УДК [577.12 + 611.018.4]:616-092.9

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ ОРГАНІЧНОГО МАТРИКСУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ, ОВАРІОЕКТОМІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КАЛЬЦИТОНІНОМ

Білець М.В.

Робота являється частиною науково-дослідної роботи: “Молекулярні механізми ушкодження сполучнотканинних структур за умов емоційного стресу та їх зв’язок із стресостійкістю організму”. № держреєстрації 0105U002208

Кісткова тканина (КТ) складається з органічного матриксу, який представлений колагеновими та неколагеновими білками, та мінеральної фази, яка, в свою чергу, складається з аморфних фосфатів та апатитів [7,8].

Метаболізм КТ можна охарактеризувати двома різнонаправленими процесами: утворенням нової кісткової тканини остеобластами та руйнуванням – резорбцією старої кістки остеокластами. Кісткова тканина ніколи не перебуває в стані спокою. Органічний матрикс КТ та мінеральна фаза тканини постійно перебудовуються. Структурна цілісність скелету підтримується безупинним процесом перебудови – ремоделюванням [7,15].

Поки ще не зовсім зрозуміло, якою саме речовиною ініціюється процес ремоделювання, але відомо, що провідну роль в цьому процесі відіграють неколагенові білки: протеоглікани та глікопротеїни [7]. Вказані білки поряд з колагеном являються ініціаторами процесу мінералізації КТ.

У людей ремоделююча активність зростає з віком [8,12]. У дорослих людей щорічно оновлюється приблизно 25% губчатої кісти і близько 3% кортикальної кістки [8]. Кількість маси КТ залежить від балансу між її резорбцією й утворенням одиниць ремоделювання та від числа цих одиниць.

Метаболічні процеси в КТ регулюються нейрогуморальними механізмами за участю кальцитропних гормонів (паратгормон, кальцитонін), статевих, кортикостероїдів. Існує багато інформації відносно змін в структурі мінеральної фази КТ та колагену за умов дії різних патогенних чинників [9].

Але питання, які стосуються змін метаболізму неколагенових білків під впливом різних патогенних факторів, зокрема емоційного стресу (ЕС) залишаються до сих пір недостатньо з'ясованими. На сьогодні існує багато засобів корекції метаболічних змін в КТ: використання статевих гормонів, особливо естрогенів, вітаміну D, а також препаратів на основі кальцитоніну.

Метою даної роботи являється з'ясування впливу емоційного стресу на фоні недостатності естрогенів на стан органічного матриксу кісткової тканини різних відділів скелету (нижньої щелепи, хребців та стегнової кістки) та можливість його корекції кальцитоніном.

Матеріали та методи досліджень

Експерименти виконані на 87 статевозрілих щурах-самках Вістар масою 180-230 г. Природну модель емоційного стресу відтворювали за методом Є.А. Юматова [13]. Оваріоектомію проводили згідно методичних рекомендацій Я.Д. Кіршенблата за три тижні до моделювання стресу [4]. Евтаназію тварин здійснювали під гексеналовим наркозом (50 мг/кг) шляхом кровопускання. З метою корекції кальцитоніном метаболічних змін в кістковій тканині використовували препарат "Міакальцик", який вводили в дозі, адекватній 0,2 мкг гормону, підшкірно напередодні моделювання стресу. Для оцінки метаболічних процесів в КТ визначали вміст вуглеводних похідних неколагенових білків КТ: концентрацію гіалуронової кислоти, хондроітинсульфатів, N-ацетилнейрамінової кислоти, фукози [3, 5, 14]. Для оцінки ступеня резорбції альвеолярного відростка визначали коефіцієнт оголення коренів молярів [6]. При проведенні експериментальних досліджень дотримувались рекомендацій щодо медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією (1993). Отримані результати піддавали математико-статистичному аналізу з використанням критерію t Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

В різних відділах скелету визначали концентрацію фракцій глікозаміногліканів - гіалуронової кислоти та хондроітинсульфатів, які

являються самими розповсюдженими в КТ глікозаміногліканами – небілковими компонентами протеогліканів.

Результати таблиці 1 свідчать про те, що за умов парціального впливу емоційного стресу та оваріоектомії концентрація гіалуронової кислоти достовірно не змінилась порівняно з інтактними тваринами. Сполучена дія ЕС та недостатності гонад призвела до достовірного підвищення рівня гіалуронової кислоти в 1,2 рази – в КТ нижньої щелепи та в 1,3 рази – в КТ хребців.

Результати, приведені в таблиці 2, свідчать про те, що за умов ЕС концентрація хондроітинсульфатів достовірно збільшилась в 1,2 рази порівняно з інтактними тваринами тільки в КТ нижньої щелепи. Оваріоектомія не призвела до достовірного підвищення рівня хондроітинсульфатів в КТ різних відділів скелету. Сполучена дія ЕС та оваріоектомії викликала підвищення в 1,3 рази рівня хондроітинсульфатів в КТ нижньої щелепи. За цих же умов спостерігалось підвищення в 1,3 рази хондроітинсульфатів в КТ хребців.

N-ацетилнейрамінова кислота (NANA) та фукоза – вуглеводні похідні глікопротеїнів – ще однієї групи неколагенових білків КТ. З приведених в таблиці 3 результатів видно, що за умов ЕС концентрація NANA достовірно збільшилась в 1,2 рази тільки в КТ нижньої щелепи. Недостатність гонад не призводила до достовірних змін даного показника.

Поєднаний вплив емоційного стресу та оваріоектомії призвів до достовірного підвищення рівня N-ацетилнейрамінової кислоти в КТ нижньої щелепи в 1,7 рази; в КТ стегнової кістки відповідно – в 1,4 рази.

Результати, приведені таблиці 4, вказують на те, що рівень фукози достовірно не змінився під парціальною дією ЕС та оваріоектомії.

Приведені нами результати досліджень органічного матриксу кісткової тканини різних відділів скелету та мінеральної фази - в попередніх дослідженнях [1], свідчать про найбільшу чутливість кісткової тканини пародонта до емоційного стресу порівняно з іншими відділами скелету.

Для підтвердження ступеню вираженості деструктивних змін в кістковій тканині нижньої щелепи визначали коефіцієнт оголення молярів, який об'єктивно характеризує ступінь резорбції альвеолярного відростка (таблиця 5).

Після перенесеного ЕС не спостерігалось достовірного підвищення коефіцієнту оголення коренів молярів. Оваріоектомія призвела до підвищення в 1,5 рази коефіцієнту оголення молярів на рівні третього моляра (таблиця 5).

Сполучена дія емоційного стресу та оваріоектомії призвела до підвищення коефіцієнту оголення молярів на рівні першого моляра - в 1,3 рази, на рівні другого моляра - в 1,8 рази та на рівні третього моляра - в 1,9 рази (таблиця 5). Вказані зміни свідчать про значне підсилення резорбтивних процесів в кістковій тканині нижньої щелепи за умов сполученої дії емоційного стресу та оваріоектомії. Як свідчить таблиця 5, корекція кальцитоніном метаболічних змін за умов ЕС, оваріоектомії та їх сполученого впливу призвела до нормалізації коефіцієнту оголення коренів молярів до рівня контрольних груп тварин. Отже, кальцитонін володіє вираженою антирезорбтивною дією на КТ за вказаних умов, і це може служити підставою для проведення клінічних досліджень оцінки ефективності кальцитоніну у хворих на остеопороз, ініційований недостатністю гонад і стресогенними впливами.

Отримані результати також підтверджують дані деяких авторів про те, що органічний матрикс КТ являється надзвичайно чутливим до дії патогенних факторів [7,10,16]. А так, як мінералізація КТ здійснюється тільки на органічному матриксі, який ініціює формування кристалів апатитів, – це має дуже важливе значення у підтриманні структурного гомеостазу КТ [8].

Приведені дані переконують в тому, що найбільш виражені зміни в структурній організації кісткової тканини характерні для тварин із сполученою дією ЕС та оваріоектомії. За умов ЕС активується гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникова система, що призводить до підвищення рівня глюкокортикоїдів, які стимулюють катаболічні процеси в КТ, підсилюють її демінералізацію та послаблюють вплив кальцитоніну [2,10,15]. Літературні джерела свідчать про те, що естрогени відіграють відповідальну роль у

регуляції структури і метаболізму КТ. Відомо, що дефіцит естрогенів сприяє продукції інтерлейкіну 1 та інтерлейкіну 6, які беруть участь в стимуляції резорбції КТ [7,8]. Крім цього, недостатність естрогенів знижує секрецію кальцитоніну і підсилює дію паратиреоїдного гормону, що також може бути важливим патогенетичним механізмом порушення структурної організації кісткової тканини [7]. Таким чином, недостатність гонад підсилює патогенний вплив емоційного стресу на кісткову тканину.

Згідно концепції В.В. Фролькіса, вікові інволюційні зміни пов'язані з підвищеною чутливістю організму до стресорних факторів [11]. Наші дані є підгрунтям для пояснення механізму розвитку остеопорозу та підвищеної вразливості КТ до патогенних впливів у осіб похилого віку на фоні інволюції статевих залоз і особливо при сполученій дії ЕС та недостатності гонад.

Висновки:

1. Найбільш чутливою ділянкою скелету до дії емоційного стресу та оваріоектомії являється кісткова тканина нижньої щелепи.

2. Найбільш виражені зміни в структурній організації органічного матриксу кісткової тканини характерні для тварин із сполученою дією емоційного стресу та оваріоектомії.

3. Кальцитонін має антирезорбтивний вплив на кісткову тканину і це являється підставою для необхідності клінічних досліджень ефективності кальцитоніну у хворих на остеопороз, ініційований недостатністю гонад і стресогенними впливами.

Література

1. Білець М.В. Зміни мінеральної фази кісткової тканини в умовах сполученої дії емоційного стресу і недостатності гонад // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т.3, №2. – С. 332-333.

2. Державецкая .А., Державецкий Ю.М. Гормональная регуляция обмена кальция и секреторные процессы // Итоги науки и техники. Физиология человека и животных. – М.: Медицина, 1983. – 132 с.

3. Камышников В.С. Клиническая биохимия. – Минск, "Беларусь", 2000. – Т.2. – 463 с.

4. Киршенблат Я.Д. Практикум по эндокринологии. – Москва, "Высшая школа".- 1969. – 256 с.

5. Леонтьев В.К., Гайдамака А.Н. Методы определения белковосвязанных углеводов в минерализованных тканях // Лабораторное дело. – 1975. - №5. – С. 35-38.

6. Николаева А.В., Розовская Е.С. Экспериментальные дистрофии тканей пародонта // Бюл. эсперим. биологии и медицины. – 1965. - Т.60, №7. – С. 46-49.

7. Поворознюк В.В., Мазур И.П. Костная система и заболевания пародонта. – К., 2003. – 446 с.

8. Риггз Лоренс Б., Мелтон III Джозеф Л. Остеопороз. Этиология, диагностика, лечение. – СПб.: ЗАО "Изд-во БИНОМ", 2000. – 560 с.

9. Роль эндогенных гормонов в регуляции костно-минерального обмена / В.И. Краснопольский, В.У. Торчинов, О.Ф. Серова, Н.В. Зароченцева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2005. - №4. – С.16-20.

10. Тарасенко Л.М., Петрушанко Т.А.Стресс и пародонт.–Полтава,1999.–192 с.

11. Фролькис В.В. Молекулярные физиологические механизмы старения // Физиол. журнал. – 1984. – Т.30, №3. – С. 309-316.

12. Эндокринный остеопороз / В.А. Олейник, В.В. Поворознюк, Г.Н. Терехова, В.Л. Орленко // Проблеми остеології. – 2000. – Т.3,№1. – С.65-79.

13. Юматов Е.А., Певцова Е.И., Мезенцева Л.И. Физиологически адекватная модель агрессии и эмоционального стресса // Журн. высш. нервн. деят. – 1988. – Т.38, №2. – С.350-354.

14. Bitter T., Muir H.M. A modified uronic acid carbasole reaction // Analyt. Biochem. 1968. - №4. – P. 330-334.

15. Popp A., Isengger J., Buergi E. et al. Glucocorticosteroid-induced spinal osteoporosis: scientific update on patophysiology and treatment // Eur. Spine J.- 2006. - №2. – P. 1-15.

16. Lee E., Wuton A.K., Xue Z. et al. Osteoporosis management in a medical population after the women's health initiative study // J. Womens Health. – 2006. – Vol. 15, №2. – P. 155-161.

Таблиця 1

Концентрація гіалуронової кислоти в кістковій тканині різних відділів скелету за умов емоційного стресу, оваріоектомії та їх сполученої дії (M±m)

Характер досліджень	Гіалуронова кислота, г/100 г сух.тк.		
	Нижня щелепа	Стегнова кістка	Хребці
1. Інтактні (n=6)	0,250±0,009	0,251±0,003	0,260±0,009
2. Емоційний стрес (n=6)	0,262±0,008	0,283±0,008	0,290±0,009
3.Оваріоектомія (n=12)	0,253±0,006	0,270±0,010	0,282±0,013
4. Емоційний стрес + оваріоектомія (n=6)	0,290±0,006*	0,290±0,017	0,330±0,017*

Примітка: *- $P_{1-4}<0,05$

Таблиця 2

Концентрація хондроітинсульфатів в кістковій тканині різних відділів скелету за умов емоційного стресу, оваріоектомії та їх сполученої дії (M±m)

Характер досліджень	Хондроітинсульфати, г/100 г сух.тк.		
	Нижня щелепа	Стегнова кістка	Хребці
1. Інтактні (n=6)	0,180±0,006	0,200±0,012	0,162±0,007
2. Емоційний стрес (n=6)	0,210±0,005*	0,190±0,008	0,180±0,011
3.Оваріоектомія (n=12)	0,188±0,011	0,203±0,013	0,160±0,010
4. Емоційний стрес + оваріоектомія (n=6)	0,230±0,007**	0,210±0,008	0,210±0,010**

Примітка: *- $P_{1-2}<0,05$; **- $P_{1-4}<0,05$

Таблиця 3

Концентрація N-ацетилнейрамінової кислоти в кістковій тканині різних відділів скелету за умов емоційного стресу, оваріоектомії та їх сполученої дії (M±m)

Характер досліджень	N-ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г		
	Нижня щелепа	Стегнова кістка	Хребці
1. Інтактні (n=14)	1,60±0,09	1,56±0,08	1,68±0,03
2. Емоційний стрес (n=17)	1,99±0,08*	1,70±0,14	1,73±0,09
3.Несправжня кастрація (n=9)	1,77±0,09	1,58±0,11	1,66±0,07
4. Оваріоектомія (n=12)	1,89±0,16	1,59±0,08	1,77±0,07
5. Емоційний стрес + оваріоектомія (n=13)	2,71±0,18**	2,25±0,16**	1,93±0,09

Примітка: *- $P_{1-2}<0,05$; **- $P_{1-5}<0,05$;

Таблиця 4

Концентрація фукози в кістковій тканині різних відділів скелету щурів за умов емоційного стресу, оваріоектомії та їх сполученої дії (M±m)

Характер досліджень	Фукоза, мкмоль/г		
	Нижня щелепа	Стегнова кістка	Хребці
1. Інтактні (n=14)	1,40±0,09	1,39±0,12	1,44±0,08
2. Емоційний стрес (n=17)	1,50±0,08	1,39±0,10	1,40±0,12
3.Несправжня кастрація (n=9)	1,43±0,07	1,42±0,07	1,48±0,09
4. Оваріоектомія (n=12)	1,43±0,14	1,46±0,08	1,43±0,16
5. Емоційний стрес + оваріоектомія (n=13)	1,70±0,10	1,52±0,05	1,59±0,09

Таблиця 5

Коефіцієнт оголення коренів молярів за умов емоційного стресу, оваріоектомії, їх сполученої дії та корекції кальцитоніном (M±m)

Характер досліджень	M_1,%	M_2,%	M_3%
1. Інтактні (n=14)	46,0±3,0	33,0±1,6	36,0±1,6
2. Емоційний стрес (n=17)	54,0±2,0	50,0±1,8	51,0±2,4
3. Несправжня кастрація (n=9)	46,0±2,7	45,0±3,0	48,0±2,7
4. Оваріоектомія (n=12)	48,0±2,4	49,0±2,8	52,0±1,8*
5. Емоційний стрес + оваріоектомія (n=13)	60,0±2,4**	59,0±3,3**	68,0±4,0**
6.Оваріоектомія+ кальцитонін (n=7)	46,0±2,3	47,0±2,4	50,0±2,0
7. Емоційний стрес + кальцитонін (n=7)	53,0±3,8	50,0±4,0	41,0±3,1
8. Емоційний стрес + оваріоектомія + кальцитонін (n=8)	44,0±1,8	42,0±2,7	46,0±4,2

Примітка: *- $P_{1-4}<0,05$; ** - $P_{1-5}<0,05$; M_1, M_2, M_3 – перший, другий та третій моляри

Реферат

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ ОРГАНІЧНОГО МАТРИКСУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЗА УМОВ ЕМОЦІЙНОГО СТРЕСУ, ОВАРІОЕКТОМІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КАЛЬЦИТОНІНОМ

Білець М.В.

Ключові слова: емоційний стрес, оваріоектомія, кальцитонін, органічний матрикс

На 87 статевозрілих щурах-самках Вістар досліджено метаболізм органічного матриксу кісткової тканини різних відділів скелету (нижня щелепа, хребці, стегнова кістка) за умов дії емоційного стресу, оваріоектомії та їх сполученого впливу. Встановлено, що найбільш суттєві зміни в органічному матриксі виникають в кістковій тканині нижньої щелепи за умов сполученої дії емоційного стресу та недостатності гонад. Корекція метаболічних змін в кістковій тканині кальцитоніном призводить до пригнічення резорбції тканини.

Реферат

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО МАТРИКСА КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА, ОВАРИОЭКТОМИИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ КАЛЬЦИТОНИНОМ

Билец М.В.

Ключевые слова: эмоциональный стресс, овариоэктомия, кальцитонин, органический матрикс

На 87 половозрелых крысах-самках Вистар исследован метаболизм органического матрикса костной ткани разных отделов скелета (нижняя челюсть, позвонки, бедренная кость) в условиях эмоционального стресса, овариоэктомии и их сочетанного действия. Установлено, что наиболее существенные изменения в органическом матриксе возникают в костной ткани нижней челюсти в условиях сочетанного действия эмоционального стресса и недостаточности гонад. Коррекция метаболических изменений кальцитонином приводит к угнентению резорбции ткани.

METABOLIC CHANGES IN ORGANIC MATRIX OF OSSEOUS TISSUE UNDER THE CONDITIONS OF EMOTIONAL STRESS, OVARIECTOMY, AND THEIR CORRECCTION OF CALCITONIN

Bilets M.V.

Key words: emotional stress, ovariectomy, calcitonin, organic matrix

87 adult female Wistar rats used to study the characteristics of organic matrix metabolism in some parts of the skeleton (mandible, vertebrae, femoral bond) under the condition of emotional stress, ovariectomy and under their combined effect. It has been found out that the most significant changes in organic matrix are observed in mandibular osseous tissue under the combined effect of both emotional stress and gonad insufficiency. Calcitonin correction result in bony resorbtion depression.