

УДК 611-018.4:616.248+616-08:001.891.57

© Е. Н. Морозова, Н. Н. Каладзе, 2012.

ОСТЕОГЕНЕЗ В БЕДРЕННЫХ КОСТЯХ ПРИ МОДЕЛИРОВАННОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ ПРЕПАРАТАМИ БАЗИСНОЙ ТЕРАПИИ

Е. Н. Морозова, Н. Н. Каладзе*ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского, г. Симферополь.*

BONE FORMATION IN FEMURS AT THE MODELLED BRONCHIAL ASTHMA ON THE BACKGROUND OF TREATMENT BY PREPARATIONS OF BASIC THERAPY

E. N. Morozova, N. N. Kaladze

SUMMARY

The aim of our study was to examine osteogenesis in the femur in the treatment of asthma medication basic therapy. Asthma observed complex changes in the bones, which affect the processes of bone formation and are accompanied by violations, growth, differentiation and bone structure. The effectiveness of drug treatment of asthma varies base: an introduction kromital largely normalizes the processes of osteogenesis and chondrogenesis in the bones than the combined use of kromital and flixotid.

ОСТЕОГЕНЕЗ У СТЕГНОВИХ КОСТЯХ ПРИ МОДЕЛЬОВАНІЙ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ НА ТЛІ ЛІКУВАННЯ ПРЕПАРАТАМИ БАЗИСНОЇ ТЕРАПІЇ

К. М. Морозова, М. М. Каладзе

РЕЗЮМЕ

Мета нашого дослідження полягала у вивченні остеогенезу в стегнових кістках при лікуванні бронхіальної астми препаратами базисної терапії. При БА спостерігаються комплексні зміни кісток, які зачіпають процеси остеогенезу і супроводжуються порушеннями росту, диференціювання і будови кісткової тканини. Ефективність застосування препаратів базисної терапії БА різниться: введення кромітала більшою мірою нормалізує як процеси остеогенезу, так і хондрогенез в кістках, ніж комплексне застосування кромітала і фліксотиду.

Ключевые слова: морфогенез, остеогенез, костная ткань, бронхиальная астма, лечение.

По данным ВОЗ, [3,4,8] частота и тяжесть течения аллергических заболеваний продолжают прогрессивно возрастать в настоящее время. Бронхиальная астма (БА) занимает первое место по распространенности и тяжести течения среди аллергических заболеваний. На современном этапе развития медицинской науки БА определяется как хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, сопровождающееся значительным увеличением активированных макрофагов, эозинофилов, тучных клеток, Th-2 лимфоцитов, нейтрофилов в слизистой оболочке. Указанные виды клеток синтезируют, а при активации - выделяют широкий спектр биологически активных веществ, включая многочисленные цитокины, медиаторы воспаления и другие факторы, индуцирующие пролонгированный воспалительный процесс [1,2,5,9,11].

Основу базисной терапии БА составляют препараты, обладающие противовоспалительной активностью (кромогликонат натрия, недокромил натрия, глюкокортикостероиды), которые не только блокируют, но и уменьшают синтез медиаторов воспаления и ряда цитокинов. Появление ингаляционных глюкокортикостероидов (ИГКС) открыло новые перспективы и подходы к современному лечению БА, спо-

собствуя уменьшению гиперреактивности дыхательных путей, ослаблению спазмогенных влияний многих биоактивных веществ [6,10,12]. Однако их длительное применение у больных с БА сопровождается развитием побочных эффектов и осложнений, в частности, оказывает влияние на костную ткань. Поскольку в последнее десятилетие во всем мире большое влияние уделяется проблеме остеопороза (ОП), особенно у детей и подростков, женщин и лиц пожилого возраста [7], нами предпринята попытка исследования формирования костной ткани на фоне течения бронхиальной астмы, а также при лечении ее препаратами базисной терапии.

Цель нашего исследования состояла в изучении остеогенеза в бедренных костях экспериментальных животных с моделированной бронхиальной астмой при лечении ингаляционными глюкокортикоидами и нестероидными противовоспалительными препаратами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на 25 половозрелых морских свинок, которые являются адекватным видом млекопитающих для экспериментального моделирования БА. Возраст животных составлял 5-6 мес. в начале проведения эксперимента, вес – 500-700 г.

Животные составили 5 групп: I – интактные здоровые животные; II – группа контрольных животных, у которых моделировалась БА, но лечение проводилось лишь препаратами кальция; III – группа животных, которым моделировалась БА проводилось лечение ИНКС - Фликсотидом (GlaxoSmithKline Pharmaceuticals S.A., Польша), и препаратами кальция, IV - группа животных, которым моделировалась БА и проводилось лечение препаратом Кромитал (Мидас Керр Фармасьютикалс ПБТ.ЛТД, Индия) и препаратами кальция, V - группа животных, которым моделировалась БА и проводилось лечение фликсотидом и кромиталом, а также вводили препараты кальция. Активным компонентом препарата кромитал является кромогликат натрия.

БА моделировалась путем внутрибрюшинного введения овальбумина из расчета 10 мг на 100 г веса. Овальбумин растворялся в 0,5 мл стерильной апиrogenной воде для инъекций. Затем в течение 1 месяца морским свинкам моделировали приступы БА под воздействием овальбумина, который вводили в дозе 4 мг на 1 мл дистиллированной воды в течение 10 минут, через день. Распыление антигена проводили при помощи ультразвукового ингалятора «Муссон-2». Через 1 месяц, на фоне моделирования приступов БА (3 раза в неделю по 10-12 минут), была проведена терапия. Лечение проводилось 2 раза в день по 30-45 секунд. Препараты распылялись в самодельную камеру, имитирующую бебихалер. Дозировка вдыхаемого

препарата рассчитывалась с учетом массы животных, частоты дыхания и объема камеры, составляющей 500 см³.

Из эксперимента животных выводили под эфирным наркозом путем декапитации. Для изучения отбирали бедренные кости, которые подвергались фиксации, деминерализации, заливке в парафиновые блоки. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Морфометрические исследования кости проведены с использованием оптического анализатора изображения на микроскопе «OLYMPUS», с использованием программного обеспечения «Видеотест-Морфология» (Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 990537 от 27.07.1997 г.).

В поперечных срезах диафиза бедренной кости измеряли толщину кости, площадь профильного поля костного матрикса между периостом и эндостом, суммарную площадь профильного поля каналов остеонов и других полостей внутри кости. На основании полученных данных вычисляли отношение площади матрикса к площади каналов остеонов. Данное отношение характеризовалось как индекс интенсивности трофики и оссификации кости. Морфологические исследования выполнены на стандартном увеличении 20x10x 1,5. Количественные данные указаны в пикселях и обработаны методом вариационной статистики. Сравнение количественных данных проводили с помощью критерия Т Стьюдента.

Таблица 1

Изменение ширины метаэпифизарного хряща, толщины компактной кости и структуры кости в диафизе

Вид воздействия	Толщина метаэпиф. пластинки	Толщина кости в диафизе	Отношение площади костного матрикса к площади полостей с сосудами в диафизе	% площади полостей с сосудами к костному матриксу в диафизе
Интактные животные	329,59±2,46	574,74±3,88	23,87±1,21	4,02 %
2-я группа (БА + препараты кальция)	253,57±1,57*	421,67±5,32**	17,27±1,29*	5,86 %
3-я группа (БА+фликсотид+ препараты кальция)	317,92±4,53*	492,20±3,02*	13,75±0,46	8,51 %
4-я группа (БА + препараты кальция + кромитал)	274,26±2,73*	583,39±5,09	35,08±1,02	3,81 %
5-я группа (БА + препараты кальция + фликсотид + кромитал)	307,89±2,87	512,46±4,76*	28,54±0,48*	4,27 %

Достоверность различий по сравнению с контролем: * - p<0,05; ** - p<0,01.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о том, что бронхиальная астма вызывает комплексные изменения костей, которые затрагивают процессы остеогенеза и сопровождаются нарушениями роста, дифференцировки и строения костной ткани.

Замедление остеогенеза при БА приводит к уменьшению толщины кости в средней части диафиза, сохранению костномозговых полостей внутри диафиза, замедлению образования остеонов, неравномерному развитию наружного и внутреннего слоев генеральных пластинок.

У животных II-й группы, которые получали лишь препараты кальция, все указанные изменения имели максимальную степень выраженности. В области эпифиза отмечалось резкое замедление остеогенеза сопровождавшееся сохранением более

значительных костномозговых полостей, которые продолжались из диафиза в эпифиз. Костные trabeculae, толщина компактной кости под суставным хрящом и в области диафиза имели существенно меньшие, чем у интактных животных и у животных, которых лечили ИГКС. В области диафиза отмечены более выраженные нарушения остеогенеза, проявляющиеся замедлением формирования остеонов, замедлением преобразования ретикулофиброзной костной ткани в компактную, а также сохранение значительного объема ретикулофиброзной ткани в остеонном слое диафиза. Метаэпифизарная хрящевая пластинка неполностью разделяет костномозговые полости эпифиза и диафиза, обнаруживается только по периферии, очень тонкая, что свидетельствует также и о сочетанном нарушении хондрогенеза в бедренной кости.

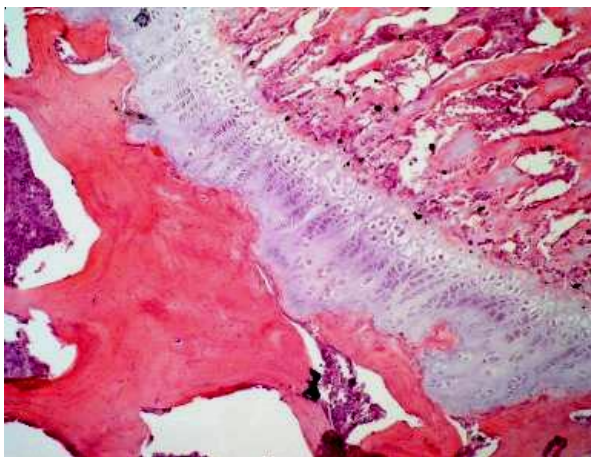


Рис.1. Эпифиз интактных животных. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 20х 10х 1,5.

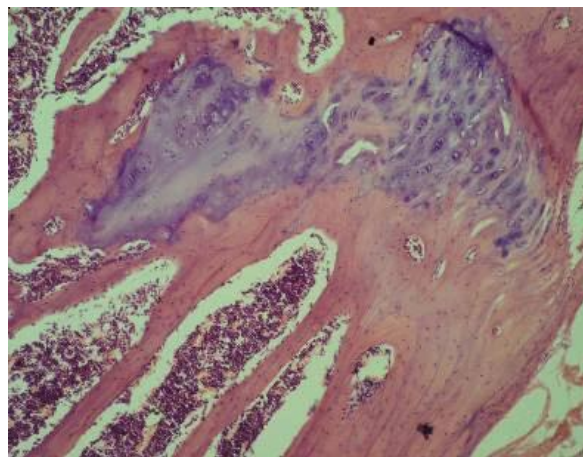


Рис.2. Эпифиз животных II группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 20х 10х 1,5.

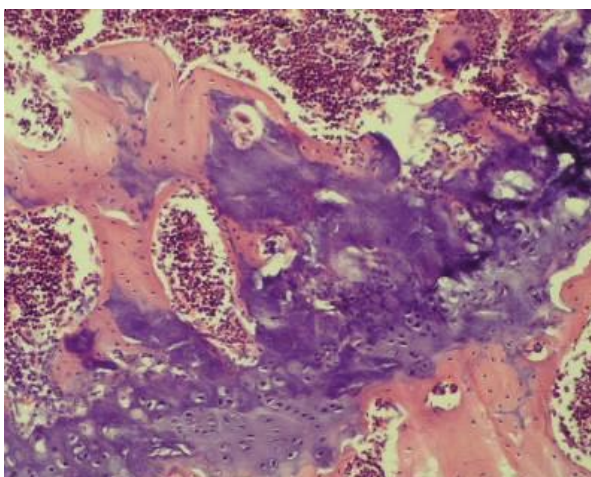


Рис.3. Эпифиз животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 20х 10х 1,5.

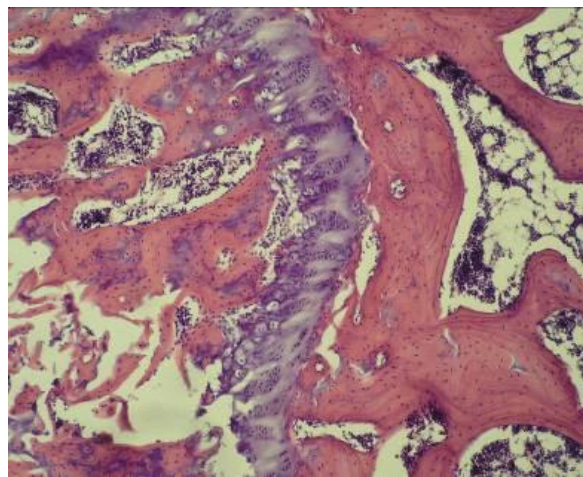


Рис.4. Эпифиз животных IV группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 20х 10х 1,5.

Таким образом, можно полагать, что повышенная продукция ряда цитокинов клетками, которые накапливаются в слизистой оболочке дыхательных

путей при БА (тканевыми базофилами, лимфоцитами, макрофагами и другими), обуславливает выявленные нами морфологические изменения бедрен-

ных костей. Данное предположение подтверждают и результаты биохимических исследований, установившие повышенную продукцию цитокинов, в частности ИЛ-1, при БА [4]. Нельзя не учитывать и такие факторы в течении БА, как гипоксия, ограничение физической активности при средней тяжести и тяжелом течении заболевания.

У животных III-й группы обнаружены средней степени выраженности морфологические изменения бедренной кости. У них менее значительно снижение толщины компактной кости в области диафиза. Однако более значительно увеличивается общая площадь полостей, содержащих остатки красного костного мозга внутри диафиза, что отражает замедление остеогенеза. В остеонном слое также обнаруживаются очаги незрелого слабо минерализованного матрикса. Ширина метаэпифизарной хрящевой пластинки существенно не отличается от данных, полученных у интактных животных. Однако структура этой пластинки свидетельствовала о замедленном преобразовании хряща в костную ткань, что сопровождалось сохранением неминерализованного костного матрикса в центре костных трабекул значительно удаленных от метаэпифизарной пластинки.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, применение глюкокортикоидов даже в виде ингаляционных препаратов оказывает негативное влияние на остеогенез и хондрогенез в костях скелета. Тот факт, что изменения бедренной кости при лечении БА ИГКС менее значительны, чем у контрольных животных, получавших только препараты кальция, видимо, связано с угнетением активации и дегрануляции клеток, ответственных за синтез различных цитокинов.

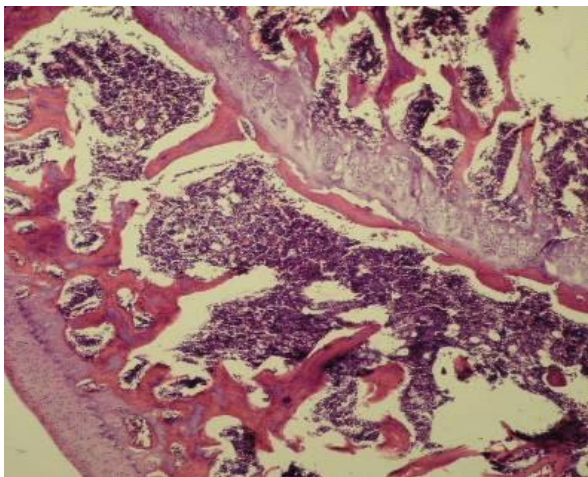


Рис.5. Эпифиз животных V группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 20х 10х 1,5.

Применение кромитала животных IV-й группы способствовало ускорению остеогенеза, что сопровождалось утолщением кости в области диафиза и эпифиза, ускорением синтеза костного матрикса,

уменьшением величины костномозговых полостей, заполненных красным костным мозгом. Кроме того, индекс отношения площади каналов остеонов и костных полостей диафиза к площади костного матрикса имеет минимальное значение по сравнению с остальными группами животных. Известно, что кромитал эффективен как профилактическое средство для предупреждения приступов БА, он блокирует и замедляет дегрануляцию тучных клеток. Таким образом, можно полагать, что применение кромитала, предупреждает выделение ряда цитокинов, обеспечивает стабилизацию клеточных мембран различных клеточных типов, включая, видимо, и остеокласты. Тем самым кромитал ускоряет синтез костного матрикса, однако скорость минерализации, видимо, не изменяется и поэтому в кости сохраняются слабо минерализованные довольно значительные участки костного матрикса преимущественно внутри кости.

Одновременное применение кромитала и фликсотиды у животных V-й группы обеспечивает менее выраженные нарушения остеогенеза и хондрогенеза в бедренных костях, чем при введении ИГКС.

ВЫВОДЫ

1. У половозрелых морских свинок в возрасте 7-8 месяцев бедренная кость содержит в диафизе и эпифизе хорошо выраженные костномозговые полости, заполненные красным костным мозгом. Метаэпифизарная хрящевая пластинка содержит хорошо выраженные все зоны хряща.

2. При моделировании хронического течения бронхиальной астмы с введением лишь препаратов кальция обнаружено резкое угнетение остеогенеза и хондрогенеза в бедренных костях: истончение кости, расширение костномозговых полостей, отсутствие разобщенности полостей эпифиза и диафиза.

3. Эффективность применения препаратов базисной терапии БА различается: введение кромитала в большей степени нормализует как процессы остеогенеза, так и хондрогенез в костях, чем комплексное применение кромитала и фликсотиды. Замедление остеогенеза и хондрогенеза при применении ИГКС менее значительно, чем при отсутствии лечения БА препаратами базисной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анаев Э. Х. Эозинофилы и их морфологические и функциональные свойства при лечении бронхиальной астмы. // Пульмонология. — 1996. — № 3. — С. 54–57.
2. Алешина Р.М. Иммунопатогенетические механизмы формирования атопических аллергических заболеваний // Укр. мед. альманах. — 2000. — Т. 3, №2. — С. 198-201.
3. Вплив лікування інгаляційними глюкокортикостероїдами на метаболізм кісткової тканини у дітей із бронхіальною астмою / Ласиця О.І., Курашова О.М., Охотнікова О.М., та інші // Проблеми остеології. - Т.4. - №3. - 2001. - С. 73.
4. Головач І.Ю. Структурно-функціональний

стан кісткової тканини при тривалому застосуванні глюкокортикоїдів // Укр. терапевтичний журн. – 2004 - № 1 – С. 53-59.

5. Ласиця О.І., Охотнікова О.М., Курашова О.М. Сучасні аспекти бронхіальної астми дитячого віку // Астма та алергія. – 2002. – №1. - С. 44-49.

6. Любимова О. И. Иммунологические маркеры аллергического воспаления при бронхиальной астме у детей. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2002. — № 2. — С. 39–42.

7. Марков А. Е. Воздействие ингаляционных кортикостероидов на плотность костной ткани у больных бронхиальной астмой // Український пульмонологічний журнал. - 1998. - №1. - С. 39–42.

8. Поворознюк В.В. Остеопороз // Лікування та діагностика. - 1997. - №3. - С. 20 - 26.

9. Фещенко Ю. И. Бронхиальная астма одна из главных проблем современной медицины. // Український пульмонологічний журнал. — 2000. — № 2 (додаток). — С. 13–16.

10. Чернушенко Е.Ф. Иммунология бронхиальной астмы // Укр. пульмонолог. журн. – 2000. – №2 (доп.). - С. 19-22.

11. Harrison T. W., Wisniewski A., Honour J., Tatterfield A.E. Comparison of the systemic effects of fluticasone propionate and budesonide given by dry powder inhaler in healthy and asthmatic subjects. // Thorax 2001; 56(3): 186–191.

12. McLeod J. F. Osteoporosis, cytokines, and glucocorticoids // Allergy Proc. 1993; 14(5): 363–364.

13. Matsumoto H., Ishihara K., Hasegawa T, et al. Effects of inhaled corticosteroids and short courses of oral corticosteroids in bone mineral density in asthmatic patients: a 4-year longitudinal study. // Chest 2001; 120(5): 1468–1473.