

КРЮК Ю. Я., ЕСАУЛОВ А. Д., ФАБЕР А. И.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ МИАКАЛЬЦИКА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОСТЕОПОРЕТИЧЕСКИХ
КРЫС С ТЯЖЕЛОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМОЙ ПО ИЗМЕНЕНИЮ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА И ЦИТОКИНОВ**

Аннотация. Проведена оценка эффективности кальцитонина лосося (Миакальцика) при тяжелой черепно-мозговой травме, протекающей на фоне остеопороза. У животных с сочетанной патологией установлена лечебная эффективность Миакальцика. В плазме крови выявлено повышение количества паратиреоидного и тиреотропного гормонов в 1,4 раза ($p<0,05$) и в 1,2 раза ($p<0,05$) соответственно, снижение концентрации интерлейкина-6 в 1,3 раза ($p<0,05$), фактора некроза опухоли- α – в 1,6 раза ($p<0,05$).

Ключевые слова: тяжелая черепно-мозговая травма, глюкокортикоидный остеопороз, кальцитонин лосося.

KRUK YU. YA., ESAULOV A. D., FABER A. I.

**EFFICACY OF MIACALCIC IN TREATMENT OF RATS WITH OSTEOPOROSIS
AND SEVERE CRANIOCEREBRAL TRAUMA: CHANGES OF INDICATORS
OF CALCIUM METABOLISM AND CYTOKINES**

Abstract. The study deals with of the efficacy evaluation of salmon calcitonin (Miacalcic) in severe craniocerebral trauma on the background of osteoporosis. The therapeutic effectiveness of Miacalcic was demonstrated in animals with combined pathology. The blood plasma showed an increase in the number of parathyroid and thyroid-stimulating hormones by 1.4 times ($p<0.05$) and 1.2 times ($p<0.05$) respectively, a decrease in the concentration of interleukin-6 by 1.3 times ($p<0.05$), tumor necrosis factor- α – by 1.6 times ($p<0.05$).

Keywords: severe craniocerebral trauma, glucocorticoid osteoporosis, salmon calcitonin.

Введение. В настоящее время частота и тяжесть механических повреждений, обусловленных факторами цивилизации, не имеют тенденции к снижению [3, с. 6]. В структуре общего травматизма, по данным ВОЗ, поражения головного мозга составляют 25-30% [6]. На долю черепно-мозговой травмы (ЧМТ) приходится 2/3 смертельных исходов [5]. Среди всех сочетанных повреждений сочетанная ЧМТ составляет 89,4% [6]. Травмы мозга являются одной из причин высокой инвалидности и временной утраты трудоспособности [5]. Летальность от ЧМТ возрастает в случае присоединения к ней шока до 90%.

Особенно неблагоприятно протекает травматическая болезнь у людей, имеющих тяжелые фоновые заболевания, в том числе и остеопороз [2; 5]. Тяжелая ЧМТ, полученная на фоне глюкокортикоидного остеопороза, характеризуется высокой летальностью и частотой

осложнений [1; 5]. В настоящее время эффективность кальцитонина у пострадавших с тяжелой ЧМТ и сопутствующим остеопорозом не изучены, а механизмы его лечебного действия нуждаются в уточнении.

Цель исследования – оценить эффективность Миакальцика (кальцитонина лосося) по характеру изменения отдельных показателей кальциевого обмена и цитокинов у крыс с глюкокортикоидным остеопорозом и тяжелой черепно-мозговой травмой.

Материал и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены на 46 белых беспородных крысах, весом 250-300 г. Подготовка животных к эксперименту, травмирование и выведение из эксперимента осуществляли при соблюдении общих требований и положений Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других целей (Страсбург, 1986).

В исследовании изучали эффективность кальцитонина лосося (фармакологический препарат «Миакальцик», выпускаемый фирмой Novartis Pharma в форме ампульного раствора для инъекций). Содержание синтетического кальцитонина лосося в 1 мл препарата составило 100 МЕ (1 МЕ биологической активности препарата соответствовала 0,2 мкг активного вещества) [6; 8].

На предварительном этапе исследования эффективность кальцитонина лосося при ЧМТ, а также при сочетании ЧМТ с остеопорозом, изучали по увеличению продолжительности жизни крыс, леченных препаратом (опытная группа), по сравнению со временем жизни крыс без лечения (группа контроля). Препарат вводили через 4 часа после нанесения травмы и типирования посттравматической реакции. В опытной группе крыс кальцитонин лосося вводили внутривентриально в дозе 25 МЕ/кг (в объемном эквиваленте это составляло 0,4 мл/кг официального раствора). Эффективность кальцитонина лосося при моделируемой патологии в основной серии экспериментов изучали по изменению комплекса биохимических показателей крови в двух группах крыс, которым вводили препарат (опытная группа 2) и крыс с остеопорозом и травмой без введения препарата (контрольная группа 2). В каждой группе животных было по 8 особей. Для сравнения (контроль-интактные животные) были использованы десять крыс.

ЧМТ моделировали путем нанесения одного удара пружинным ударником по черепу крыс силой 1325 Н/см². При отработке методики моделирования посттравматической реакции все параметры силы и частоты ударов подбирали экспериментально, изучая частоту летальности и морфологические изменения в области травмы черепа и мозга. В целом, травма мозга идентифицировалась как ЧМТ средней и тяжелой степени тяжести. Летальность в остром периоде ЧМТ (до 1 суток) составила 40%. Продолжительность жизни животных при моделируемой патологии лежала в широком интервале значений – от 12 до 75

часов, в среднем $34,5 \pm 3,3$ часа. Большой разброс данных времени жизни крыс вызвал необходимость учета роли индивидуальной реактивности животных. Для этого была применена методика, связанная с измерением электрокожного сопротивления у травмированных крыс [4].

Типы посттравматической реакции при ЧМТ определяли с помощью модифицированного метода измерения электропроводности кожи посредством показателя «К» в динамике по С. Е. Золотухину [4].

Само электрическое сопротивление снимали с помощью электродов-прищепок с передних лап крыс и определяли по закону Ома. На основании дискретных значений показателя «К», вычисляемых в течение 4 часов после травмы у животных, находящихся в иммобилизованном состоянии, строили графики. Для выяснения связи изменений показателя «К» с фазами посттравматической реакции проведены сопоставления этого показателя с параметрами артериального давления (АД), частотой сердечных сокращений (ЧСС) и частотой дыхания (ЧД).

Они подтвердили фазный характер развития ЧМТ [3, с. 173]. Характер повреждений мозга и изменений индивидуальной реактивности животных, определяемый по электрокожной сопротивляемости, лежал в основе определения типов посттравматической реакции и имел важное прогностическое значение. В динамике ЧМТ на основании значений показателя «К» дифференцировали три ее основных типа. Первый тип реакций крыс, погибших на третьи сутки после травмы, назван нами «возбудимым», второй тип реакций крыс, погибших на вторые сутки – «промежуточным», а третий тип реакций крыс, погибших в течение первых суток – «тормозным». В процентном отношении структура распределения типов выглядела соответственно 30 : 30 : 40.

В настоящем исследовании использованы крысы, у которых дифференцировался только тормозный (как наиболее тяжелый) тип посттравматической реакции.

Моделирование остеопороза осуществляли путем внутримышечного введения 3 мг/кг метилпреднизолона («Pfizer», США) в сутки на протяжении 4-5 недель под непосредственным еженедельным рентгенологическим контролем длины пояснично-грудного отдела позвоночника крысы и учета степени уменьшения средней длины одного позвонка этого сегмента, по которой и определяли (посредством вычисления показателя «R») тяжесть остеопороза [2]. В исследовании использованы крысы, у которых развивался остеопороз легкой степени (при более тяжелых формах остеопороза и тяжелой ЧМТ имела место ранняя летальность).

При моделировании сочетанной патологии первоначально вызывали у крыс остеопороз, а затем наносили травму.

Определение содержания следующих гормонов: кальцитонина (КТ), паратиреоидного гормона (ПТГ), тиреотропного гормона (ТТГ), тироксина (Т₄), и трийодтиронина (Т₃), цитокинов (интерлейкина (ИЛ)-6 и фактора некроза опухоли (ФНО)-α) проводили иммуноферментным и радиоиммунологическим (метка радиоактивным изотопом йода, I¹²⁵) методами, с использованием стандартных коммерческих наборов реактивов для определения исследуемых веществ в образцах плазмы крови крыс. Содержание ионизированного кальция в сыворотке крови определяли с помощью ионоселективных электродов на анализаторе «Эксперт 001». При статистической обработке рассчитывали средние величины и их стандартные ошибки (M±m).

Результаты исследований и обсуждение. Продолжительность жизни у остеопоретических (остеопороз легкой степени тяжести) крыс с травмой при тормозном типе посттравматической реакции (контроль 1) была равна 12,2±2,2 часа (без лечения). Продолжительность жизни крыс с тормозным типом посттравматической реакции без остеопороза и лечения составила 19,3±3,2 часа, в опытной серии (с остеопорозом, с ЧМТ и с лечением) – 19,7±2,3 часа. Разница с соответствующим контролем составила 7,5 часа (p<0,05). Результаты биохимических исследований у крыс контрольных и опытной серий представлены в таблице.

Таблица

Изменения биохимических показателей крови у остеопоретических крыс при тормозном типе посттравматической реакции в сериях экспериментов (M±m)

| Показатели | Контроль (интактные), (n=10) | Контроль 2 (без лечения), (n=8) | Опытная 2 (Миакальдик), (n=8) |
|-----------------------------|---------------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| Ca ⁺⁺ , мкмоль/л | 0,63±0,03 | 0,39±0,02 ¹⁾ | 0,49±0,01 ^{1), 2)} |
| КТ, пг/мл | 24,11±3,1 | 72,3±7,2 ¹⁾ | 228,7±6,8 ^{1), 2)} |
| ПТГ, пг/мл | 51,25±6,91 | 320,4±26,7 ¹⁾ | 462,3±28,4 ^{1), 2)} |
| ТТГ, мМО/л | 0,129±0,022 | 0,57±0,04 ¹⁾ | 0,69±0,03 ^{1), 2)} |
| Т ₄ , нмоль/л | 39,67±6,8 | 120,6±8,5 ¹⁾ | 106,2±9,9 ^{1), 2)} |
| Т ₃ , нмоль/л | 2,45±0,19 | 1,89±0,02 ¹⁾ | 2,2±0,16 ¹⁾ |
| ИЛ-6, пг/мл | 7,5±1,6 | 77,9±4,0 ¹⁾ | 60,3±4,4 ^{1), 2)} |
| ФНО-α, пг/мл | 44,72±3,78 | 1935,3±134,5 ¹⁾ | 1188,1±112,7 ^{1), 2)} |

Примечание: ¹⁾ – достоверны различия по сравнению с интактными животными (p<0,05);

²⁾ – достоверны различия по сравнению с травмированными крысами без лечения (p<0,05).

Как видно из представленных данных, у крыс с тормозным типом посттравматической реакции и остеопорозом легкой степени через 8 часов после травмы (контрольная серия) наблюдались глубокие нарушения метаболизма Ca^{++} , выраженная нейроэндокринная реакция и гиперцитокинемия. Изменения исследованных биохимических показателей в этой серии характеризовали тяжесть и необратимость патологического процесса у животных с тормозным типом посттравматической реакции и остеопорозом (они касались, в первую очередь, уровня ионизированного кальция и цитокинов – ИЛ-6 и ФНО- α). У животных, которым вводили внутривенно миакальцик наблюдались изменения, отличающиеся от контроля (травма без лечения). Обращало на себя внимание, что возрастала на 15,8% ($p < 0,05$) концентрация ионизированного кальция, резко в 3,2 раза увеличивалась концентрация КТ ($p < 0,05$), в 1,4 раза возрастала концентрация ПТГ ($p < 0,05$) и в 1,2 раза концентрация ТТГ ($p < 0,05$).

При этом на 36% снижалась концентрация T_4 ($p < 0,05$). Уровень T_3 не изменялся. Уровень ИЛ-6 снижался в 1,3 раза ($p < 0,05$), а ФНО- α в 1,6 раза ($p < 0,05$). Изменение всех показателей следует считать благоприятными, поскольку у животных с аналогичной тяжестью и дозой миакальцика наблюдалось увеличение продолжительности жизни.

Благоприятную картину состояния животных по сравнению с контрольной группой также подчеркивают увеличение концентрации кальция и некоторое снижение цитокиновых показателей. Возросшая в 3,2 раза концентрация КТ говорила об экзогенно введенном кальцитонине (в составе фармпрепарата «Миакальцик»), который детектировался используемым аналитическим методом. Увеличение концентрации ПТГ и ТТГ после введения миакальцика крысам с тормозным типом посттравматической реакции и остеопорозом также следует считать результатом действия миакальцика. Исходя из функционально антагонистических механизмов влияния КТ и ПТГ на кости и кальциевый обмен в целом, можно было бы предполагать, что уровень ПТГ после введения КТ лосося должен снижаться. На самом деле, как видно из таблицы 1, он повысился, причем повысился вместе с ТТГ. Повышение ПТГ и ТТГ в крови вызвано, вероятно, усилением гипофизарного синтеза и выброса гормонов в кровь. Влияние миакальцика на ЦНС подтверждают литературные источники, в частности данные о наличии в ЦНС специфических рецепторов для связывания кальцитонина лосося [7]. Вероятно, с этими свойствами миакальцика связан и его анальгетический эффект. С увеличением концентрации ТТГ не происходило существенных отклонений в уровне гормонов T_4 и T_3 , однако незначительные, хотя и достоверные изменения T_4 , свидетельствовали о сдвиге в сторону восстановления функциональной связи гипоталамуса и гипофиза с щитовидной железой.

Данные о снижении уровня гиперцитокинемии при введении крысам миакальцика, вероятно, были вызваны положительным влиянием препарата на желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). Известно, что миакальцик снижает желудочную и экзокринную панкреатическую секрецию [6]. Эти свойства препарата обуславливают его эффективность в лечении острого панкреатита [4]. При травматическом процессе указанные механизмы миакальцика препятствуют неполноценному перевариванию пищи, содержащейся в ЖКТ животных, действию агрессивных соков на слизистую оболочку этого тракта и, как следствие, уменьшению всасываемости не переваренных (полноценная функция ЖКТ при тяжелой механической травме нарушается) компонентов пищи в кровь. Следует считать, что за счет снижения интоксикации организма со стороны токсических продуктов ЖКТ снижался уровень ИЛ-6 и ФНО- α .

Таким образом, проведена оценка эффективности кальцитонина лосося при тяжелой механической травме и сопутствующем глюкокортикоидном остеопорозе в эксперименте. Показана эффективность препарата при тормозном типе посттравматической реакции и глюкокортикоидном остеопорозе легкой степени. Лечебное действие миакальцика при ЧМТ, вероятно, реализуется за счет механизма его нейротропного действия на ЦНС и, в частности, на гипоталамо-гипофизарную систему. Отмечено повышение концентрации в плазме крови ПТГ и ТТГ в 1,4 раза ($p < 0,05$) и в 1,2 раза ($p < 0,05$) соответственно. Миакальцик, вероятно, также уменьшает интоксикацию организма токсическими продуктами кишечника. Благодаря этому механизму концентрация ИЛ-6 в крови снижается в 1,3 раза ($p < 0,05$), а концентрация ФНО- α – в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Выводы:

1. Миакальцик (кальцитонин лосося) обладает лечебной эффективностью при тяжелой черепно-мозговой травме. У животных с сочетанной патологией (тормозный тип посттравматической реакции, развивающийся у животных с легкой степенью остеопороза) продолжительность жизни крыс по сравнению с контролем (без лечения) увеличивается на 7,5 часов ($p < 0,05$).

2. Механизм лечебного действия миакальцика реализуется за счет его нейротропного действия на ЦНС и, в частности, на гипоталамо-гипофизарную систему, а также за счет ограничения процессов пищеварения, что в условиях тяжелой ЧМТ уменьшает проникновение в кровь из ЖКТ токсических продуктов гниения и брожения пищи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беневоленская Л. И. Проблема остеопороза в современной медицине // Научно-практическая ревматология. – 2005. – № 1. – С. 4–7.
2. Буфистова А. В., Золотухин С. Е., Коробов В. П. Прогнозирование тяжести течения глюкокортикоидного остеопороза (экспериментальное исследование) // Загальна патологічна фізіологія. – 2006. – № 1 (2). – С. 60–64.
3. Ельский В. Н., Зяблицев С. В. Нейрогормональные регуляторные механизмы при черепно-мозговой травме. – Донецк: Новый мир, 2008. – 240 с.
4. Золотухин С. Е. Травматическая болезнь у шахтеров глубоких угольных шахт // Клиническая хирургия. – 1998. – № 10. – С. 33–36.
5. Казимирко В. К., Малышев В. И. Остеопороз как биологическая проблема // Здоров'я України. – 2005. – № 21 (130). – С. 27–29.
6. Рощин Г. Г., Малыш Н. Р., Шлапак И. П., Сахно О. В. Прогностические критерии развития мультиорганной дисфункции у пострадавших с политравмой // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можасєва. – 2008. – № 9 (4). – С. 27–32.
7. Chesnut C., Silverman S., Andriano K. A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. PROOF study group // Am. J. Med. – 2000. – Vol. 109 (4). – P. 267–276.
8. Silverman S. L., Azria M. The analgesic role of calcitonin following osteoporotic fracture // Osteoporos Int. – 2002. – Vol. 13 (11). – P. 858–867.