

ЗМІНА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ КРОЛІВ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УШКОДЖЕННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

Т. Л. Савчук, аспірант¹,

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Полковника Потехіна, 16, м. Київ, 03041, Україна

Досліджена динаміка біохімічних показників крові у кролів із нанесеною травмою кісткової тканини. Аналіз динаміки вмісту лужної фосфатази, кальцію та фосфору крові в різні терміни репаративного остеогенезу та одночасно виконаних рентгенівських знімків ушкодженої кісткової тканини підтверджує закономірність і характер їх розвитку, пов'язані із динамікою регенеративних процесів.

Встановлений характер динаміки кожного показника залежно від стадії загоєння перелому. Динаміка вмісту кальцію, фосфору та активності лужної фосфатази може слугувати прогностичним критерієм процесів остеорепації травмованої кісткової тканини. Отримані дані можуть бути використані для контролю відновлення кісткової тканини після травми.

Ключові слова: РЕПАРАТИВНИЙ ОСТЕОГЕНЕЗ, КІСТКОВА МОЗОЛЬ, ПРОЦЕС ОСТЕОРЕПАЦІЇ, БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ, РЕНТГЕНІВСЬКИЙ ЗНІМОК, ЛУЖНА ФОСФОТАЗА, КАЛЬЦІЙ, ФОСФОР, КРОВ, ТРАВМА.

Найбільш поширеними та складними наслідками травм є переломи, серед яких за анатомо-топографічною локалізацією розрізняють переломи трубчастих кісток стегна, плеча, гомілки і передпліччя тощо, які складають близько 85 % від усіх травм організму [1]. Переломи чи будь-яка інша травма кісток, які призводять до порушення цілісності кісткової тканини, супроводжується ушкодженням кровоносних судин, м'язів, сухожилків, нервово-судинних пучків, суглобово-зв'язкового апарату [1].

Загоєння переломів є особливою формою запально-репаративного процесу, який характеризується диференціюванням клітин, їх проліферацією, ремодельованням новоутвореної кісткової тканини, формуванням органічного позаклітинного матриксу та його мінералізацією [2].

Оптимізація регенерації кістки після перелому – ключова проблема травматології та ортопедії. Водночас, науковці та практики значну увагу приділяють технічним питанням забезпечення умов сприятливого перебігу репаративного остеогенезу [3], тоді як патохімічна фаза цього процесу залишається недостатньо вивченою, що обмежує можливості об'єктивної його корекції.

Метаболізм у кістковій тканині характеризується двома різнонаправленими процесами: утворенням нової кісткової тканини та її резорбцією [4]. Фізіологічний баланс цих процесів зумовлює нормальний перебіг репаративної регенерації кістки [5]. Переважання синтезу або резорбції може призвести до розвитку дисрегулятивних процесів, що утруднює загоєння дефекту та призводить до збільшення собівартості лікування тварин з переломами [6].

На даний час є безліч методів контролю процесів регенерації кістки, хоча перевагу потрібно надавати неінвазивним методам [7]. Всі біохімічні реакції, які супроводжують процеси загоєння кісткового дефекту, опосередковані відповідними ферментами та гормонами і призводять до зсуву деяких констант крові. Тому біохімічні показники крові в комплексній

¹Науковий керівник – д. вет. н., професор, член-кореспондент НААН А. Й. Мазуркевич

оцінці характеру репаративної регенерації можуть слугувати маркерами перебігу цього патологічного процесу. Сучасні методи дослідження дозволяють одночасно контролювати до 10 біохімічних параметрів метаболізму кісткової тканини, які характеризують ступінь синтезу та резорбції кісткової тканини [8]. Проте найбільш доступними і показовими є контроль активності лужної фосфатази та вмісту кальцію і фосфору в крові тварин.

Мета роботи – провести комплексну оцінку змін вмісту кальцію і фосфору та активності лужної фосфатази в крові за різних термінів репаративної регенерації кістки.

Матеріали і методи. Експеримент був проведений на 5 самках кролів породи шиншила 4-місячного віку, вагою 3 кг., у відповідності до вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Закон України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (15.12.2009. Відомості ВР, 2010, №9).

З метою мінімізації рівня загального травматизму, ушкодження кісткової тканини моделювали в середній третині діафізу великогомілкових кісток, з медіальної поверхні шляхом нанесення дірчастого дефекту. Дефект наносили хірургічним свердлом діаметром 2,5 мм під загальним наркозом («Золетил» з розрахунку 0,05 мг/кг ваги тварини). В місці розрізу проводили анестезію 0,5 % розчином новокаїну. Оперативне поле розміром 2×2 см вибривали та дворазово обробляли 5 % розчином йоду (метод Філончикова). Всі процедури з операційного втручання проводили відповідно до вимог асептики та антисептики. Після формування дефекту операційну рану зашивали, тварин виводили з наркозу та утримували в стаціонарних умовах кафедри хірургії імені академіка І. О. Поваженка.

Кров для аналізів у кролів відбирали з яремної вени перед проведенням оперативного втручання та через 3, 7, 14, 21, 28 днів після нанесення травми. Вміст кальцію і фосфору визначали фотометричним методом з використанням комерційних наборів фірми «Філісит-Діагностика» (Україна). Активність лужної фосфатази (ЛФ) визначали кінетичним методом з р-нітрофенолфосфатом на біохімічному аналізаторі RT-9600.

Для підтвердження біохімічних результатів під час регенерації кістки на 3, 7, 14, 21, 28 добу, після формування дефекту проводили рентгенологічні дослідження апаратом «Вател-1».

Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 2007, із використанням критерію t° Стьюдента.

Результати й обговорення. У дослідних тварин у вихідному стані рівень біохімічних показників крові не виходив за межі фізіологічних параметрів: активність лужної фосфатази становила $90 \pm 6,52$ МЕ/л; вміст кальцію - $2,87 \pm 0,04$ ммоль/л, фосфору - $2,46 \pm 0,03$ ммоль/л. (табл.).

Таблиця

Біохімічні показники сироватки крові кролів при експериментальному травмуванні кістки ($M \pm m$, $n=5$)

Доби	Кальцій, ммоль/л	Фосфор, ммоль/л	Лужна фосфатаза, МЕ/л
Вихідний стан	$2,87 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,03$	$90 \pm 6,52$
3 доба	$2,46 \pm 0,05^{***}$	$2,54 \pm 0,03$	$130 \pm 7,02^{**}$
7 доба	$3,09 \pm 0,04^{**}$	$2,6 \pm 0,08$	$105 \pm 6,52$
14 доба	$3,64 \pm 0,03^{***}$	$2,1 \pm 0,05^{***}$	$331 \pm 25,06^{***}$
21 добу	$2,91 \pm 0,15$	$2,4 \pm 0,13$	$131 \pm 10,53^*$
28 добу	$3,31 \pm 0,04^{***}$	$2,0 \pm 0,08^{***}$	$138 \pm 1,01^{***}$

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Експериментальне ушкодження кісткової тканини у вигляді нанесення дірчастого дефекту великогомілкової кістки в середній третині діафізу супроводжується одночасним розривом окістя, переломом кісткових пластинок, розривом судин і нервів, травмою

кісткового мозку. Меншого ступеню пошкодження зазнають м'язова та сполучна тканини із своїм судинним та нервовим апаратом, які оточують кістку.

На 3 добу після нанесення травми динаміка біохімічних показників крові кролів характеризується зменшенням вмісту кальцію до $2,46 \pm 0,05$ ммоль/л порівняно з вихідним станом, що, очевидно, є наслідком втрати основного елемента кістки після нанесення дефекту.

Одночасно зростає активність лужної фосфатази з $90 \pm 6,52$ МЕ/л до $130 \pm 7,02$ МЕ/л. Як відомо, значна кількість ферменту зосереджена в цитоплазмі остеобластів та на їх поверхні, тому вірогідне значне зростання його активності можна пояснити руйнуванням остеобластів в зоні травми та елімінацією ферменту в кровоносне русло. Зареєстровано також вірогідне збільшення вмісту фосфору, що також є наслідком руйнування неорганічної складової кістки. Як видно на рентгенограмі із рис. 1, в зоні ушкодження кісткової тканини формується регенеративна мозоль.

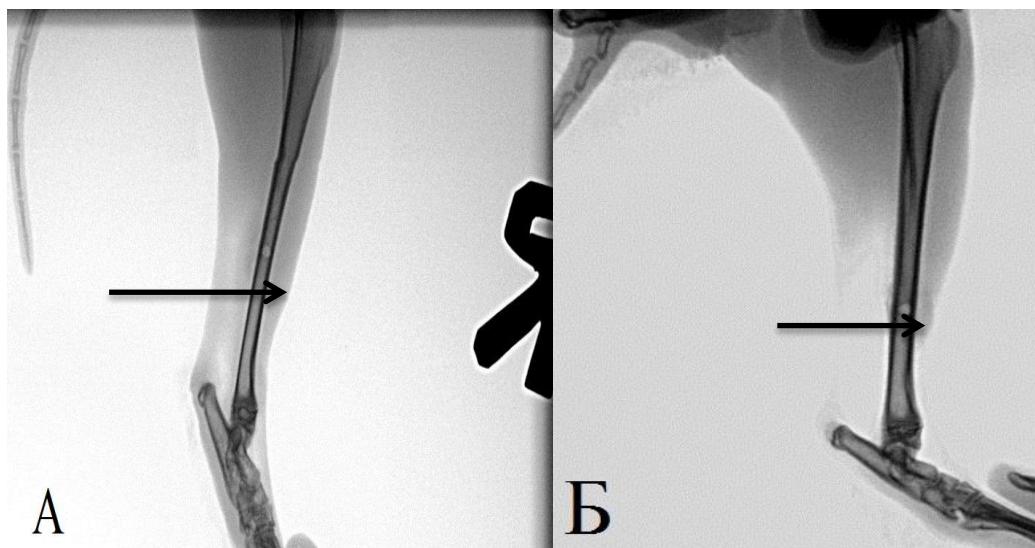


Рис. 1. Ділянка пошкодження кістки
А - 3 доба після нанесення травми; Б – 7 доба після нанесення травми

Через 7 діб після моделювання дефекту у тварин знижується рівень лужної фосфатази, до $105 \pm 6,52$ МЕ/л порівняно з вихідним станом, що є показником зменшення ділянки ушкодження і початком формування кісткового матриксу. Разом з тим вміст кальцію та фосфору перевищує показники попереднього терміну та становить відповідно $3,09 \pm 0,04$ ммоль/л і $2,6 \pm 0,08$ ммоль/л, що можна пояснити початком процесів кальцифікації матриксу регенерату та втратою даного елемента материнською кісткою (рис. 1).

На 14 добу відмічається максимальна активність лужної фосфатази у тварин, яка становить $331 \pm 25,06$ МЕ/л. Такі зміни свідчать про початок активного формування періостальної та ендостальної мозолі. Збільшенням вмісту кальцію до $3,64 \pm 0,03$ ммоль/л та зменшення фосфору до $2,1 \pm 0,05$ ммоль/л свідчить про активацію остеогенезу в травмованій кістці (рис. 2).

На 21 добу експерименту відбувається закінчення первинного формування новоутвореної кістки та формування проміжної і паросетальної мозолі (рис. 3).

Так, вміст фосфору приходить до норми і становить $2,4 \pm 0,13$ ммоль/л, активність лужної фосфатази різко знизився до $131 \pm 10,53$ МЕ/л, що свідчить про початок ремоделювання новоутвореного кісткового матриксу. Вміст кальцію знижується до $2,91 \pm 0,15$ ммоль/л, що пов'язано з перебудовою кісткової мозолі.

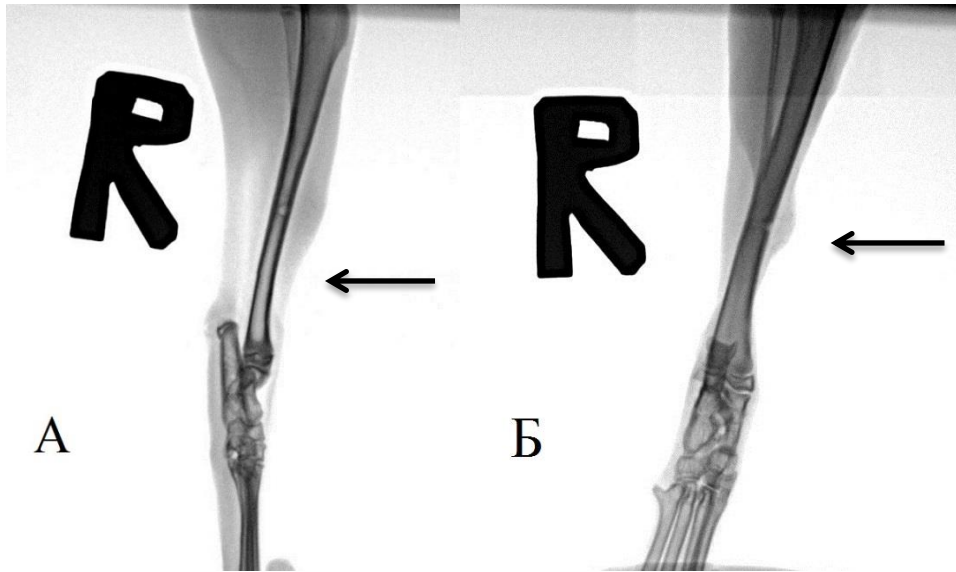


Рис. 2. Ділянка пошкодження кістки на 14 добу після нанесення травми
 А – медіальний знімок; Б – латеральний знімок

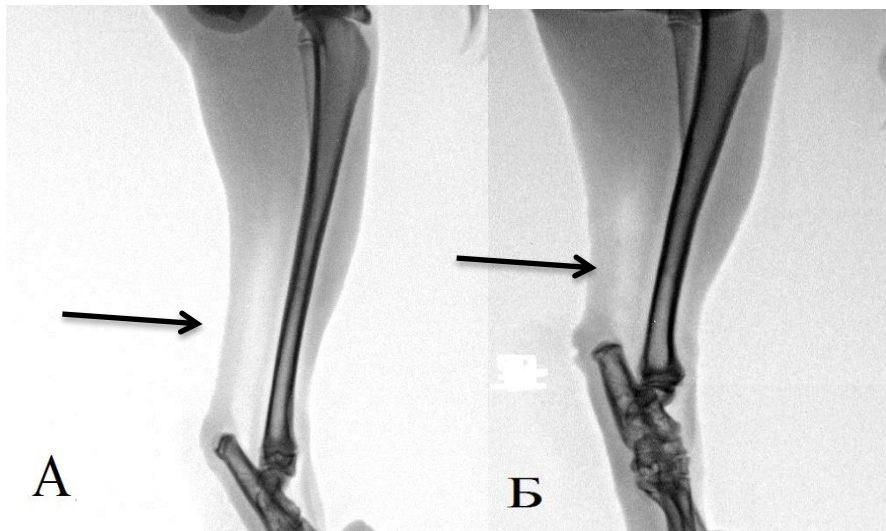


Рис. 3. Ділянка пошкодження кістки
 А - 21 доба після нанесення травми; Б – 28 доба після нанесення травми

Біохімічні показники крові і рентгенівські знімки на 28 добу після травми свідчать про припинення утворення органічного матриксу, відсутності резорбції кісткової тканини та інтенсивні процеси кісткоутворення та ремоделювання регенерату (рис. 3). Як видно із табл. 1, вміст фосфору знизився і становить $2,0 \pm 0,08$ ммоль/л, активність лужної фосфатази становить $138 \pm 1,01$ МЕ/л. Вміст кальцію становить $3,31 \pm 0,04$ ммоль/л, що свідчить про його мобілізацію і залучення для осифікації новоутвореного матриксу.

ВИСНОВКИ

1. Механічна травма призводить до вираженої реакції кісткової системи та організму в цілому, спрямованої на відновлення цілісності кісткової тканини.

2. Біохімічні показники метаболізму кісткової тканини – рівень кальцію, фосфору та активність лужної фосфатази є характерними для стадій репаративного остеогенезу і можуть бути прогностичними критеріями процесів остеорепації травмованої кісткової тканини.

3. Отримані експериментальні дані можна використовувати для аналізу процесів загоєння перелому в подальших експериментальних дослідженнях.

Перспективи досліджень. Планується дані біохімічних показників репаративного остеогенезу підтвердити гістологічними дослідженнями. Проаналізувати зміну біохімічних показників та гістологічних досліджень при веденні стовбурових клітин в травмовану кістку.

CHANGES IN BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD OF RABBITS AFTE EXPERIMENTAL DAMAGE OF THE BONE TISSUE

T. L. Savchuk

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
16, Polkovnika Potehina str., Kyiv, 03041, Ukraine

S U M M A R Y

The dynamics of blood biochemical parameters in rabbits with trauma caused by bone tissue. Analysis of dynamics of the content of alkaline phosphatase, calcium and phosphorus of blood in different terms of reparative osteogenesis and simultaneously made x-ray images of the damaged bone tissue confirms the pattern and character of development associated with the dynamics of regenerative processes.

The nature of the dynamics of each indicator depending on the stage of healing of the fracture. Dynamics of the content of calcium, phosphorus and alkaline phosphatase activity can serve as a prognostic criterion of the processes osteoreparative injured bone tissue. The obtained data can be used to monitor the recovery of bone tissue after injury.

Keywords: REPARATIVE OSTEOGENESIS, CALLUS, PROCESS
OSTEOREPARATIVE, BIOCHEMICAL PARAMETERS, X-RAY, ALKALINE
PHOSPHATASE, CALCIUM, PHOSPHORUS, BLOOD, INJURY.

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

T. L. Savchuk

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
ул. Полковника Потехина, 16, г. Киев, 03041, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

Исследована динамика биохимических показателей крови у кроликов с нанесенной травмой костной ткани. Анализ динамики содержания щелочной фосфатазы, кальция и фосфора крови в разные сроки репаративного остеогенеза и одновременно выполненных рентгеновских снимков поврежденной костной ткани подтверждает закономерность и характер их развития, связанные с динамикой регенеративных процессов.

Установлен характер динамики каждого показателя в зависимости от стадии заживления перелома. Динамика содержания кальция, фосфора и активности щелочной фосфатазы может служить прогностическим критерием процессов остеорепаляции

травмированной костной ткани. Полученные данные могут быть использованы для контроля восстановления костной ткани после травмы.

Ключевые слова: РЕПАРАТИВНЫЙ ОСТЕОГЕНЕЗ, КОСТНАЯ МОЗОЛЬ, ПРОЦЕСС ОСТЕОРЕПАРАЦИИ, БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ, РЕНТГЕНОВСКИЙ СНИМОК, ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФОТАЗА, КАЛЬЦИЙ, ФОСФОР, КРОВЬ, ТРАВМА.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Петренко О.* Особливості переломів кісток у домашніх тварин / О. Петренко // Ветеринарна медицина України. – 2002. – № 5. – С. 16–17.
2. *Кирилова И. А.* Костная ткань как основа остеопластических материалов для восстановления костной структуры / И. А. Кирилова // Хирургия позвоночника – 2011. – № 1. – С. 68-74.
3. *Appan, S.* Management of diaphyseal humeral fracture using plate rod technique in a dog / S. Appan, M. Shiju Simon, B. C. Das, A. Arun Pra sad, R. Suresh kumar // Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sciences – 2011.–№ 7 (1). P. 35–38.
4. *Valimaki M. J., Tantela R., Jones J. D., Peterson J. M.* «Bone resorption in healthy and osteoporotic postmenopausal women: comparison markers for serum carboxy-terminal telopeptide of type I collagen and urinary pyridinium cross-links» //EurJ Endocrinol 1994. – V. 131. – P. 258–262.
5. *Рибачук О. І., Калашніков А. В., Торчинський В. П.* та ін. Причини виникнення ускладненого перебігу репаративного остеогенезу після переломів кісток кінцівок//Мат. Пленуму. Ортопед-травматологів України.– Одеса, 1998. – С. 357-359.
6. *Bettica P., Mogo L.* «Biochemical markers of bone metabolism in the assessment of osteoporosis» / 7JIFCC 1995. – V. 7, issue 1. – P. 16–22.
7. *Корж Н.А., Дедух Н.В.* Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации// Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 76–84.
8. *Withold W., Degenhardt S., Castelh D., Hems M.* «Monitoring of osteoblast activity with an immunoradiometric assay for determination of bone alkaline phosphatase mass concentration in patients receiving renal transplantats» // ClinicaChimicaActa 1994. – V. 225. – P. 137–146.

Рецензент – М. О. Малюк, д. вет. н., доцент, НУБіП України.