

## **ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ ОПІОЇДНИХ ПЕПТИДІВ ДЛЯ ОПТИМІЗАЦІЇ ПРОЦЕСУ РЕГЕНЕРАЦІЇ ТРАВМАТИЧНОГО ДЕФЕКТУ КІСТКИ**

©М. О. Камінська

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія», Дніпропетровськ*

**РЕЗЮМЕ.** У статті подано результати гістологічного дослідження дистального відділу стегнової кістки експериментальних тварин при травматичному дефекті.  
**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** травматичний дефект, стегнова кістка.

**Вступ.** Незважаючи на те, що вивчення процесу регенерації кісткової тканини триває вже багато років і цій проблемі присвячено багато експериментальних та клінічних робіт, вона на сьогодні остаточно не вирішена, оскільки продовжується дискусія про джерела регенерації кісток при загоєнні перелому. Аналізуючи дані літератури щодо питання можливості корекції розладів процесу регенерації тканин, для вибору найоптимальнішого засобу оптимізації регенерації кісткової тканини при переломах кісток ми звернули увагу на наступні факти [4].

Щоб речовина сприяла регенерації, вона повинна забезпечувати підготовчі процеси в організмі. Вони полягають у пригніченні стресорної реакції, при якій вивільнюється надлишкова кількість катехоламінів і глюкокортикоїдів, що сповільнює процес регенерації; забезпеченні адекватної мікроциркуляції в ділянці майбутньої регенерації; активізації імунних процесів; посиленні енергоутворення в місці регенерації; збільшенні синтезу нуклеїнових кислот і білка [3, 4, 6].

Особливий інтерес у цьому аспекті викликав аналіз ефектів впливу на організм енкефалінів. Найактивнішим синтетичним аналогом ендогенних опіоїдних пептидів є даларгін [2, 5].

**Мета дослідження** – вивчити в експерименті вплив препарату «Даларгін» на стадії репаративної регенерації кісток і визначити можливість його застосування для оптимізації процесу остеогенезу.

**Матеріал і методи дослідження.** Експеримент проводили на 118 білих лабораторних щурах лінії Вістар (вік 3 міс., маса 178,6±11,5 г) в умовах відтворення кісткової рани в надвиростковій ділянці дистального відділу стегнової кістки. Травматичне ушкодження моделювали у вигляді стандартного дірчастого дефекту під загальним тіопенталовим наркозом (внутрішньом'язовий, 25 мг/кг живої маси). Для оптимізації репаративного процесу тварин лікували даларгіном при внутрішньом'язовому введенні щодня в дозі 2 мг на 100 г живої маси до 28 днів, починаючи лікування в різних серіях експериментів з 1, 3 та 7 доби. Строки введення препарату «Даларгін» вибрано з огляду на

стадійно-часові характеристики репаративного процесу кісткового дефекту в щурів [1]. Контролем слугували тварини з травматичним ушкодженням кістки, яких не лікували. Тварин виводили з експериментів на 7, 14, 21 і 28 добу шляхом передозування ефіру. Для гістологічного дослідження виділяли фрагмент стегнової кістки з ділянкою травматичного ушкодження. Досліджували матеріал методами світлової і електронної мікроскопії.

Догляд тварин та маніпуляції проводили відповідно до вимог Додатка 4 до «Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12.08.1997 р. «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин» та положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики» (Київ, 2001).

**Результати й обговорення.** Досліджуючи ефективність засобів для можливості керування процесами репаративної регенерації тканин, ми надали перевагу ендогенним опіоїдним пептидам, синтетичним аналогом яких є даларгін, відомий як ефективний стимулятор регенерації тканин.

При аналізі результатів експериментальних досліджень щодо впливу даларгіну на регенерацію травматичного дефекту кісткової тканини отримано наступні дані.

У першій серії (контроль) у тварин без лікування клітинний склад регенерату відображав характерні стадії відновного процесу. Якщо на 3-тю добу в регенераті переважали лейкоцити, то до 7-ї доби їх кількість зменшувалася, а частка клітин фібробластичного і остеобластичного диферону збільшувалася. Кількість макрофагів та їх активність була високою. У пізніші терміни кінетика розвитку регенерату полягала в зменшенні площі грануляційної та фіброретикулярної тканин і зростанні території грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканин. До 28-ї доби в ділянці дефекту формується кістковий регенерат, представлений мережею кісткових трабекул, серед яких 36,73 %

мають пластинчасту організацію, а 16,27 % – грубоволокнисту.

При проведенні лікування з 1-ї доби (стадії – запалення) в регенераті збільшується не тільки кількість макрофагів, але і підвищується їх секреторна і фагоцитуюча активність. Підвищується кількість контактів фібробластів із макрофагами. Зростає диференціювання і метаболічна активність остеобластів.

Для об'єктивізації отриманих даних проводили оцінку площі новоутворених тканин у ділянці травматичного дефекту тварин (табл. 1).

При цьому відмічали, що площа пластинчастої кісткової тканини порівняно з попереднім строком спостереження збільшилася в 1,91 раза, а грубоволокнистих трабекул – навпаки, зменшилася в 1,80 раза ( $p < 0,001$ ). Щодо контрольних тварин зафіксовано вищі показники (у 1,22 раза;  $p < 0,001$ ) площі пластинчастої кісткової тканини.

При проведенні лікування з 3-ї доби (стадії – формування пулу клітин регенерату). На 28-му добу кісткові дефекти тварин були представлені кістковою тканиною різного ступеня зрілості. Переважала пластинчаста кісткова тканина, площа якої була в 1,59 раза більшою за контрольні показники і перевищувала в 1,31 раза ділянку пластинчастої кісткової тканини в дефектах тварин першої дослідної групи ( $p < 0,001$ ). Площі грубоволокнистих кісткових трабекул не відрізнялися від показників контролю ( $p > 0,05$ ), але були менші в

1,5 раза при порівнянні з тваринами першої дослідної групи ( $p < 0,001$ ).

Орієнтація кісткових судинних каналів і остеонів у сформованій пластинчастій кістковій тканині в ділянці кортексу все ще відрізняється від навколишньої материнської кістки. Звертає увагу, що на 28-му добу в прилеглій до дефекту материнській кістці визначаються ділянки без клітин. Проте на даний термін спостереження вони займають невеликі території. Кісткова тканина характеризується високою щільністю остеоцитів на поверхні.

При проведенні лікування з 7-ї доби (стадії – диференціювання клітин і формування тканиноспецифічних структур) у структурній організації регенерату кісткових дефектів у тварин даної дослідної групи не зафіксовано відмітних особливостей від структури регенерату тварин попередніх груп. Дефект виповнений кістковою тканиною різної зрілості. Переважає пластинчаста кісткова тканина, проте її територія менша в 1,13 раза, ніж у тварин, яких лікували з 3-ї доби ( $p < 0,05$ ). Водночас її показники перевищують ділянки кісткової тканини у тварин контрольної групи в 1,42 раза ( $p < 0,001$ ) і у тварин першої дослідної групи (яких лікували з 1 доби) в 1,66 раза ( $p < 0,05$ ). Ділянка грубоволокнистих трабекул порівняно з показниками у тварин контрольної і першої дослідної групи (лікування з 1-ї доби) ( $p > 0,05$ ) і перевищує в 1,28 раза ділянки у тварин, яких лікували з 3-ї доби ( $p < 0,01$ ).

Таблиця 1. Ділянки (% від площі дефекту) новоутворених тканин у ділянці дефекту тварин, за термінами досліджень ( $n=15$ )

Тип тканини	28-ма доба			
	контроль	лікування з 1-ї доби	лікування з 3-ї доби	лікування з 7-ї доби
Грануляційна	Ні	Ні $p > 0,05$	Ні $p > 0,05$ $p1 > 0,05$	Ні $p > 0,05$ $p1 > 0,05$ $p2 < 0,05$
Фібро– ретикулярна	Ні	Ні $p > 0,05$	Ні $p > 0,05$ $p1 > 0,05$	Ні $p > 0,05$ $p1 > 0,05$ $p2 < 0,05$
Грубо-волокниста кісткова	16,27±0,92	20,80±0,96 $p < 0,001$	13,87±0,85 $p > 0,05$ $p1 < 0,001$	17,80±0,96 $p > 0,05$ $p1 > 0,05$ $p2 < 0,01$
Пластинчаста кісткова	36,73±1,75	44,63±1,89 $p < 0,001$	58,67±1,75 $p < 0,001$ $p1 < 0,001$	52,07±1,95 $p < 0,001$ $p1 < 0,05$ $p2 < 0,05$
Кістковий мозок	46,93±1,74	39,87±1,28 $p < 0,001$	27,43±1,11 $p < 0,001$ $p1 < 0,001$	29,43±0,84 $p < 0,001$ $p1 < 0,001$ $p2 > 0,05$

Примітки:  $p$  – рівень значущості відмінностей відносно показників тварин контрольної групи;  $p1$  – відносно показників тварин, яких лікували з 1-ї доби;  $p2$  – відносно показників тварин, яких лікували з 3-ї доби.

**Висновки.** Таким чином, введення даларгіну тваринам з травматичним ушкодженням кістки в експерименті ефективно на стадіях запалення, проліферації клітин і формування тканиноспецифічних структур. Даларгін оптимізує процеси ангіогенезу та диференціювання остеобластів, що сприяє формуванню кісткових структур. У структурній організації регенерату на 28-му добу кісткових дефектів переважає пластинчаста кісткова тканина в 1,4 раза, ніж у тварин контрольної групи.

**Перспективи подальших досліджень.** Доцільно дослідити вплив даларгіну у тварин з факторами ризику порушення репаративної регенерації кісткових уламків.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Дедух Н. В. Регенерация костного дефекта при введении животным препарата остеогенон / Н. В. Дедух, С. В. Малышкина, А. М. Дурсунов // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2004. – № 2. – С. 40–45.
2. Маслов Л. Н. Кардиоваскулярные эффекты D-Ala<sup>2</sup>, Leu<sup>5</sup>, Arg<sup>6</sup>-энкефалина (даларгин) связаны с активацией периферических опиоидных  $\mu$ -рецепторов / Л. Н. Маслов, Ю. Б. Лишманов, Е. И. Барзах [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – № 2. – С. 212–4.
3. Назаренко Д. О. Досвід використання даларгіну в комплексному лікуванні хворих зі сповільненою консолидацією кісток / Д. О. Назаренко // Актуальні проблеми геріатричної ортопедії. – 2000. – Т. 3, № 2–3. – С. 73.

4. Самохин А. В. Использование нейропептида даларгина при операциях металлоостеосинтеза у больных с переломами шейки бедренной кости / А. В. Самохин, Н. Н. Колотилов, В. А. Кравченко [и др.] // Вісник морської медицини. – 2009. – № 2. – С. 22–24.
5. Shamenkov D. A. Effects of apolipoproteins on dalargin transport across the blood-brain barrier / D. A. Shamenkov, V. E. Petrov, R. N. Alyautdin // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2006. – Vol. 142. – P. 703–706.
6. Shekhter A. B. Effects of opioid peptide dalargin on reparative processes in wound healing / A. B. Shekhter, A. I. Solov'eva, S. E. Spevak // Bulletin of Experimental Biology and Medicine – 2008. – Vol. 106. – P. 487–490.

## MOTIVATION OF THE OPIOID PEPTIDE USE FOR OPTIMIZATION OF THE PROCESS TO REGENERATIONS OF THE TRAUMATIC DEFECT BONE

©M. O. Kaminska

SI «Dnipropetrovsk Medical Academy», Dnipropetrovsk

SUMMARY. The article adduces the results of histological examination of distal part of femoral bone of experimental animal under traumatic defect.

KEY WORDS: traumatic defect, femoral bone.