

УДК 617.3;616-089.23;616-011;615.477.2;616-089.28/29

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2014

*Б.А.Насібуллін, Т.А.Золотарьова, А.Я.Олешко,
О.І.Бахолдіна, А.В.Змієвський, М.В.Родомакін*

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЛІКУВАЛЬНОЇ ДІЇ ГЛИН РІЗНОГО СКЛАДУ НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ДЕКСАМЕТАЗОНОВОГО АРТРОЗУ ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортологій МОЗ України», м. Одеса

Вступ. Лікування артрозів є одною з важливих проблем сучасної медицини. Актуальним є пошук нових методів лікування, у тому числі з застосуванням природних чинників.

Мета. Оцінка результативності застосування глин різного хімічного складу (бентоніт та глауконіт) при корекції експериментального дексаметазонового артрозу у щурів.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на 67 білих щурах-самцях лінії Вістар вагою 180-200 г. Модель ДА відтворювали шляхом триразового введення в колінний суглоб щурів 0,1 мл дексаметазону, один раз на добу. Глини застосовували у вигляді аплікацій на ушкоджений суглоб (тривалість процедури 20 хв., курс складався з 7 процедур через добу).

Результати. Встановлено, що застосування бентоніту або глауконіту зменшує або нівелює структурні порушення суглобових хрящів та зменшує системні прояви запалення. При застосуванні бентоніту спостерігається нормалізація α -2 глобулінів, підвищення рівня альбуміну (з $11,00 \pm 0,32$ г/л до $16,63 \pm 0,68$ г/л, ($p < 0,05$), зниження у 1,4 рази рівня антитіл до тканини суглоба відносно показників щурів з ДА. При застосуванні глауконіту встановлено підвищення рівня альбуміну до $20,65 \pm 0,52$ г/л, ($p < 0,05$) відносно показників щурів з ДА, нормалізація рівня глобулінів, серомукоїдів, ЦІК та зниження у 2,3 рази вмісту антитіл до тканини суглоба.

Висновки. Встановлено, що під дією бентоніту і глауконіту має місце обмеження розвитку ДА у щурів. Автори вважають, що глауконіт має більш позитивний вплив ніж бентоніт, що пов'язано з особливостями хімічного складу застосованих глин.

Ключові слова: бентоніт, глауконіт, колінний суглоб, дексаметазоновий артроз.

ВСТУП

Артроз — дегенеративно-дистрофічне захворювання з порушенням функції кінцівки перебіг котрого характеризується фазністю. Розповсюдженість артрозу дуже велика. У осіб які старіше 50 років по даним різних авторів [1, 2] артроз діагностується у 55-80 % випадках.

Лікування артрозів є одною з актуальних проблем сучасної медицини, тому що потребує дуже тривалого застосування препаратів, які дорого коштують та можуть викликати побічні ефекти; крім того вимагає частого повтору таких курсів [3, 4, 5].

В зв'язку з вище переліченим, актуальним стає пошук методів лікування з застосуванням природних лікувальних чинників. Особливістю дії природних чинників з одного боку є їх добра переносимість більшістю людей, а з другого боку - невелика вартість, що обумовлює їх доступність та можливість частого застосування у вигляді повторних курсів.

Одним з природних чинників, які можуть використовуватися в лікувальній практиці для лікування артрозів, є глини різного складу.

Глини — зв'язані незцементовані осадові породи, різного мінерального складу з переваженням глинистих мінералів [6].

Достатньо розрізнені дані літератури о механізмах біологічної дії глин [3, 4, 7, 8] свідчать про їх позитивний вплив на перебіг процесів регенерації при загосненні пошкодженої шкіри, слизових, переломів кісток, відновленні дегенеруючих хрящів.

Разом з цим, в літературі немає даних про особливості дії глин на одні і ті самі патологічні процеси в залежності від особливостей їх хімічного складу.

Виходячи з вище згаданого, метою роботи була оцінка результативності застосування різних глин при корекції експериментального дексаметазонового артрозу у щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконано на 67 білих щурах-самцях лінії Вістар аутобредного розведення, вагою 180-200 г. Робота з щурами виконувалась відповідно з рекомендаціями Європейської конвенції про захист тварин використовуваних для досліджень та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.86 р.). Відповідно до завдань роботи, тварини були ранжировані на п'ять груп: 1-ша — 7 інтактних тварин (контроль); 2-а — 20 тварин, яким моделювали дексаметазоновий артроз (ДА); 3-тя — 20 тварин, яким на тлі відтворення ДА проводили курс аплікацій з бентонітом; 4-та — 20 тварин, яким на тлі відтворення ДА проводили курс аплікацій з глауконітом.

Модель ДА відтворювали шляхом триразового введення в колінний суглоб щурів 0,1 мл дексаметазону (1,6 мг/кг маси тіла тварини). Введення розчину дексаметазону здійснювали 1 раз на добу. Верифікацію моделі проводили на підставі щоденного вимірювання об'єму суглоба, його температури, морфологічними змінами суглоба. Бентоніт та глауконіт для корегування артрозу використовували у вигляді зовнішніх аплікацій на ушкоджений суглоб. Курс складався з 7-ми процедур і починався на тлі розвитку ДА (через добу після остаточної ін'єкції). Зовнішнє застосування глин (бентоніту або глауконіту) здійснювали методом аплікацій зволоженого коржіку $t=40^{\circ}\text{C}$, загорнутого в один шар марлі. Тривалість однієї процедури 20 хв. Аплікації здійснювали через добу.

Тварин виводили з досліду шляхом декапітації під ефірним наркозом. Дію глин вивчали за допомогою морфологічних досліджень: суглоб вилучали та після декальцинації в 5 % розчині азотної кислоти заливали у целоїдин. З отриманих гістологічних блоків виготовляли зрізи товщиною 7 мкм, котрі забарвлювали гематоксилін-еозином та по Ван-Гизон. Отримані препарати досліджували за допомогою світлового мікроскопу, при цьому оцінювали зміни у суглобі, його хрящах та прилеглій кістці. Розвиток запального процесу оцінювали за допомогою біохімічних методів досліджень: визначали вміст загального білку крові, альбуміну, α -1 та α -2 глобулінів, серомукоїдів. Імунологічними методами визначали рівень ЦІК та наявність антитіл до тканин суглобів, що дозволяло оцінити участь та роль регуляторної функції імунної системи у розвитку патологічного процесу [9].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Спостереження за піддослідними тваринами показало, що розвиток артрозу супроводжується збільшенням діаметру суглоба, підвищенням його температури. Різниця зміни діаметру суглоба до моменту закінчення експерименту у тварин, які не отримували та отримували аплікації лікувальними глинами відображені у таблиці 1.

Як видно з даних таблиці, курсове застосування аплікацій лікувальних глин нормалізує діаметр суглоба. Пальпаторно у щурів, які отримували аплікації, різницю у температурі між пошкодженим та непошкодженим суглобом не встановлено.

Таблиця 1

Розмір колінного суглобу у щурів з ДА при застосуванні лікувальних глин, М \pm m

Показники	Інтактні щури (норма)	Серії дослідів		
		Модель ДА 14-та доба	Модель ДА + бентонит 14-та доба	Модель ДА + глауконіт 14-та доба
Величина суглобів, см	0,75 \pm 0,01	0,93 \pm 0,02 [#]	0,79 \pm 0,01 ^{**}	0,77 \pm 0,02 [*]

Примітка: # — достовірне відхилення відносно норми; * — достовірне відхилення відносно моделі ДА.

Гістологічне дослідження суглоба встановило, що при розвитку артрозу суглобна капсула потовщена за рахунок набряклості та збільшення числа фіброзних волокон, в оточуючих м'язах та капсулі інфільтрація лімфоїдними елементами. Хрящ в суглобі однакової товщини, хондроцити розташовані дифузно погано забарвлені, цитоплазма їх мутнувата. Хондроцити глибоких шарів хряща з невеликими темними ядрами. В комірках кістки поблизу

суглоба скупчення ретикулярних та лімфоїдних елементів. Судини у тканинах які оточують суглоб застійно повнокровні. До моменту закінчення досліду (15-та доба) усі вищеозначені зміни в суглобі зберігаються, хоча виглядають не настільки яскраво, як у ранні терміни.

У випадках, коли розвиток артрити відбувався на тлі курсу аплікацій бентонітом гістологічні дослідження показали, що на 15-ту добу досліду після аплікацій капсула суглоба помірно потовщена за рахунок збільшення числа фіброзних волокон, фіброласти звичайного виду, тканина капсули щільна однорідна. В оточуючих суглоб тканинах визначаються окремі лімфоцити. Судини помірно повнокровні з потовщеною стінкою, суглобна щільна тонка. Хрящ однакової товщини на усьому протязі та візуально ширше ніж у здорових тварин. Основна речовина хряща однорідна, плотна, добре забарвлена. Хондроцити зібрані в гнізда, цитоплазма їх світла, ядра невеликі темні. В глибоких шарах хряща хондроцити розташовані дифузно (полями). Ядра у цих хондроцитах темні, але більш ніж у поверхніх шарах. У комірках кістки, яка прилягає до хряща, визначаються жирові клітини, нечисленні гістоцити та лімфоцити.

У тих випадках, коли розвиток артрозу відбувався на тлі курсу аплікацій глауконітом, гістологічні дослідження встановили набрякле набухання капсули, фіброзні волокна тонкі, ніжні. Фіброласти звичайного вигляду. Суглобна щільна декілька розширена. Хрящ гладкий, однакової товщини на всьому протязі. Візуально хрящ поширено по зрівнянню з контролем. У поверхневих шарах хондроцити зібрані у гнізда по 3-4 клітини. Ядра цих клітин блідозабарвленні, цитоплазма бліда, капсула гнізд тонка. Основна речовина хряща однорідна, мутновата, слабо базofilьна. У глибоких шарах хряща клітини розташовані на межі з кісткою вони базofilьні, іноді мають два ядра. У комірках кістки прилеглих до хряща скупчення соковитих гістоцитів. Судини оточуючих суглоб тканин помірно повнокровні.

Вищеописані зміни у суглобах піддослідних тварин супроводжувались перебудовою метаболізму. Результати досліджень цих змін відображені у таблиці 2.

Відповідно даних таблиці 2 у тварин, які відносяться к різним експериментальним групам, відзначається зниження загального білку крові ($p < 0,05$). При цьому найбільш значним воно було у тварин, які отримували аплікації з глауконітом. Можна вважати, що має місце інактивація білкового синтезу, найбільший вплив на який надає глауконіт, за рахунок особливостей свого хімічного складу.

Розвиток дексаметазонового артрозу супроводжується змінами не тільки вмістом загального білку, але й кількісними змінами показників білкових фракцій. Як видно з даних таблиці 2 різко знижується вміст альбуміну у плазмі крові ($p < 0,01$) та підвищується вміст α -1, α -2 глобулінів ($p < 0,05$), ці зміни у білковому спектрі характерні для запального процесу. Одночасно має місце збільшення вмісту серомукоїдів ($p < 0,01$), що також характерно для розвитку запального процесу в організмі.

Таблиця 2

Метаболічні зміни в організмі щурів з дексаметазоновим артрозом при аплікаціях глинами різного складу, $M \pm m$

Показники	Інтактні щури (контроль)	Серії дослідів		
		Модель ДА 14-та доба	Модель ДА + бентоніт 14-та доба	Модель ДА + глауконіт 14-та доба
1	2	3	4	5
Загальний білок, г/л	68,70 ± 2,74	61,50 ± 0,93 [#]	60,41 ± 2,41 [#]	58,34 ± 1,10 ^{##}
Альбумін, г/л	25,80 ± 1,88	11,00 ± 0,32 [#]	16,63 ± 0,68 ^{##}	20,65 ± 0,52 ^{##}
α-1 Глобулін, г/л	8,28 ± 1,86	12,80 ± 0,80 [#]	13,40 ± 0,58 [#]	6,11 ± 0,56 ^{##}
α-2 Глобулін, г/л	10,70 ± 2,20	15,75 ± 0,75 [#]	10,85 ± 0,56 [*]	11,00 ± 0,80 [*]
Серомукоїди, у.од.	0,204 ± 0,009	0,307 ± 0,007 [#]	0,349 ± 0,013 [#]	0,244 ± 0,021 [*]
ЦІК, мг/мл	5,70 ± 0,20	6,50 ± 0,06 [#]	7,0 ± 0,22 ^{##}	5,37 ± 0,11 [*]
Антитіла до тканини суглоба, у. од.	9,0 ± 2,3	27,0 ± 3,7 [#]	19,0 ± 3,8 [#]	12,0 ± 2,0 [*]

Примітка: # — достовірне відхилення відносно норми; * — достовірне відхилення відносно моделі ДА.

При корекції патологічного процесу аплікаціями з бентонітом перебудова білкового спектру плазми також залишається, однак мають місце відміни. Вміст альбуміну достовірно підвищується ($p < 0,01$) відносно показників щурів з ДА, але не досягає контролю; вміст α-2 глобулінів збільшується до рівня інтактних тварин; рівень серомукоїдів достовірно підвищується відносно показників контролю.

В умовах використання глауконіту, для корекції експериментального артрозу, спостерігається достовірне зниження рівня загального білка відносно як показників тварин з ДА, так і показників контрольної групи ($p < 0,05$). Окрім цього встановлена нормалізація показників α-2 глобулінів та кількості серомукоїдів. Таким чином, перебудови метаболізму, які характерні при запальному процесі в умовах застосування глауконіту нівелюються краще, ніж при застосуванні бентоніту.

Встановлено, що у щурів в умовах моделювання ДА суттєво підвищені показники гуморальної ланки імунного захисту — рівень ЦІК та вміст антитіл до тканини суглоба, що свідчить про розвиток запального процесу. Застосування бентонітових аплікацій сприяє подальшому достовірному зростанню рівня ЦІК, що вочевидь сприяло збереженню перебудові білкового обміну

запального характеру, вміст тканинних антитіл залишався достовірно підвищеним відносно показників інтактних тварин. В той же час застосування аплікацій з глауконітом сприяло зниженню (відновленню) рівня ЦІК та вмісту антитіл до тканин суглоба (табл. 2), що вочевидь обумовлює не тільки усунення зовнішніх проявів запалення суглоба, але й нормалізацію структурно-функціональної організації хряща суглоба та метаболічних порушень зв'язаних з запальним процесом.

ВИСНОВКИ

Таким чином, результати наших досліджень свідчать, що лікувальні глини різного складу обмежують розвиток експериментального артрозу. Дія глин виражається у відновленні зовнішнього вигляду ушкодженого суглоба, нормалізації структурно-функціональної організації хряща суглоба, у позитивних змінах в білковому метаболізмі піддослідних тварин та у відновленні показників гуморального імунітету. При цьому цей ефект найбільш виражений при застосуванні глауконіту. Можливо припустити, що позитивний вплив глауконіту пов'язаний з особливостями його хімічного складу.

Література

1. Остеоартроз: консервативная терапия. Монография / Авт. кол.: Н.А. Корж, А.Н. Хвисьок, Н.В. Дедух и др. Под ред. Н.А. Коржа, Н.В. Дедух, И.А. Зупанца. — Харьков: Золотые страницы, 2007. — С. 14–47.
2. Richette P., Funk-Brentano T. What is New on Osteoarthritis Front // Eur. Musculoskeletal Rev. — 2010. — Vol. 5, № 2. — P. 8–10.
3. Чаплыгина Н.А. Фитоглинолечение в комплексном лечении дегенеративных заболеваний позвоночника на курорте Горячий Ключ / Н.А. Чаплыгина, Н.Г. Морозов. // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. — 2007. — № 2. — С. 31.
4. Железный А.Д. Болюсотерапия в общей схеме восстановления утраченных функций нижних конечностей у больных диафизарных переломов костей голени / А.Д. Железный // Педагогіка, психологія та медико-біологічні проблеми фізичного виховання і спорту. — 2010. — С. 63–66.
5. Бадалов Н. Г. Грязелечение: теория, практика, проблемы и перспективы развития / Н. Г. Бадалов, С. А. Крикорова // Вопросы курортологии физиотерапии и лечебной физкультуры : научно-практический журнал. — 2012. — № 3. — С. 50–54.
6. Холодов В.Н. Осадочные полезные ископаемые и их роль в развитии литологической науки / Мат. I Российск. раб. совещания «Глины, глинистые минералы и слоистые материалы», посвящ. 90-летию со дня рожд. Б.Б. Звягина. — 2-е изд. — М.: ИГЕМ РАН, 2011. — С. 47–48.
7. Эволюционные, теоретические, экспериментальные и инициированные или саногенетические аспекты бентонита в свете концепции эволюционизма (Сообщение 1) / Богданов Н.Н., Богданова И.Н., Буглак Н.П., Кирди Мохмы // Вестник физиотерапии и курортологии. — 2007. — № 2. — С. 61–73.
8. Застосування болюсотерапії у хворих з хронічним синовітом / Бакалюк Т.Г., Вахновський В.В., Мартинюк В.М. та ін. // Вісник наукових досліджень. — 2008. — № 4. — С. 17–19.

9. Методичні рекомендації з методів досліджень біологічної дії природних лікувальних ресурсів та преформованих лікувальних засобів: мінеральні природні лікувально-столові та лікувальні води, напої на їхній основі; штучно-мінералізовані води; пелоїди, розсоли, глини, воски та препарати на їхній основі / за ред. Золотарьова Т.А., Насібуллін Б.А., Алексєєнко Н.О., Павлова О.С., Олешко О.Я.; Укр.НДІ МР та К. — К., 2009. — 118 с.

**Б.А.Насибуллін, Т.А.Золотарева, А.Я.Олешко, Е.И.Бахолдина,
А.В.Змиевский, М.В.Родомакин**

**Сравнительная оценка лечебного действия глин разного
состава на организм крыс в условиях моделирования
дексаметазонавого артроза**

**ГУ «Украинский НИИ медицинской реабилитации и курортологи МЗ
Украины», г. Одесса**

Вступление. Лечение артрозов является одной из важных проблем современной медицины. Актуальным является поиск новых методов лечения, в том числе с применением природных факторов.

Цель. Оценка результативности использования глин разного химического состава (бентонит и глауконит) при коррекции экспериментального дексаметазонавого артроза у крыс.

Материалы и методы. Исследования выполнены на 67 белых крысах-самцах линии Вистар весом 180-200 г. Модель ДА воспроизводили путем трехкратного введения в коленный сустав крыс 0,1 мл дексаметазона, один раз в сутки. Глины применяли в виде аппликаций на поврежденный сустав (продолжительность процедуры 20 мин., курс состоял из 7 процедур через день).

Результаты. Установлено, что применение бентонита или глауконита уменьшает или нивелирует структурные нарушения суставных хрящей и уменьшает системные проявления воспаления. При применении бентонита наблюдается нормализация α -2 глобулинов, повышение уровня альбумина ($c 11,00 \pm 0,32$ г/л до $16,63 \pm 0,68$ г/л ($p < 0,05$)), снижение в 1,4 раза уровня антител к ткани сустава относительно показателей крыс с ДА. При применении глауконита установлено повышение уровня альбумина до $20,65 \pm 0,52$ г/л ($p < 0,05$) относительно показателей крыс с ДА, нормализация уровня глобулинов, серомукоидов, ЦИК и снижение в 2,3 раза содержания антител к ткани сустава.

Выводы. Установлено, что под действием бентонита и глауконита имеет место ограничение развития ДА у крыс. Авторы считают, что глауконит оказывает более позитивное влияние, чем бентонит, что связано с особенностями химического состава применяемых глин.

Ключевые слова: бентонит, глауконит, коленный сустав, дексаметазонавый артроз.

*T.A.Zolotariova, B.A.Nasibullin, A. Ya.Oleshko, E.I.Bakholdina,
A.V.Zmieviskyi, M.V.Rodomakin*

Comparative evaluation of the therapeutic action of different clays to the rats in simulated dexamethasone arthrosis

State Enterprise "The Ukrainian Research Institute of Medical Rehabilitation and Balneology of Ministry of Health of Ukraine", Odessa

Introduction. Treatment of arthrosis is one of the most important problems of modern medicine. Search for new methods of treatment, including the use of natural factors is of current concern.

Objective. Evaluation of different clays (bentonite and glauconite) use for correction of experimental dexamethasone arthrosis (DA) in rats.

Materials and Methods. The studies were performed on 67 white male Wistar rats weighing 180-200 g. DA Model was reproduced by three consecutive injection of 0.1 ml dexamethasone into knee joints of the rats once a day. The clays were used as applications to the damaged joints for 20 min.. The entire course consisted of seven treatments every other day).

Results. Bentonite or glauconite were found to decrease or eliminate structural damages of the articular cartilage and reduce the systemic inflammatory manifestations. When using bentonite, there was observed normalized α -2 globulin, increased albumin (from 11.00 ± 0.32 g/l up to 16.63 ± 0.68 g/l ($p < 0.05$), 1.4 fold decrease in antibody levels to the joint tissue, compared to DA rats figures. Applying glauconite was found to increase albumin to 20.65 ± 0.52 g/l ($p < 0.05$) compared to DA rats figures, normalize globulins and seromucoïd, CIC and reduce antibodies to the tissue of the joint by 2.3 times.

Conclusions. It was found that bentonite and glauconite limited rise of DA in rats. The authors believe that glauconite has a more positive impact than bentonite due to the specific chemical composition of the clays used.

Key words: bentonite, glauconite, knee joint, dexamethasone arthrosis.

Відомості про авторів:

Насібуллін Борис Абдулайович - гол.н.спів., ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України». Адреса: Одеса-14, вул. Лермонтовський пров., 6, тел.: (048) 728-62-41.

Золотарьова Тетяна Ананіївна - зав. відділу фундаментальних досліджень, ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України». Адреса: Одеса-14, вул. Лермонтовський пров., 6, тел.: (048) 728-62-41.

Олешко Олексій Якович - ст.н.спів., ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України». Адреса: Одеса-14, вул. Лермонтовський пров., 6, тел.: (048) 728-62-41.

Бакхолдіна Олена Іванівна - м.н.спів., ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України». Адреса: Одеса-14, вул. Лермонтовський пров., 6, тел.: (048) 728-62-41.

Змієвський Анатолій Валерійович - м.н.спів., ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України». Адреса: Одеса-14, вул. Лермонтовський пров., 6, тел.: (048) 728-62-41.

Родомакін Михайло В'ячеславович - м.н.спів., ДУ «Український НДІ медичної реабілітації та курортології МОЗ України». Адреса: Одеса-14, вул. Лермонтовський пров., 6, тел.: (048) 728-62-41.