

# ЕФЕКАТ КОМБИНОВАНЕ ЕЛЕКТРОМАГНЕТНЕ И МЕДИКАМЕНТОЗНЕ ТЕРАПИЈЕ ОСТЕОПОРОЗЕ НА БУБРЕЖНЕ ГЛОМЕРУЛЕ ПАЦОВА

Гранулић Бојана<sup>1</sup>, Керановић Сања<sup>1</sup>, Параш Смиљана<sup>1</sup>,  
Матавуљ Милица<sup>2</sup>, Лукач Тамара<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Природно-математички факултет, Универзитета у Бањој Луци

<sup>2</sup>Природно-математички факултет, Департман за биологију и екологију у Новом Саду,  
Трг Доситеја Обрадовића 2, Нови Сад

<sup>3</sup>Виша Медицинска школа у Приједору, Приједор

## Abstract

**GRANULIĆ, Bojana, Sanja KERANOVIĆ, Smiljana PARAŠ, Milica MATAVULJ, Tamara LUKAČ: EFFECT OF COMBINED ELECTROMAGNETIC AND MEDICAMENT THERAPY ON GLOMERULES OF RATS KIDNEY** [Faculty of Natural Sciences, University of Banja Luka, Faculty of Natural Sciences, University of Novi Sad, Trg Dositeja Obradovica, 21000 Novi Sad, High Medical School, Prijedor]

Osteoporosis is a common health problem for adults, elderly people, especially in women after menopause when synthesis of estrogens, the key protective hormones of osteoporosis, are reduced. Modern science is searching for the best way of treating this disease and to find the most effective therapy, which would not be invasive and without side effects. The aim of this study was to determine the effect of treatment of osteoporosis by electromagnetic fields in combination with the standard medicamentous therapy for osteoporosis (calcium, vitamin D and pamindronat) on structure of renal corpuscles of rats with experimentally induced osteoporosis what is of importance in the light of evidence that kidneys, as part of the urinary system, have an important role in maintaining of the health and homeostasis of the organism. According to our results, combination of those therapies for osteoporosis induced an increase of volume of renal corpuscles and volume of renal glomerules too. Also, increase of number of renal corpuscles in the kidneys of treated animals was noticed. Our findings may be useful for design of new protocols for therapy of osteoporosis.

**Key words:** kidney, pulsed electromagnetic fields, osteoporosis.

## Сажетак

Остеопороза је чест здравствени проблем одраслих, старијих људи, посебно жена након менопаузе, када се нагло редукује синтеза естрогена, једног од кључних остеопротективних хормона. Савремена наука трага за најбољим начином третирања овог обољења како би се пронашла најефикаснија терапија која би била најмање инвазивна и са што мање нежељених ефеката. Циљ овог рада је да се установи ефекат третмана остеопорозе електромагнетним пољима и стандардном медикаментозном терапијом (калцијум, витамин Д<sub>3</sub> и паминдронат) на структуру бубрежних телашаца оваријектомисаних експерименталних животиња, тј. животиња са експериментално индукованом остеопорозом, будући да бубрези као централни органи уринарног система имају важну улогу у одржавању хомеостазе организма. Према нашим резултатима примењена хормонска терапија за остеопорозу индукује повећање волумена бубрежног корпускула, као и бубрежног гломерула. Такође, запажено је повећање броја бубрежних корпускула код третираних у односу на контролне животиње. Наши налази могли би бити од важности при прављењу нових терапеутских протокола за третман остеопорозе.

**Кључне ријечи:** бубрег, променљива електромагнетна поља, остеопороза.

## УВОД

Остеопороза је чест здравствени проблем одраслих, старијих људи, посебно жена након менопаузе, када се нагло редукује синтеза естрогена, једног од кључних

остеопротективних хормона. Човек је у данашње време све изложенији утицају нискофреквентног електромагнетног зрачења, тако да истраживања из ове области добијају све већи значај. Мада је ова област истраживања све актуелнија, још увек не постоји довољно података о биолошким ефектима нискофреквентних електромагнетних поља (ЕНФ-ЕМП). Постоје истраживања која говоре да нискофреквентно електромагнетно зрачење у ткиву бубрега изазива одређене промене. Познато је да изазива повећање запремине епителних ћелија бубрежних тубула, што узрокује сужавање лумена тубула. Уочена је и експанзија гломерула на рачун Боуманове капсуле, и увећање корпускула ([www.medscimont.com](http://www.medscimont.com)). Истраживања стања микроциркулаторног корита у различитим органима пацова, укључујући и бубрег указала су на деловање ЕМП-а на васкуларно корито. Постоји низ истраживања чији резултати указују на чињеницу да нискофреквентно електромагнетно зрачење стимулише ангиогенезу. Механизам којим се одвија ангиогенеза под деловањем ЕМП-а још није са сигурношћу утврђен. Највероватније ова поља индукују продукцију и ослобађање неких од ангиогених фактора раста, односно, утичу на поремећај равнотеже између фактора који врше стимулацију и оних који инхибирају ангиогенезу. Утврђено је да једнократно деловање нискофреквентног електромагнетног поља на област пројекције бубрега (индукције 30 mT, фреквенције 50 Hz, трајања експозиције 20 min) незнатно смањује вредност системског артеријског притиска. Међутим, његово значајно смањење се уочава тек после троструко поновљене процедуре, јер се његово хипотензивно дејство постепено повећава (Лажетић и сар., 2004).

Остеопороза се карактерише губитком минералне густине костију или њиховим смањивањем што изазива слабост костију и може довести до прелома. Код жена се ризик за остеопорозу повећава са старењем и ступањем у менопаузу, када започиње пад нивоа женских полних хормона, естрогена (Матавуљ и сар., 2005). Код дијагностиковане остеопорозе данас се као терапија најчешће примењује комбинација медикаментозног и електромагнетног третмана. Медикаментозна терапија се проводи комбинацијом калцијума, витамина D<sub>3</sub> и парминдронатом. Значај адекватног уноса калцијума храном за формирање кости одавно је познат, још 1929. год. уочено је да у случају смањеног уноса калцијума храном настаје брзи губитак коштане масе, што је касније доказано на многим експерименталним животињским моделима (Анђелковић и сар., 2001). Витамин D и његови аналози, као што је већ добро познато, имају одлике хормона са паракриним и ендокриним ефектима, а имају улогу у диференцијацији ћелија и испољавају имуномодулаторни ефекат. Примена витамина D у лечењу рахитиса и остеомалације почиње још двадесетих године када је овај витамин и откривен. Са друге стране, паминдронат као бисфосфонат има снажан афинитет за хидроксиапатитне кристале кости, за које се везује и тако спречава њихову деградацију од стране остеокласта, односно инхибирају деминерализацију и ресорпцију костију. Паминдронат припада новој генерацији лекова из групе бисфосфоната који су снажни инхибитори коштане ресорпције и знатно је делотворнији него раније примењивани лекови. Третман остеопорозе променљивим електромагнетним пољима екстремно ниске фреквенције (ЕНФ ЕМП-а) је такође један од данас широко примењиваних начина лечења ове болести будући да ова поља значајно супресују губљење, а уједно и подстичу обнављање трабекуларне кости. Овде се међутим поставља питање како овакви третмани делују на остала ткива и органе, због чега је циљ нашег рада био да испитамо њихов ефекат на структуру бубрега, односно на структуру бубрежних телашаца оваријектомисаних животиња тј. животиња са експериментално индукованом остеопорозом јер су бубрези, централни органи уринарног система и имају важну улогу у одржању хомеостазе организма.

## МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

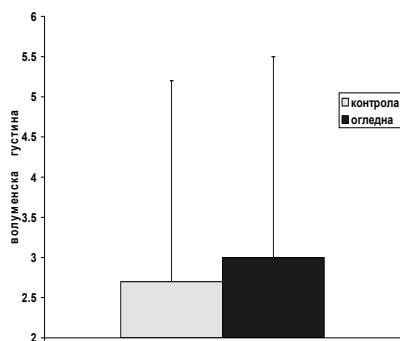
Експериментални део овог рада изведен је у Институту „Мљечаница“, Козарска Дубица на четрнаест недеља старим женкама пацова соја Wistar, телесне масе од 200 до 220 грама, које су узгојене на фарми за експерименталне животиње Војно-медицинске академије (ВМА), Београд. У експерименту су биле укључене укупно 74 животиње, 18 контролних и 56 третираних електромагнетним пољима. Све животиње су имале истоветне услове смештаја, биле су подвргнуте природном дневно-ноћном ритму светлости и константној температури ваздуха од 20°C до 22°C, храњене су стандардном брикетираним храном за пацове произведеном у Ветеринарском заводу, Суботица, док су воду узимале по потреби. Све експерименталне процедуре на животињама су изведене у складу са Смерницама за бригу о животињама у експерименталним истраживањима Етичког комитета ВМА и Етичког комитета Института Мљечаница. Код свих 74 животиње урађена је билатерална оваријектомија у општој анестезији. Након шест седмица од оваријектомије, у двадесетој недељи живота, 56 оваријектомисаних женке су излагане променљивом електромагнетном пољу (ЕНФ ЕМП), пет седмица, пет дана у седмици, једном дневно по 45 минута. ЕНФ ЕМПа је генерисао апарат „Космаг 60“, произвођач „Космос“, Бања Лука, који се користи као апарат за магнетотерапију остеопорозе у Институту за физикалну медицину „Мљечаница“, Козарска Дубица. Примењена динамика излагања животиња ЕНФ ЕМПа је забрањена као најприближнија клиничком протоколу магнетотерапије оболелих од остеопорозе. „КОСМАГ 60“ се напаја из електродистрибутивне мреже струјом од 220 V, 50 Hz и производи електромагнетно поље фреквенције 40 Hz и јачине 10 mT. Антена која генерише ова електромагнетна поља за време третмана апликује се испод кавеза са животињама његовом целом дужином. Осим електромагнетним пољима, ова група животиња је истовремено била третирана и медикаментозно калцијумом, витамином D<sub>3</sub> и паминдронатом. Калцијум и витамин D<sub>3</sub> су били у форми таблета Ideos® (Innotech Intgrational, Francuska). Једна таблета овог препарата садржи: 1250 mg калцијум карбоната (што одговара дози од 500 mg елементарног калцијума) и 400 i.j. витамина D<sub>3</sub> (холекалциферола). За пероралну апликацију Ideos® таблета је растопљена у 5 ml обичне воде и раствор је даван пацовима гастричном сондом непосредно пре излагања ЕНФ ЕМП-а. Животињама којима је даван лек храна је ускраћена два часа пре почетка експеримента, а нормална исхрана настављена је један час након давања лека. Медикаментозни третман животиња је поред Ideos® таблета укључивао и паминдронат у форми препарата Agedia (Novartis Pharma AG, Basel, Switzyerland). У једној бочици Agedia-e има 15 mg паминдронат динатријума у облику лиофилизованог прашака који се прво раствори у 5 ml стерилне воде за инекције. Реконструисан раствор је даље разблажен у 10 ml инфузионог раствора који не садржи калцијум (0,9 % раствор NaCl). Доза од 0,3 mg/100 g/телесне масе (тм) паминдроната односно 1,2 ml раствора је стерилном иглом давана интраперитонеално свакој животињи 1., 4., 8., 11., 15., 18., 22., 25., 29., и 32. дана експеримента.

Након дисекције, која је извршена у старској наркози, од свих 74 животиња извађени су бубрези и фиксирани у Буеновом фиксативу у трајању од 48 сати. Фиксирани бубрези су затим спроведени кроз стандардну хистолошку процедуру за припрему узорака за светлосно микроскопску анализу, калупљени су у парафину, сечени на ротационом микротому, а пресеци су бојени хематоксилином и еозином и монтирани у канада балзаму. Ови резови су осим за хистолошку послужили и за стереолошку анализу која је спроведена многонаменским тестним системом M42 помоћу кога смо одредили волуменску густину бубрежног корпускулама (Vvc) и гломерула бубрега (Vvg) третираних и контролних животња (С т е ф а н о в и ћ, 2000).

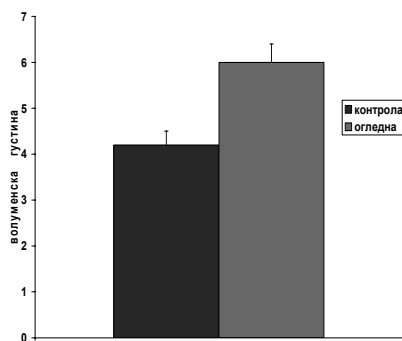
Збиром вредности за оба параметра одредили смо и волуменску густину бубрежних телашаца. Сигнификантност добијених вредности свих стереолошких параметара проверили смо Студентовим тестом.

## РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Циљ савремене терапије остеопорозе је да се уведу такви третмани за ово коштано обољење који би били не само ефикасни у његовом лечењу, него који би били и најмање инвазивни за остале органе, укључујући и бубреге. Како су показали резултати нашег експеримента излагање пацова ЕНФ ЕМП (10 mT, 40 Hz) уз свакодневну медикаментозну терапије за остеопорозу (калцијума, витамина Д<sub>3</sub> и парминдронат) узроковало је сигнификантно ( $p < 0,01$ ) повећање вредности волуменске густине бубрежног корпускула ( $V_{vc}$ ) у односу на контролну групу (Слика 1). Исто тако, уочено је и сигнификантно увећање ( $p < 0,01$ ) волуменске густине бубрежног гломерула ( $V_{vg}$ ) у односу на контролну групу (Слика 2). Слично повећање волумена гломерула запазили су и Zage и сарадници (2007) у бубрегу заморчића који су третирани ЕНФ ЕМП пет дана по четири сата. Показали су да епителне ћелије бубрежних тубула у

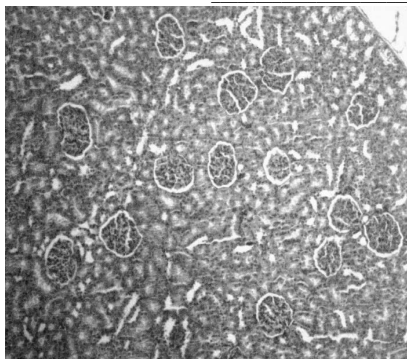


**Слика 1.** Волуменска густина ( $V_{vc}$ ) ( $\bar{X} \pm SE$ ) бубрежних корпускула контролних и третираних животиња

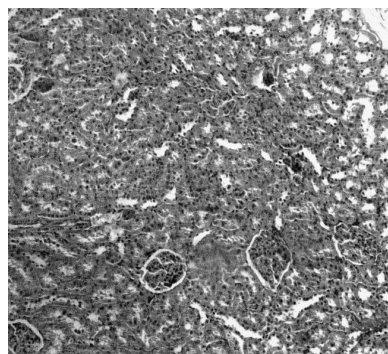


**Слика 2.** Волуменска густина ( $V_{vg}$ ) ( $\bar{X} \pm SE$ ) бубрежних гломерулуса контролних и третираних животиња

експерименталним условима повећавају свој волумен, услед чега долази до смањења лумена тубула. Уочено је и повећање гломерула услед увећања ендотелних ћелија гломерула, па је дошло и до увећања корпускула (Kijatkin и сар., 2000). Резултати ранијих истраживања стања микроциркуларног корита у различитим органима пацова, укључујући и бубрег пацова третираних ЕМП-а указују на дјеловање ових поља на крвне судове (Кошев и сар., 1981). Утврђено је да једнократно дјеловање ЕНФ ЕМП у региону бубрега незнатно смањује вредност системског атеријског крвног притиска, међутим значајно смањење се уочава тек после трећег излагања. Ово хипотензивно дјелство ЕМП-а се постепено повећава са даљим излагањем пољима, затим се одржава 6-7 дана на истом нивоу. 13.-15. дана након излагања артеријски притисак се полако повећава, достижући полазну вредност, адаптира се пољима. (Булявых и сар., 1986). Хистолошка анализа је такође показала да је у нашем експерименту дошло до повећања волумена, и броја бубрежних корпускула код третираних животиња у односу на контролне (Слика 3 и 4).



**Слика 3.** Кортекс бубрега. Контролна животиња, HE, 50X



**Слика 4.** Кортекс бубрега. Животиња третирана медикаментозно и ЕНФ ЕМП-а HE 50X

Ранија истраживања утицаја ЕНФ ЕМП-а на телесну масу мужјака одраслих пацова, уочено је значајно смањење прираста телесне масе огледне групе, у односу на контролну групу, што се доводи у везу са радом бубрега животиња. Применом општеприхваћеног теста оптерећења водом и сољу, за функционално испитивање бубрега, нађене су значајне разлике у диурези и салурези између третиране и контролне групе животиња (К о ш е в и с а р. 1981).

Још увек није решено питање на ком нивоу делују ЕМП-а на биолошке системе, тј. да ли она своје дејство испољавају на нивоу регулаторних центара различитих телесних функција или делују непосредно на све телесне ћелије (Z а г е и с а р., 2007). На ћелијском нивоу, липиди, протеини, угљени хидрати и нуклеинске киселине, могу бити оштећене слободним радикалим, што се према неким ауторима и дешава при излагању организмима ЕНФ ЕМП-а (Л а ж е т и ћ и с а р., 2005). Скорашња истраживања, међутим, упућују на чињеницу да излагање ЕНФ ЕМП не повећава концентрацију реактивних оксигених молекула како у ћелијама тубула бубрега. Уочена је само повећана концентрација манганових јона у ћелијама бубрега и која је била у прихватљивим физиолошким границама. Тачан узрок овог повећања се не зна, али се претпоставља да је највероватније последица деловања ЕМП-а на путеве метаболизма и синтезе манганових јона ([www.medscimont.com](http://www.medscimont.com), 2010). Што се тиче медикаментозне терапије остеопорозе свака од супстанци примењених у овом третману има специфично деловање на физиологију бубрега. Познато је да када се ниво калцијума у крви из било ког разлога смањи то, преко паратиroidног хормон, изазива мобилизацију калцијума из костију и његово ослобађање у циркулацију. Код људи са поремећеном реналном функцијом повећан је ризик од настанка болести костију означене као ренална остеоидистрофије (R u e d i n и с а р., 1994).

Витамин D<sub>3</sub> у организму одговоран је за изградњу и јачање костију, одржавање сталности нивоа калцијума и фосфора у крви и неопходан је за превенцију деминерализације костију и остеомајалације. У бубрезима се налазе рецептори витамина D који играју главну улогу у превозињу витамина D из његовог неактивног у активни облик (С г и р и с а р., 2004), што, поред наведеног, указује да су бубрези сензитивни на медикаментозни третман (калцијумом, витамином D, паминдронат) који се примењује у терапији остеопорозе.

## ЗАКЉУЧЦИ

На основу хистолошке и стереолошке анализе бубрега оваријектомисаних белих лабораторијских пацова соја Wistar тј. животиња са експерименталном остеопорозом, након петомесечног третмана ЕНФ ЕМП-ма и стандардном медикаментозном

терапијом за остеопорозу (калцијум, витамин D<sub>3</sub>, и паминдронат), могу се извући следећи закључци:

1. Бубрег је сензитиван на деловање комбинованог третмана ЕНФ ЕМП-ма и медикаментозном терапијом за остеопорозу, што се манифестовало променом морфометријских карактеристика бубрежних телашаца.
2. Овај комбиновани третман је узроковао сигнификантно повећање ( $p < 0,01$ ) вредности волуменске густине бубрежних корпускула ( $V_{vc}$ ) у односу на контролне животиње
3. Вредности волуменске густине бубрежних гломерула ( $V_{vg}$ ), је такође сигнификантно увећана ( $p < 0,01$ ) код третираних животиња у поређењу са контролном групом.
4. Оваква врста испитивања могла би бити од значајна при дефинисању клиничких протокола за примену комбиноване електромагнетне и медикаментозне терапије у третману остеопорозе.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анђелковић, З., Љ. Сомер, М. Матавуљ, В. Даниловић (2001): Хистолошка грађа органа. Бона Фидес, Ниш.
2. Булявых, А. Т., О. С. Медведев, А.Ф. Стуканов (1987): Влияженизкочастого магнитого поля на системное артириальное давление спонранно гипертензивних крсь. Бюлл. експер. биол и мед. Москва.
3. Crupi, V., S. Interdonato, D. Majolino, M. R. Mondello, S. Perqolizzi, V. Venuti (2004): Structural changes of tissue samples exposed to low frequency electromagnetic fields: A FT-IR absorbance study. *Journal Spectroscopy*, 18(4), 513-518, 2004.
4. Kijatkin, V. A., I. V. Karpukhin, I. M. Esilevskij, A. G. Ufimtseva, E. V. Severgina (2000): Use of super-higher frequency electromagnetic fields on intrarenal circulation and morphological status of health kidneys. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*, Vol. 6, 9-34.
5. Кошев, В. И., С. А. Вашурина, Б. Х. Жуков, Е. Ц. Петров, Е. Ц. Бадлянц (1981): Вопросу о механизме действия ПМП на кровеное русло. Ижевск, Удмуртия, Москва.
6. Лажетић, Б., К. Касаш-Лажетић, М. Матавуљ, Н. Нађ-Пекарић, В. Рајковић (2000): Основи магнетобиологије. Монографија, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду, Нови Сад.
7. Матавуљ, М., Т. Костић, С. Андрић (2005): Ендокринолигија. Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду, Департман за биологију и екологију.
8. Ruedin, P., R. Rizzoli, D. Slosman, M. Leski, J. P. Bonjour (1994): Effects of oral calcitriol on bone mineral density in patients with end-stage renal failure. *Kidney International* 45: 245-252.
9. Стефановић, Н. (2000): Класичне и савремене стереолошке методе у истраживањима бубрега. Ауторско издање, Ниш.
10. Zare, S., S. Alivandi, A.G. Ebadi (2007): Histological study of the lowe frequency electromagnetic fields on liver, testis and kidney in guinea pig. *Word Appl Sci J*, 2(5): 509-511.
11. [www.medscimont.com](http://www.medscimont.com), 2010.

Примљено: 29. 12. 2010.

Одобрено: 29. 03. 2012.