616.71-003.9-018:546.47

VLIV ZINKU NA ZPOMALENÉ HOJENÍ KOSTNÍ TKÁNĚ

MUDr. Jiří UHER, CSc.
Výzkumný ústav traumatologický, Brno
(ředitel: doc. MUDr. Jaroslav Michek, CSc.)

V dnešní době průmyslové expanze se nám životní prostředí stále mění v neprospěch člověka. Proto se mu věnuje stále větší pozornost. Většinou se sice jedná jen o stopová množství, ale právě ta se při nedostatku anebo nadbytku projeví škodlivými vlivy.

Mezi tyto stopové prvky patří zinek. Člověk vážící 70 kg má asi 2 g zinku. Jeho koncentrace v různých tkáních kolísá. Nejčastěji se o něm mluví v kostech, zubech, játrech, pankreatu, prostatě, varlatech, kůži, vlasech, nehtech, chorioidei a iris oka. Koncentrace v séru se udává mezi 0,5—3,0 μg/g (22).

Zinek je součástí různých metaloenzymů a tím je potřebný pro rozvoj, růst a funkci řady orgánů a celku. Kostní tkáň je pak jednou z mála, která ho při zvýšeném příjmu hromadí.

V kosti se podle Calhouna (5) hromadí v okolí Haverských kanálků, v novotvořených osteonech, v místech počínající mineralizace a pak v místech přestavby kompakty. U mladších jedinců je v místech enchondrální osifikace. Zinek má vliv na kostní metabolismus, a to jak při výstavbě organické matrix, tak při její mineralizaci.

Nedostatek zinku je u mnoha zvířat jedním z projevů nedostatečného růstu a poruch ve výstavbě kostní tkáně (6). Follis (8) popisuje změny v epifyzárních chrupavkách a O'Dell (21) např. zúžení kortikalis, rozšíření Haverských kanálků, snížení osteoblastů a zmnožení hematopoézy. Bergman (2) po podání zinku našel zmnožení sušiny a Tucker (30) při nedostatku její snížení, což je autorům zřejmým důkazem o vlivu zinku na výstavbu kostní matrix.

Vliv i léčba nedostatku zinku je individuální podle resorbce tohoto prvku trávící soustavou anebo kůží. Nedostatek bývá většinou chronický (potrava, alkoholismus, chronické střevní onemocnění, jaterní a ledvinné choroby) nebo časově omezený, jako je tomu u spálenin, ozáření, po operacích, v těhotenství, v laktaci, šoku a při hojném pocení. Tyto poruchy se mohou různě kombinovat a dokonce nesprávná terapie může také vyvolat jeho snížení (3).

V poslední době se stále častěji objevují zprávy o vzniku nedostatku zinku u lidí po operacích (14), v průběhu podávání umělé výživy (15), při šoku a sepsi (3). K nedostatku tu dochází i při denním příjmu 400 μg.

V průběhu hojení je nápadný přírůstek zinku v granulační tkáni v závislosti na věku, po podání Zn^{65} se tu hromadí a při nedostatku ubývá ze všech tkání mimo granulační (15). Proč se

při hojení setkáváme s příznivými (16, 19) i nepříznivými výsledky (1) osvětlují práce Haegera a Lannera (10). Hojení je komplikovaný děj, jež má svá rozmezí. Příznivý účinek určité látky se vždy lépe prokazuje při jeho zpomalení, snížení hojivosti, ve spodní části rozmezí, kdy příznivé působení vystoupí do popředí, a to nejen jako děj napomáhající hojení, ale často i jako upravující změny, které mění a snižují fyziologické rozmezí celého děje. Za děj vyvolávající zpomalené hojení kostní tkáně lze považovat celkové ozáření rtg paprsky, jak o něm píšeme (31), kde mimo podrobnější metodiku jsou i doklady o jeho účincích.

Materiál a metodika

Zvířata. Pro průkaz vlivu zinku na hojení zlomenin žeber bylo použito krysích samců SPF o hmotnosti kolem 210 g. Byli individuálně ustájeni, krmeni Larsenovou dietou v peletách.

Podávání zinku. Ovlivnění zinkem bylo prováděno přidáním 0,2 mg anebo 0,5 mg zinksulfátu p. a. na kg váhy zvířete k části pelet s mlékem a po konzumaci větší části dostali teprve další stravu. Tuto stravu dostávali 7 dní před zlomeninou a po celou dobu sledování. Pro nechutenství po ozáření jsme přešli po radiaci k formě aplikace podle Suso (28), a to i. p. podáním 0,5 ml $ZnSO_4$ v 0,1% roztoku, upraveného na fyziologický. Tím jedinec denně dostával 0,5 ccm, tj. 0,5 mg $ZnSO_4$.

Hodnocené skupiny

Kontrola — pouhá zlomenina sledovaná po 30 dní — 100 zvířat.

0,2 mg $ZnSO_4$/kg váhy+zlomenina sledovaná po 30 dní — 40 zvířat.

0,5 mg $ZnSO_4$/kg váhy+zlomenina sledovaná po 30 dní — 40 zvířat.

Celotělové ozáření rtg+zlomenina sledovaná po 70 dní — 70 zvířat.

Ozáření a i. p. $ZnSO_4$+zlomenina sledovaná po 70 dní — 70 zvířat.

Zvířata byla utracena 2., 4., 6., 9., 12., 15., 18., 21., 25., 30. den a po ozáření 35., 40., 50., 70. den.

Ozáření. Bylo provedeno jednorázově celotělově dávkou 7 Gy. Další údaje jako způsob ozařování, provádění zlomeniny, morfologické zpracování žeber, barvení a různé druhy morfologického kvantitativního hodnocení jsou v práci prokazující zpomalené hojení po ozáření (31).

Kvantitativní výsledky. Byly statisticky hodnoceny Wilcoxon-Whitea testem a jednorázovým testem pro kritické hodnoty, kde pro významný rozdíl byly hodnoty $u_{0,95}=1,645$ a pro vysoce významný rozdíl $u_{0,99}=2,326$.

Složky svalku (vazivo, chrupavku, kost) jsme hodnotili odděleně a pak teprve celkově, poněvadž u některých složek se nám nepodařilo splnit naše kritéria hodnocení (prokrvení, mitózy). Proto např. o nich mluvíme jen u kostní tkáně.

Nejprve jsme hodnotili změny po přidání 0,2 mg a 0,5 mg $ZnSO_4$ ke kontrole. Pak rozdíly po ozáření s i. p. podáním zinksulfátu.

Z kvantitativních výsledků jsme se omezili jen na ty, které vykazovaly vysoce významný rozdíl ve statistickém hodnocení, a tu píšeme o výrazném zvýšení nebo snížení a při významném rozdílu se zmiňujeme jen o mírném účinku.

Výsledky

Vazivová tkáň. Podávání zinku působí hlavně v 1. týdnu zmnožení fibroblastů zvýšenou výstavbu kyselých glykoproteinů a fibril. Mírně se sníží fagocytóza, což má za následek spíše opouzdřování hematomů a nekróz než jejich vstřebávání.

Po ozáření zinek výrazně ovlivní prosáknutí vaziva, ionální změny kyselých glykoproteinů a hemostatické bariéry. Podávání zinku zlepší výstavbu vaziva, jež je však často provázena sníženou fagocytózou, vstřebáváním nekróz a hematomů, což vede k opouzdřování těchto složek. Časná úprava cévního řečiště se podílí jak na snížení velikosti a množství nekróz, tak i hematomů a i při výstavbě celé matrix. Zmnožení fibroblastů je částečně způsobeno mikrocytózou.

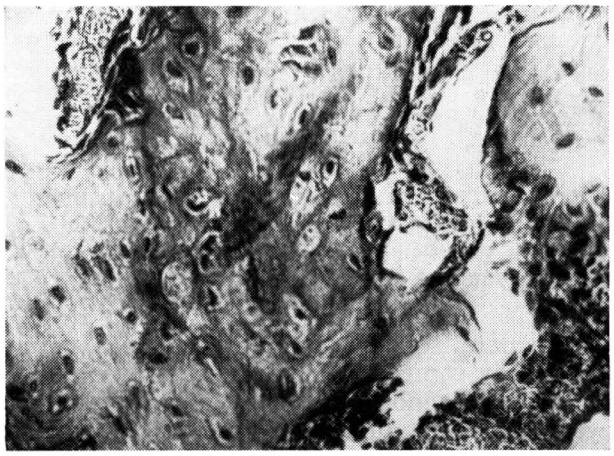
Chondroidní tkáň. U této složky se po podání zinksulfátu výrazně zvětšuje objem na základě zmnožení buněk, zvýšené výstavby matrix, a to hlavně kyselých glykoproteinů. Záhy se tu vytváří i širší kolagenní vlákna. V místech enchondrální osifikace dochází k časným histochemickým změnám, svědčícím pro přesuny iontů v chrupavčité matrix, a jsou jak mezi sloupci chrupavčitých buněk, tak i v místech invaze kapilár. Tyto změny u nižších dávek zinku nejsou tak výrazné jako u vyšších, kde se setkáváme i s výstavbou širších kostních trámců.

Po ozáření se uplatňuje zinksulfát mimo výrazně zvýšenou buněčnost i časnější a lepší výstavbou chondroidní tkáně. Nezabrání se však buněčné polymorfii vyvolané ozářením a místy i chybné výstavbě matrix s degenerativními změnami (31).

Kostní tkáň. Po zinksulfátu dojde zpočátku jen k mírnému zmnožení buněk, jež je po 14 dnech výrazné, ale provázené mikrocytózou. Není statisticky významných změn v celkovém objemu tkáně, ale dochází k ztluštění kostních trámců, hlavně u větší dávky, jež má za následek přetrvávání chondroidních složek ve středu trámců.

Při ozáření ovlivněném zinksulfátem je výstavba kostní tkáně podobná jako u samotného zinku s výstavbou širších trámců, k nimž se váží i změny kyselých glykoproteinů a širších fibril s přetrváváním chondroidní tkáně uprostřed trámců. Přestavba širších trámců se snížením mezenchymální tkáně mezi trámci v kompaktní kost je pak prodloužena.

Celý svalek. Svalek po podání zinksulfátu se rychleji a lépe vytváří v prvých 14 dnech. Po vytvoření pevného chondroosteoidního svalku je jeho přestavba zpomalena. Po ozáření objemu v souvislosti s edémem a lepší výstavbou tkání v 1. dekádě. Zpomalením přestavby



Obr. 1. Část kostního trámce po podání 0,5 mg zinksulfátu. Pronikající kapiláry k chondroidní tkáni podmiňují výstavbu kostních trámců s hojnou chondroidní složkou s basofilií matrix a snížením pojiva v jejich okolí. Barveno hematoxylin-eosinem, zvětšeno 200krát

hlavně osteoidního svalku nedosahujeme patřičného účinku, a tak svalek nacházíme i 70. den.

Prokrvení. Po podání zinečnatých solí dochází k výraznému snížení prokrvení, jenž je po 1. týdnu zřetelnější u vyšší dávky s vytvářením chondroosteoidního svalku s širokými kostními trámci. Ve spojení s ozářením se prokrvení výrazně zlepší vzhledem k samotnému ozáření.

Mitózy. Při sledování mitotické aktivity v kostní tkáni a částečně ve vazivu se nám zinek jeví jako mitogenní činitel, neboť po celou dobu se výrazně zvětšují počty mitóz. Ozáření utlumí tuto činnost, a tak s výrazným zvýšením mitóz se setkáváme jen 2. den. V pozdějším údobí sice mitózy déle přetrvávají, ale zvýšení je statisticky nevýrazné.

Snížené prokrvení spojené se sníženým přísunem látek a zvýšená mitotická aktivita, ať již přičítaná účinku látek na výstavbu jaderných bílkovin, anebo přes jiné vlivy, mají za následek mikrocytózu se zvýšením počtu buněk. Zmnožení kyselých glykoproteinů provází zlepšenou výstavbu fibrilární složky a zvýší se i podíl lehce vyplavitelných kyselých polysacharidů. U argentofilních fibril dochází k jejich ztluštění a u kolagenních k převaze kratších širších fibril.

Rozprava

Řada autorů u lehčích forem radiačního poškození pokládá za hlavní zdroj poruch poškození enzymatických dějů (24) a podobně je s těmito ději spojován i nedostatek zinku (5, 13, 30). Jestliže jsou tyto předpoklady správné, mělo by podávání zinku úspěšně snížit toto navozené poškození ozářením. Pro názornost našich představ uvádíme naše nálezy po radiačním poškození (31) a literární údaje při nedostatku zinku seřazené podle podobných účinků (5, 22).

Radiační poškození	Nedostatek zinku
Snížení buněčné aktivity s pozměněnou výstavbou matrix	Snížení buněčné aktivity a výstavby jaderných aminokyselin
Prodloužená výstavba tkání svalku	Prodloužení výstavby prekurzorů v buňkách a v tkáni
Snížené prokrvení	Poruchy prokrvení
Špatné vstřebávání a opouzdřování hematomů a nekróz	Špatné vstřebávání nekróz a štěpů z matrix
Hematopoéza v místech svalku	Hematopoéza v místech enchondrální osifikace
Výstup tekutin a buněk z kapilár	Poruchy propustnosti kapilár
Osteoporóza v místech novotvořené kostní tkáně	Osteoporóza v místech výstavby osteoidu

Zmnožení zinku v místech hojící se zlomeniny prokázal Calhoun (5), v místech granulace Henzel (12). Při snaze urychlit hojení zinkem však výsledky kolísají (1, 10) a shodně s Haegerem a Lannerem (10) se domnívám, že podstatného účinku lze dosáhnout pouze v případech, kdy hladina zinku v séru je snížena a podání zinku ji výrazně zvýší.

Na účinek zinku však mají vliv nejen jeho metabolismus, jeho vstřebávání, kombinace různých dějů snižujících jeho hladinu, ale i léčba steroidy, určitými antibiotiky, cheláty, kde zvýšeným vylučováním zinku se sníží jeho množství v séru (30). Nejblíže pravdy budou asi autoři, kteří hlavně zdůrazňují příznivý vliv zinku u případů s průkazným časným nedostatkem, který se dalším dějem ještě zhorší (3, 7, 13).

Zaměřili jsme se hlavně na nálezy v poslední skupině. Zde oproti prostému ozáření nám zinek sníží edém, velikost hematomů a nekróz, zlepší buněčnou proliferaci a funkční schopnosti buněk. V matrix pak zvýší kyselé glykoproteiny, výstavbu fibril a prokrvení.

Vliv kyselých glykoproteinů na výstavbu kolagenu a prokrvení je znám. Lehce uvolnitelné složky kyselých glykoproteinů (kyselina hyaluronová, heparin a menší částice) mají vliv na hemokoagulaci, změny cévní propustnosti, tukový metabolismus a potlačují syntézu jaderných bílkovin (20). Větší množství kratších, tlustších kolagenních vláken je mnohými pokládáno za patologické (32). Kyselé glykoproteiny mají přechodnou organizační úlohu při výstavbě fibril, jak ukazují práce (32), ale největší vliv tu má asi přítomnost silně nabitých reaktivních skupin (3). Čím více tyto látky obsahují sulfátových skupin, tím se stávají kratšími, mají mnohem větší vazebnou aktivitu a elektrický náboj (7). Tyto jejich vlastnosti pak mohou mít i vliv na jejich odbourávání. Se syntézou a degradací kolagenu je spojeno několik metaloenzymů, na něž působí zinek (6, 22, 23). V posledních pracích McClaina se např. poukazuje na pokles neutrálních solí rozpustného kolagenu u krys při nedostatku zinku a jiný

poměr mono a dimerických forem kolagenních polypeptidů (18). Někteří změny kolagenu pokládají za jev související s vlivem zinku na polymerizaci jaderných aminokyselin (27, 33). Pro tyto nálezy by v našich experimentech svědčila mikrocytóza. Rovněž se však na mnohém může podílet prokrvení, jak vyplývá z prací Burchových (4). Nejde jen o vliv prokrvení na kostní tkáň, ale i zinku na výstavbu cévní sítě a naopak. Zatímco výstavba chondroidní tkáně je urychlena, její přestavba enchondrální osifikací je prodloužena, neboť přísunem zinksulfátu se nevytváří vhodné podmínky pro přestavbu. Na tom se může uplatňovat jak zinek (4, 13), tak i nezávisle druhá složka soli — sulfát (9, 20).

Zinek svým enzymatickým působením na buněčné membrány jistě napomáhá výstavbě buněk a matrix (6, 13). Sulfát pak může mít vliv na charakter a složení kyselých glykoproteinů a tím na výstavbu fibril (9).

Rovněž při mineralizaci se může negativně uplatňovat jak zinek, tak i sulfát. Zinek jako dvojmocný kationt může vytěsňovat vápník (26). Sulfát může měnit složení a množství sulfomukopolysacharidů, jež mohou selektivně vázat vápenné ionty a tak znemožňovat jejich vypadávání (20). Při mineralizaci je chondroitinsulfát z tkáně uvolňován, ale tu sulfát dodáváme.

Kostní tkáň jako jedna z nejnáročnějších na výstavbu ve svalku se mění zmnožením osteogenních buněk a tvorbou širších kostních trámců. Tuto změnu pokládáme za důležitou, neboť po ozáření často nastupuje osteoporóza. Zinek se tu může uplatnit jak ve formě mitogenního činitele (32), tak i vlivem na enzymatické reakce (3, 6, 23), buněčné membrány (13, 25) a i přes inzulín (17).

Vliv zinečnatých solí je nejvýraznější na počátku hojení, kdy se časně vytváří primární svalek s lepší činností a výstavbou buněk (7, 12, 13).

Výstavba širších kostních trámců s převahou matrix nad buňkami sice zlepší výstavbu, ale přestavbě nenapomáhá. Zinek stimulací metaloenzymů, hlavně oxidačních procesů, se proto více uplatňuje při výstavbě než u přestavby. Snížená přestavba žeber však může mít i příčinu v nedostatku impulsů vedoucích k přestavbě, neboť u žebra nejde o staticky zatěžovanou kost a kostěný svalek ze širších trámců může svou pevností plně vyhovovat.

S tímto stavem by mohl souviset i pokles prokrvení od 2. týdne, kdy přemostění zlomeniny sníží výstavbu cévní sítě. Proto vidíme hlavní význam zinku v prvých 2 týdnech hojení zlomenin při výstavbě svalku se širšími kostními trámci. Jelikož se stále častěji setkáváme s nálezy nedostatku zinku při různých stavech spojených i s hojením, je nutné jej nějakým způsobem postiženému co nejdříve dodat. Pokles hladiny v séru je nejplatnějším ukazatelem (11, 12), neboť další vyčkávání již poškozuje poraněného, a to jak místně průběh hojení (19), tak i jeho celkový stav (11).

Souhrn

Při sledování nějaké látky se nám její účinek lépe hodnotí, jestliže je sledován při jejím nedostatku nebo při poškození sledovaného děje, než když je podávána zdravému jedinci v nadbytku.

Zinečnaté soli působí hlavně v počátečním údobí, kdy v místech zlomeniny stoupá buněčná aktivita, množství kyselých glykoproteinů, výstavba kolagenu, jaderných bílkovin a tím i množství buněk, čímž se urychlí výstavba svalku.

Při poškození hojení ozářením se sníží podáním zinksulfátu edém, rozsah zánětlivé reakce a zkrátí se i doba, kdy se vyplavují určité složky kyselých glykoproteinů. Současně dojde ke zmnožení buněk s jejich mikrocytózou, k zlepšené výstavbě matrix spojené s tvorbou širších kostních trámců a k lepšímu prokrvení.

Tyto děje příznivě ovlivňují výstavbu svalku, ale v dalších týdnech spíše pozorujeme zpomalení přestavby osteoidního svalku žeber.

Na základě těchto nálezů doporučujeme podávání zinečnatých solí v prvých dnech po poranění, kdy obvykle dochází k jejich zřejmému nedostatku.

Literatura

1. BARCIA, P. J.: Ann. Surg., 172, 1970, s. 1048.
2. BERGMAN, B.: Odont. Revy, 21, 1970, Suppl. 20.
3. BREWER, G. J. - PRASAD, A. S.: Progras in Clin. and Biol. Res. New York 1977.
4. BURCH, R. E. - HAHN, H. K. - SULLIVAN, J. F.: Clin. Chem., 21, 1975, s. 501.
5. CALHOUN, N. R. - SMITH, J. C. - BECKER, K. L.: Clin. Orthop. rel. Res., 103, 1974, s. 212.
6. De PALMA, A. F. - ASLING, C. W. - HURLEY, L. S.: Clin. Orthop. rel. Res., 27, 1966, s. 213.
7. DUTHIE, R. B.: Radioisotopes and bone. Oxford 1962.
8. FOLLIS, R. H. - DAY, H. G. - McCOLLUM, E. V.: J. Nutr., 70, 1960, s. 223.
9. GALLOP, P. M.: Connective Tissue. Boston 1964.
10. HAEGER, K. - LANNER, E.: Vasa, 3, 1974, s. 77.
11. HALLBOOK, K. M. - HEDELIN, H.: Brit. J. Surg., 64, 1977, s. 271.
12. HENZEL, J. H. - DeWEESE, M. S. - LICHTI, E. L.: Arch. Surg., 100, 1969, s. 349.
13. CHVAPIL, M.: Zinc and wound healing. Symposium Zinc, Lund 1974.
14. KAHN, A. M. - GORDON, H. E.: Surg. Gynecol. Obstet., 128, 1969, s. 88.
15. KAY, R. G. - JONES, C.: N. Z. J. Surg., 45, 1975, s. 325.
16. KIM, Z. W. - ROSENTHAL, S. P.: J. Surg. Res., 10, 1970, s. 597.
17. MASKE, H.: Z. Naturforsch., 86, 1954, s. 96.
18. McCLAIN, P. E. et al.: Biochem. Biophys. Acta, 304, 1973, s. 457.
19. McGRAY, L. A. - HIGA, L. H. - SONI, N. N.: Oral. Surg., 33, 1972, s. 314.
20. MUIR, H.: Int. Rev. Conn. Tis. Res., New York 1964.

21. O'DELL, B. L. - REYNOLDS, G. - REEVES, P. G.: J. Nutr., 107, 1977, s. 1222.
22. PORIES, W. J. et al.: Surg. Res., New York 1976.
23. PRASAD, A. S. - OBERLEAS, D.: Zinc and Cooper. New York 1976.
24. ROBIN, P. - CASARETT, G. W.: Clinical radiation pathology. London 1968.
25. RUBINI, M. E. et al.: Amer. J. Physiol., 200, 1961, s. 1345.
26. SAMACHSON, J. - SCHMITZ, A.: Biochem. Biophys. Acta, 192, 1969, s. 238.
27. SANDSTEAD, H. H. - RINALDI, R. A.: J. Cell. Physiol., 73, 1969, s. 81.
28. SUSO, F. A. - EDWARDS, H. M.: Proc. Soc. exp. Biol. Med., 137, 1971, s. 306.
29. STEPHAN, J. K. - HAU, J. M.: J. Nutr., 103, 1973, s. 548.
30. TUCKER, S. B.: J. Amer. med. Assoc., 235, 1976, s. 2399.
31. UHER, J.: Voj. zdrav. Listy, 51, 1982, s. 232.
32. WATERS, M. D. et al.: Proc. Soc. exp. Biol. Med., 138, 1971, s. 373.
33. WILLIAMS, R. B. - CHESTER, J. K.: Brit. J. Nutr., 24, 1970, s. 1053.

Klíčová slova: Poškozené hojení kostní tkáně; Vliv zinksulfátu na hojení.