спостерігали залишки гематоми, розлади кровопостачання пікрофуксином за ван Гізеном.

**Результати та їх обговорення.** У тварин другої, контрольної, групи на 15 добу після отримання діафізарного перелому на повздожних, через ділянки активного ангіогенезу та формування регенерату, до структур якого входили остеогенна та фіброретикулярна тканини, а також осередки кісткової, хондродної та фіброзної тканин (рис. 1). На відстані від краю кісткового фрагмента, у кістково-мозковій порожнині, регенерат був представлений переважно остеогенною кістковою тканиною, яка формувала ендостальний компонент мозолі, у вигляді різної щільності мережі молодих кісткових перекладок, вкритих ланцюжками активних остеобластів. На поверхні кінців кісткових відламків,

особливо проксимального, формувалися нерівномірної товщини періостальні нашарування кісткової тканини, що призводило до фіброзно-кісткового зрощення відламків. На 30 добу після перелому активно формувалися тканинні структури та чітко визначали утворення кісткового зрощення відламків. У регенераті, що формувався, переважала новоутворена кісткова тканина, за рахунок ендостального та періостального остеогенезу, але повного кісткового зрощення відламків у цей срок спостереження не відбулося. Тільки на 45 добу після отримання перелому в чотирьох з п'яти тварин виявляли кісткове зрощення відламків за рахунок періостального та ендостального остеогенезу (рис. 2).



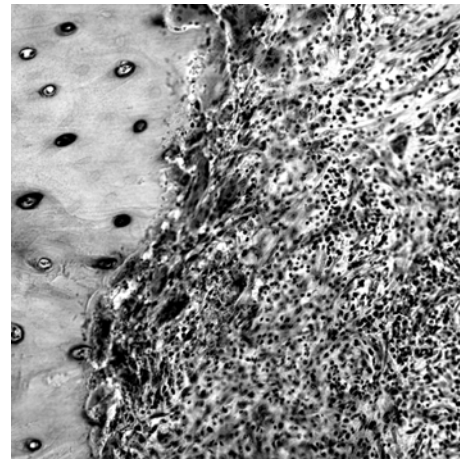
**Рис. 1.** Структура регенерату, що формується між кістковими відламками. Залишки гематоми, остеогенна, фіброретикулярна, кісткова, хондрійна, фіброзна тканини та явища остеогенезу. Гематоксилін та еозин.  $\times 10$ . 15 діб. Контроль



**Рис. 2.** Кісткове зрощення кісткових уламків за рахунок періостального кісткоутворення. 45 діб після перелому. Гематоксилін та еозин.  $\times 5$ . Контроль

У тварин, в яких створювали ГГЦ (третя група), на 15 добу після моделювання перелому, відмічали набряк м'язів, що межували з ділянкою перелому, нерівномірне потовщення м'язових волокон з ознаками гомогенізації. Між кістковими фрагментами виявляли залишки гематоми, проліферацію остеогенних клітин та вrostання остеогенної тканини у фібринові скупчення з формуванням

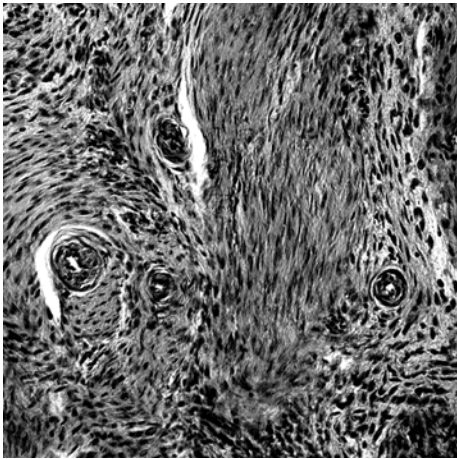
фіброзного зрощення відламків. Осередки молодих кісткових перекладок утворювались у кістково-мозковій порожнині на віддалі від країв відламків. У кістковій тканині відламків спостерігали ділянки некрозу. Періостальний регенерат був краще виразний з боку проксимального відламка стегнової кістки. Кісткова тканина відламків ділянками піддавалася виразній остеокластичній резорбції (рис. 3). На поверхні кісткових відламків формувалася шар періостальних нашарувань нерівномірної товщини. Через 30 діб після перелому в регенераті візуально активного формування кісткової тканини між кістковими відламками не спостерігали, переважали ділянки фіброзної тканини, в якій виявляли судини з різко потовщеними стінками та явищами облітерації (рис. 4). Новоутворені ендостальний та періостальний компоненти кісткової мозолі піддавалися перебудові. Між кістковими фрагментами та по їх периферії виявляли поширені ділянки сформованої переважно фіброзної та менше хондрійної тканини, за рахунок яких і відбувалося формування зрощення кісткових відламків. Явища резорбції некротизованої кісткової тканини відламків прогресували. Кістковий мозок на ділянках новоутвореної кісткової тканини був червоним, на інших – фіброретикулярним, в якому виявляли поширені капіляри та кістоподібні утворення. На 45 добу після перелому кісткового зрощення відламків не відбулося в жодному випадку. Зрощення формувалося переважно за рахунок фіброзної та хондрійної тканин (рис. 5). Фіброзна тканина переважала не тільки в ендостальному, але й періостальному компонентах регенерату. Новоутворені ділянки кісткової тканини регенерату та кісткова тканина відламків піддавались активній перебудові, в якій переважав процес остеокластичної резорбції. У кістково-мозковому каналі виявляли формування жовтого кісткового мозку, повнокровні й нерівномірно поширені синусоїди та капіляри.



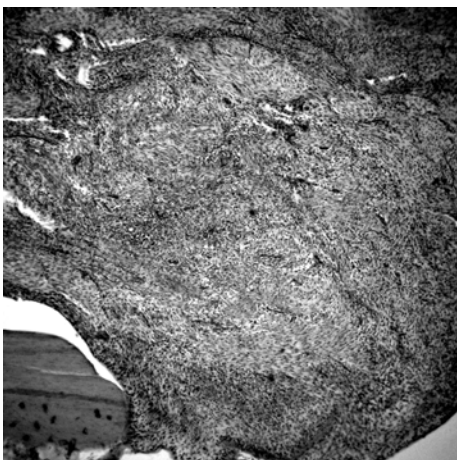
**Рис. 3.** Остеокластична резорбція ділянок некротизованої кісткової тканини відламків. Гематоксилін та еозин.  $\times 20$ . 15 діб після перелому. Загоєння перелому на фоні ГГЦ

На 15 добу у тварин, в яких на фоні ГГЦ проводили метаболічну корекцію декамевітом або глутаргіном (четверта та п'ята групи тварин відповідно), відмічали однотипну динаміку перебігу репаративного процесу схожу із тим, що спостерігали у тварин третьої групи. Дегенеративно-

дистрофічні зміни з боку кісткової тканини у цих тварин були виразні менше, ніж у тварин, яких годували тільки одним тіолактоном D, L-гомоцистеїну. На 30 добу спостереження ендостальний та періостальний компоненти регенерату містили переважно хондрійну та фіброзну тканини (рис. 6 та 7). Кістковий компонент регенерату, що сформований переважно на віддалі від країв кісткових уламків, та кісткова тканина відламків піддавалася активній перебудові. Між відламками формувалося хондрійно-фіброзне зрощення, хрящова тканина активно піддавалась ендохондріальному окостенінню. На 45 добу експерименту у тварин четвертої та п'ятої груп часткове кісткове зрощення спостерігали в п'яти тварин (дві – у третій та три – у четвертій групі). Новоутворені ділянки кісткової тканини регенерату та кісткова тканина відламків піддавались активній перебудові, в якій переважав процес остеокластичної резорбції. У кістково-мозковому каналі поступово формувався жовтий кістковий мозок, зберігалася повнокров'я та нерівномірне поширення синусоїдів та капілярів.



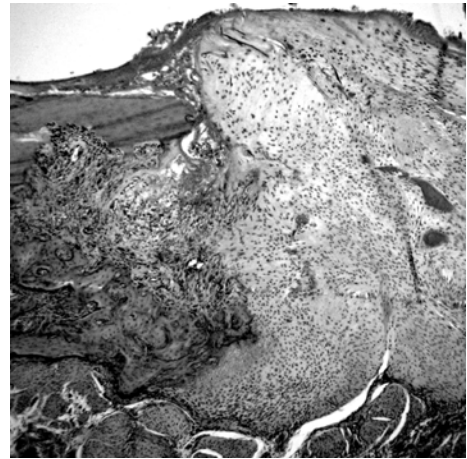
**Рис. 4.** Ділянка фіброзної сполучної тканини, яка містить судини з потовщеними стінками та явищами облітерації. Гематоксилін та еозин. х20. 30 діб після перелому. Загоєння перелому на фоні ГГЦ



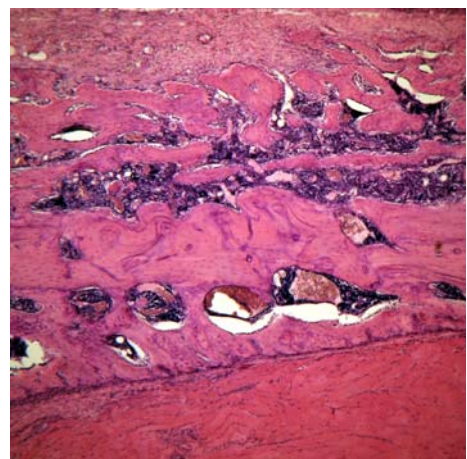
**Рис. 5.** Фіброзно-хондрійне зрощення кісткових відламків. Гематоксилін та еозин. х5. 45 діб після перелому. Загоєння перелому на фоні ГГЦ



**Рис. 6.** Фіброзно-хондрійне зрощення кісткових уламків. Гематоксилін та еозин. х5. 30 діб після перелому. Загоєння перелому на фоні ГГЦ та корекції декамевітом



**Рис. 7.** Хондрійно-фіброзне зрощення кісткових уламків. Гематоксилін та еозин. х5. 30 діб після перелому. Загоєння перелому на фоні ГГЦ та корекції глутаргіном



**Рис. 8.** Перебудова ендостального та періостального регенератів. Гематоксилін та еозин. х5. 45 діб після перелому. Загоєння перелому на фоні ГГЦ та корекції глутаргіном та декамевітом

У тварин шостої групи, яким на фоні ГГЦ проводили комбіновану метаболічну корекцію декамевітом та глутаргіном, на 15 добу після перелому

відмічали помірний набряк м'язів, що межували з ділянкою перелому, та слабо виразні дистрофічні зміни м'язових волокон. На ділянці перелому виявляли активну проліферацію остеогенних клітин та їх диференціювання в напрямку формування пула клітин кісткового диферону, формування хрящоподібної та, особливо, сполучної тканин проявлялося тільки на окремих невеликих ділянках між кістковими відламками та параосально навколо відламків, що зрощуються. На відстанні від країв кісткових відламків, особливо в проксимальному відламку, також виявляли нерівномірної товщини шар періостальних нашарувань та ендостальний регенерат. На 30 добу в одному випадку тварин цієї групи кістковий компонент регенерату збільшувався та призводив до формування часткового кісткового зрощення. Перебудова періостального та ендостального регенератів прогресувала. У ділянках хондріодної тканини відмічали активне ендохондріальне окостеніння. Репаративний остеогенез у цей строк спостереження прогресував тільки на окремих ділянках. Некротизовані ділянки кісткових відламків піддавалися остеокластичній резорбції. На 45 добу спостереження часткове кісткове зрощення кісткових ула-

нків отримано у п'яти тварин цієї групи. Процеси перебудови утвореного регенерату та кісткової тканини відламків, що були спрямовані на формування типових тканинних структур, характерних для компактної кісткової тканини діафіза стегнової кістки, продовжувалися (рис. 8).

Таким чином, проведені експериментальні дослідження засвідчили, що ГГЦ гальмує процес остеогенезу, супроводжується формуванням фіброзної сполучної тканини між кістковими відламками. Проведення комплексної метаболічної корекції ГГЦ декамевітом та глутаргіном сприяє оптимізації репаративного остеогенезу та гальмує розвиток фіброзної сполучної тканини в регенераті при загоєнні діафізарного перелому.

#### Висновки:

1. ГГЦ викликає розлади кровопостачання з порушенням репаративного остеогенезу і формуванням поширених некротичних та дистрофічних змін тканин у ділянці перелому.

2. Метаболічна корекція ГГЦ препаратами з гіпогомоцистеїнемічним ефектом (декамевіт та глутаргін) сприяє оптимізації репаративної регенерації кісткової тканини при переломах кісток.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. **Артемчук М. А.** Профілактично-лікувальна дія вітамінних та вітамінно-мікроелементних препаратів за гострої та хронічної метіонінової гіпергомоцистеїнемії / М.А. Артемчук // *Biomed. Biosocial. Anthop.* – 2006. – № 7. – С. 17–20.
2. **Корж Н. А.** Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Нарушение регенерации кости (Сообщение 2) / Н. А. Корж, К. К. Романенко, Л. Д. Горидова // *Ортопедия, травматология и протезирование.* – 2006. – № 1. – С. 84–90.
3. 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. Пентюк О. О. Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан су-динної системи в експерименті / О. О. Пентюк, М. Б. Луцюк, К. П. Поставітенко // *Досягнення біології та медицини.* – 2004. – № 1 (3). – С. 35–38.
4. Ферментная стимуляция остеогенеза при несросшихся переломах и ложных суставах костей конечностей / **В. И. Зоря,** Н. В. Ярыгин, Е. Д. Скляничук, А. П. Васильев // *Вестн. травматол. и ортопед. им. Н. Н. Приорова,* 2007. –
- № 2. – С. 80–85.
5. 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.
6. 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.
7. **Saito M.** Poor bone quality in diabetes and arteriosclerosis / M. Saito // *Clin. Calcium.* – 2009. – Vol. 19, № 9. – P. 1257–1268.
8. **Herrmann M.** The role of hyperhomocysteinemia as well as folate, vitamin B(6) and B(12) deficiencies in osteoporosis: a systematic review / Herrmann M., Peter Schmidt J., Umanskaya N. [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2007. – Vol. 45, № 12. – P. 1621–1632.
9. Vitamin B12 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.

**Бессмертный Ю.А.** Особенности течения репаративного остеогенеза на фоне гипергомоцистеинемии (экспериментальное исследование) // *Український медичний альманах.* – 2012. – Том 15, №5. – С. 175–178.

Исследовано влияние гипергомоцистеинемии (ГГЦ) и его корекция на течение репаративного остеогенеза в экспериментальных условиях. Установлено, что ГГЦ вызывает нарушение репаративной регенерации и обширные некротические и дистрофические изменения тканей в области перелома. Использование препаратов с гипогомоцистеинемическим эффектом (декамевит и глутаргин) способствует оптимизации репаративного остеогенеза и ингибирует развитие дегенеративно-некротических изменений в тканях при переломах костей.

**Ключевые слова:** гипергомоцистеинемия, перелом, репаративный остеогенез, декамевит, глутаргин.

**Безсмертний Ю.О.** Особливості перебігу репаративного остеогенезу при діафізарних переломах на фоні гіпергомоцистеїнемії (експериментальне дослідження) // *Український медичний альманах.* – 2012. – Том 15, №5. – С. 175–178.

В експериментальних умовах досліджено вплив гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) та можливість його корекції на перебіг репаративного остеогенезу. Встановлено, що ГГЦ викликає порушення репаративної регенерації та поширені некротичні та дистрофічні зміни тканин на ділянці перелому. Застосування препаратів з гіпогомоцистеїнемічним ефектом (декамевіт та глутаргін) сприяє оптимізації перебігу репаративного остеогенезу при переломах кісток.

**Ключові слова:** гіпергомоцистеїнемія, перелом, репаративний остеогенез, декамевіт, глутаргін.

**Bezsmertnyi Y.A.** Reparative osteogenesis at hyperhomocysteinemia (experimental study) // *Український медичний альманах.* – 2012. – Том 15, №5. – С. 175–178.

The influence of hyperhomocysteinemia (HNCy), its corrections of reparative osteogenesis are investigated. It is established, that HNCy induces dysregulation of reparative osteogenesis with the formation of large areas of necrosis and degeneration at the fracture site. Metabolic correction HNC preparations with hypohomocysteinemic action (decamevitum, glutarginum) optimizes for reparative regeneration of the fracture.

**Key words:** hyperhomocysteinemia, fracture, reparative osteogenesis, decamevitum, glutarginum.

Надійшла 03.09.2012 р.  
Рецензент: проф. В.І.Лузін