

Радченко В.А., Палкин А.В., Колесниченко В.А., Морозенко Д.В.
ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины», г. Харьков, Украина

Биохимические маркеры сыворотки крови у кроликов после поясничного экспериментального заднебокового спондилодеза с использованием аутологичного фибрина, обогащенного тромбоцитами

Резюме. Актуальность. Исследование биохимических маркеров сыворотки крови позволяет косвенно оценить активность процесса репаративной регенерации костной ткани. **Цель** исследования — изучить маркеры минерального обмена и показатели обмена соединительной ткани в сыворотке крови кроликов после поясничного экспериментального заднебокового спондилодеза с использованием различных костно-пластических материалов. **Материалы и методы.** Поясничный моносегментарный заднебоковой спондилодез выполнен 42 половозрелым самцам калифорнийских кроликов в возрасте 4–5 мес., которые были разделены на 6 групп (по 7 особей в каждой). В контрольной группе 1 трансплантаты не применялись; использовали: группа 2 — местные аутоотрансплантаты, группа 3 — местные аутоотрансплантаты в сочетании с PRF, группа 4 — аллотрансплантаты из крыла подвздошной кости, группа 5 — аллотрансплантаты из крыла подвздошной кости в сочетании с PRF, группа 6 — PRF. Биохимические маркеры (общий белок, гликопротеины, хондроитинсульфаты, β -липопротеины, активность щелочной фосфатазы, общий кальций, фосфор) исследовали дважды: для получения нормативных показателей у интактных животных — за 5–7 дней до операции (группа $H_{инт}$) и перед выведением кроликов из эксперимента через 8 недель после спондилодеза. **Результаты.** Содержание общего белка, кальция и фосфора оказалось в пределах физиологической нормы для данного вида животных; уровень гликопротеинов, хондроитинсульфатов, β -липопротеинов, активность щелочной фосфатазы были повышены в разной степени во всех экспериментальных группах. **Выводы.** С уровнем исследованных биохимических маркеров в сыворотке крови кроликов из интактной группы наиболее сходными оказались результаты групп с использованием костных алло- и местных аутоотрансплантатов в сочетании с PRF; наибольшие отличия выявлены в контрольной группе, где была выполнена декорткация поперечных отростков без использования костно-пластического материала. **Ключевые слова:** экспериментальный поясничный моносегментарный заднебоковой спондилодез; кролики; местные аутоотрансплантаты; аллотрансплантаты; аутологичный фибрин, обогащенный тромбоцитами; биохимические исследования

Введение

В модели экспериментального поясничного межпоперечного спондилодеза у кроликов, впервые разработанной S.D. Voden et al. в 1994 году [1], в качестве костно-пластического материала использовались аутоотрансплантаты из гребня подвздошной кости. Частота состоявшегося спондилодеза в данной модели и в клинике имела сходные показатели [2].

В настоящее время частота костного сращения в модели заднебокового спондилодеза у кроликов варьирует от 42 до 73 % [3]. Такой широкий диапазон успешных результатов спондилодеза можно объяснить как различными экспериментальными условиями (количество трансплантируемого биоматериала и методы оценки костного сращения [4]), так и биологическими свойствами используемых трансплантатов [5].

© «Травма» / «Trauma» / «Trauma» («Trauma»), 2018

© Видавель Заславський О.Ю. / Издатель Заславский А.Ю. / Publisher Zaslavsky O.Yu., 2018

Для корреспонденции: Колесниченко Вера Анатольевна, доктор медицинских наук, заведующая отделом научно-медицинской информации, ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины», ул. Пушкинская, 80, г. Харьков, 61024, Украина; e-mail: veakol@rambler.ru; тел.: +38 (066) 141-89-91

For correspondence: Vera Kolesnichenko, MD, PhD, Head of the Department of the Scientific-Medical Information, Institution "Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine", Pushkinskaya st., 80, Kharkiv, 61024, Ukraine; e-mail: veakol@rambler.ru; phone: +38 (066) 141-89-91

Скорость формирования зрелых спондилодезных масс связана с активностью репаративной регенерации костной ткани, которая, в свою очередь, в значительной степени определяется наличием остеогенных, и/или остеоиндуктивных, и/или остеокондуктивных свойств используемого костно-пластического материала [6]. Одним из косвенных методов определения активности репаративного процесса *in vivo* является биохимический.

Целью данного исследования стало изучение маркеров минерального обмена и обмена соединительной ткани в сыворотке крови кроликов после пояснично-грудного экспериментального заднебокового спондилодеза с использованием различных костно-пластических материалов.

Материалы и методы

Экспериментальное моделирование поясничного межпозвоночного спондилодеза выполнено 42 половозрелым самцам белых калифорнийских кроликов в возрасте 4–5 мес., которые в зависимости от используемого костно-пластического материала были разделены методом случайной выборки на 6 групп (по 7 особей в каждой). В контрольной группе (группа 1) трансплантаты не применялись; в остальных группах использовали: группа 2 — местные ауто трансплантаты, группа 3 — местные ауто трансплантаты в сочетании с PRF, группа 4 — аллотрансплантаты из крыла подвздошной кости, группа 5 — аллотрансплантаты из крыла подвздошной кости в сочетании с PRF, группа 6 — PRF.

PRF получали непосредственно перед операцией путем забора крови из ушной вены кролика в количестве 7,0 мл, помещая ее в пробирку без коагулянта и немедленного центрифугирования со скоростью 3000 оборотов в 1 минуту (приблизительно 400 g) в течение 10 минут. Полученные 3,0 мл аутологичного фибрина, обогащенного тромбоцитами, делились на 2 порции по 1,5 мл для выполнения двустороннего межпозвоночного спондилодеза.

Местные костные ауто трансплантаты представляли собой фрагменты резецированных интраоперационно остистых отростков L₄ и L₅ позвонков (на уровне спондилодеза).

Лиофилизированные аллотрансплантаты, полученные из гребня подвздошной кости кроликов, выведенных из эксперимента, подготовлены на базе отделения трансплантологии ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины», зарегистрированного Минздравом Украины.

Забор крови для биохимических исследований производили из ушной вены экспериментальных животных в количестве 5,0 мл согласно протоколу стандартной операционной процедуры № 1 отделения патологии позвоночника, утвержденной на заседании ученого совета ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины» (протокол № 9 от 5.07.2017). Биохимические исследова-

ния выполняли дважды: для получения нормативных показателей у интактных животных — за 5–7 дней до операции (группа Н_{инт}) и перед выведением кроликов из эксперимента через 8 недель после межпозвоночного спондилодеза.

Эксперименты на кроликах были проведены на базе аттестованной лаборатории экспериментального моделирования ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины» с соблюдением требований Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986) [7], касающихся гуманного отношения к подопытным животным. Эвтаназия животных осуществлялась через 8 недель после операции путем передозировки тиопената с соблюдением всех правил гуманного отношения к животным.

Биохимические исследования проводились на базе отдела лабораторной диагностики и иммунологии ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины» (свидетельство об аттестации № 100-287/2015 от 20.11.2015). В сыворотке крови животных определяли: общий белок — биуретовым методом, гликопротеины — по Штейнбергу — Доенко, хондроитинсульфаты — по Németh-Csóka в модификации Л.И. Слуцкого, активность щелочной фосфатазы — кинетическим методом, общий кальций — спектрофотометрически, β-липопротеины — по Бурштейну и Самай, фосфор — восстановлением фосфомолибденовой кислоты [8–10].

При статистическом анализе использовали программные пакеты Microsoft Excel XP и Statsoft Statistica v.10. Сравнение групп лабораторных животных проводили с использованием Т-критерия Вилкоксона с определением медианы (Me) и процентилей (25% и 75%), t-критерия Стьюдента с уровнем достоверности $p < 0,05$ [11].

Экспериментальное моделирование поясничного моноsegmentарного межпозвоночного спондилодеза с использованием ауто-, аллотрансплантатов и аутологичного фибрина, обогащенного тромбоцитами, у кроликов одобрено Комитетом по биоэтике при ГУ «Институт патологии позвоночника и суставов имени профессора М.И. Ситенко Национальной академии медицинских наук Украины» (протокол № 151 от 18.01.2016).

Результаты

Анализ результатов биохимических исследований выявил повышение уровня большинства изученных маркеров сыворотки крови кроликов через 8 недель после моноsegmentарного межпозвоночного спондилодеза с использованием различных костно-пластических материалов во всех экспериментальных группах. В то же время содержание общего белка, кальция и фосфора в сыворотке крови кроликов в среднем сохранялось в пределах физиологической нормы для живот-

ных этого вида (в норме в сыворотке крови кроликов уровень общего белка составляет 54–75 г/л, концентрация кальция достигает 1,46–3,60 ммоль/л, содержание фосфора — 0,6–2,7 ммоль/л [12]).

Наиболее выраженное увеличение содержания фосфора в сыворотке крови наблюдалось у животных в контрольной группе 1 (декортикация поперечных отростков $L_{IV}-L_V$), превышая показатели интактной группы на 53,8 % ($2,06 \pm 0,28$ и $1,26 \pm 0,14$ ммоль/л соответственно). Интересно, что в группе 1 отмечалась и самая низкая концентрация кальция в сыворотке крови ($1,67 \pm 0,14$ ммоль/л), приближавшаяся к нижней границе нормы (табл. 1, рис. 1а).

В группах 2 (применение местных ауто трансплантатов), 4 (использование аллотрансплантатов из гребня подвздошной кости) и 6 (применение PRF) также выявлено повышение уровня фосфора в сыворотке крови кроликов до $1,83 \pm 0,16$, $1,86 \pm 0,04$ и $1,86 \pm 0,04$ ммоль/л соответственно. Эти результаты превышали данные интактной группы на 38,5 %. Менее всего отличалась от показателей группы $H_{инт}$ концентрация фосфора в сыворотке крови экспериментальных животных из групп 3 ($2,55 \pm 0,09$ ммоль/л) и 5 ($2,34 \pm 0,14$ ммоль/л), в которых в качестве костно-пластического материала использовали сочетание костных трансплантатов и аутологичного фибрина, обогащенного тромбоцитами. Уровень фосфора в сыворотке крови кроликов в группах 3 и 5 был увеличен на 15,4 и 13,8 % соответственно по сравнению с показателями интактной группы (табл. 1, рис. 1а).

Для минерализации костной ткани необходимо поддержание определенных концентраций ионов кальция и фосфора в плазме крови и межклеточной жидкости. Уровень ионов кальция в плазме регулируется с высокой точностью: уже при изменении их концентрации на 1 % включаются механизмы гомеостаза с участием паратгормона, кальцитонина и кальцитриола [13]. Со-

хранение практически постоянного, с незначительными колебаниями, уровня этих ионов в плазме крови достигается взаимной сбалансированностью процессов депонирования кальция и фосфора в костной ткани и их абсорбции/экскреции в кишечнике и почках [14].

Процесс минерализации костной ткани инициируется в пересыщенном растворе фосфатов кальция в везикулах экстрацеллюлярного матрикса, которые формируются на поверхностной мембране гипертрофированных остеоцитов и хондроцитов [15]. Однако предельная концентрация ионов, ниже которой кальций-фосфорные соли не фиксируются на органическом матриксе, до настоящего времени не установлена, так как состав минеральной фазы кости непостоянен, и на скорость минерализации могут влиять другие неорганические ионы [16]. Так, в присутствии ионов фтора ускоряется образование кристаллов гидроксиапатита из аморфного фосфата кальция [17].

По мере минерализации костной ткани увеличивается молярное отношение кальций/фосфор, которое в солях фосфата кальция (на начальных этапах минерализации) является относительно низким — около 1,2 [16]. В связи с этим определенным интересом представляет величина аналогичного отношения на нашем экспериментальном материале. Практически идентичными оказались средние показатели отношения кальций/фосфор в сыворотке крови интактной группы животных и в группе 3 (1,71 и 1,69 соответственно); несколько ниже — в группе 5 (1,58), а также в группах 2, 4 и 6 (1,30, 1,25 и 1,31 соответственно). Минимальное среднее отношение кальций/фосфор, не превышавшее 0,97, зарегистрировано в группе 1.

Обсуждение

Полученные данные могут косвенно отражать степень минерализации спондилеозных масс у оперированных животных. Близкие результаты в группах

Таблица 1. Содержание биохимических маркеров минерального обмена и обмена соединительной ткани в сыворотке крови кроликов из интактной и экспериментальных групп

Показатель	Группа $H_{инт}$	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5	Группа 6
Кальций, ммоль/л	$2,21 \pm 0,08$	$1,67 \pm 0,14$	$2,38 \pm 0,14$	$2,55 \pm 0,09$	$2,18 \pm 0,13$	$2,34 \pm 0,14$	$2,47 \pm 0,11$
Фосфор, ммоль/л	$1,26 \pm 0,14$	$2,06 \pm 0,28$	$1,83 \pm 0,16$	$1,51 \pm 0,04$	$1,86 \pm 0,04$	$1,48 \pm 0,07$	$1,88 \pm 0,03$
Общий белок, г/л	$62,74 \pm 1,83$	$58,04 \pm 2,41$	$67,32 \pm 5,70$	$68,93 \pm 2,66$	$58,04 \pm 2,41$	$69,63 \pm 9,62$	$65,80 \pm 3,91$
Гликопротеины, ммоль/л	$0,51 \pm 0,07$	$1,32 \pm 0,16$	$1,24 \pm 0,11$	$1,05 \pm 0,08$	$1,18 \pm 0,06$	$1,07 \pm 0,04$	$1,15 \pm 0,04$
Хондроитинсульфаты, г/л	$0,102 \pm 0,040$	$0,365 \pm 0,080$	$0,253 \pm 0,040$	$0,204 \pm 0,020$	$0,287 \pm 0,060$	$0,163 \pm 0,070$	$0,308 \pm 0,050$
β -липопротеины, ммоль/л	$4,42 \pm 0,80$	$11,05 \pm 1,14$	$9,75 \pm 1,16$	$4,65 \pm 1,12$	$6,32 \pm 0,83$	$4,24 \pm 0,96$	$10,07 \pm 1,19$
Щелочная фосфатаза, ед/л	$189,41 \pm 23,15$	$467,38 \pm 19,17$	$281,64 \pm 14,12$	$236,24 \pm 21,46$	$244,03 \pm 25,61$	$237,52 \pm 38,50$	$279,18 \pm 11,07$

$H_{\text{инт}}$, 3 и 5 косвенно свидетельствуют о формировании практически зрелой минеральной фазы новообразованной костной ткани в зоне спондилодеза при использовании в качестве костно-пластического материала костных ауто- и аллотрансплантатов в сочетании с PRF. Показатели отношения кальций/фосфор в случаях применения у кроликов костной ауто- и аллопластики при моносегментарном межпоперечном спондилодезе (группы 2 и 4 соответственно) либо только аутологичного фибрина, обогащенного тромбоцитами (группа 6), косвенно указывают на продолжающийся процесс минерализации спондилодезных масс. Низкая средняя величина отношения кальций/фосфор в контрольной группе 1 (декортикация поперечных отростков без использования костно-пластического материала) косвенно отражает начальные стадии минерализации в зоне формирующегося костного сращения.

Начальные стадии процесса минерализации костной ткани связаны с активацией неспецифического изофермента щелочной фосфатазы, которая расщеп-

ляет органические фосфорсодержащие соединения, увеличивая локальную концентрацию ионов фосфора в везикулах экстрацеллюлярного матрикса до точки насыщения [18]. Щелочная фосфатаза, синтезируемая остеобластами, является маркером последних, и ее концентрация в клетках костной ткани коррелирует с их потенциалом минерализации [5], а содержание в плазме крови является информативным показателем костного ремоделирования [15, 18].

На нашем материале максимальная активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови, которая в 2,2 раза превышала уровень фермента в интактной группе, была выявлена в контрольной группе 1 ($189,41 \pm 23,15$ ед/л в группе $H_{\text{инт}}$ и $467,38 \pm 19,17$ ед/л в группе 1; $p < 0,05$). В группах животных 3 и 5 активность щелочной фосфатазы оказалась существенно ниже, превышая на 35,7 и 54,4 % соответственно показатели интактной группы. В группах кроликов 2, 4 и 6 активность фермента была повышена на 95,9; 76,6 и 75,4 % соответственно по сравнению с аналогичными величинами в интактной группе (табл. 1, рис. 1б).

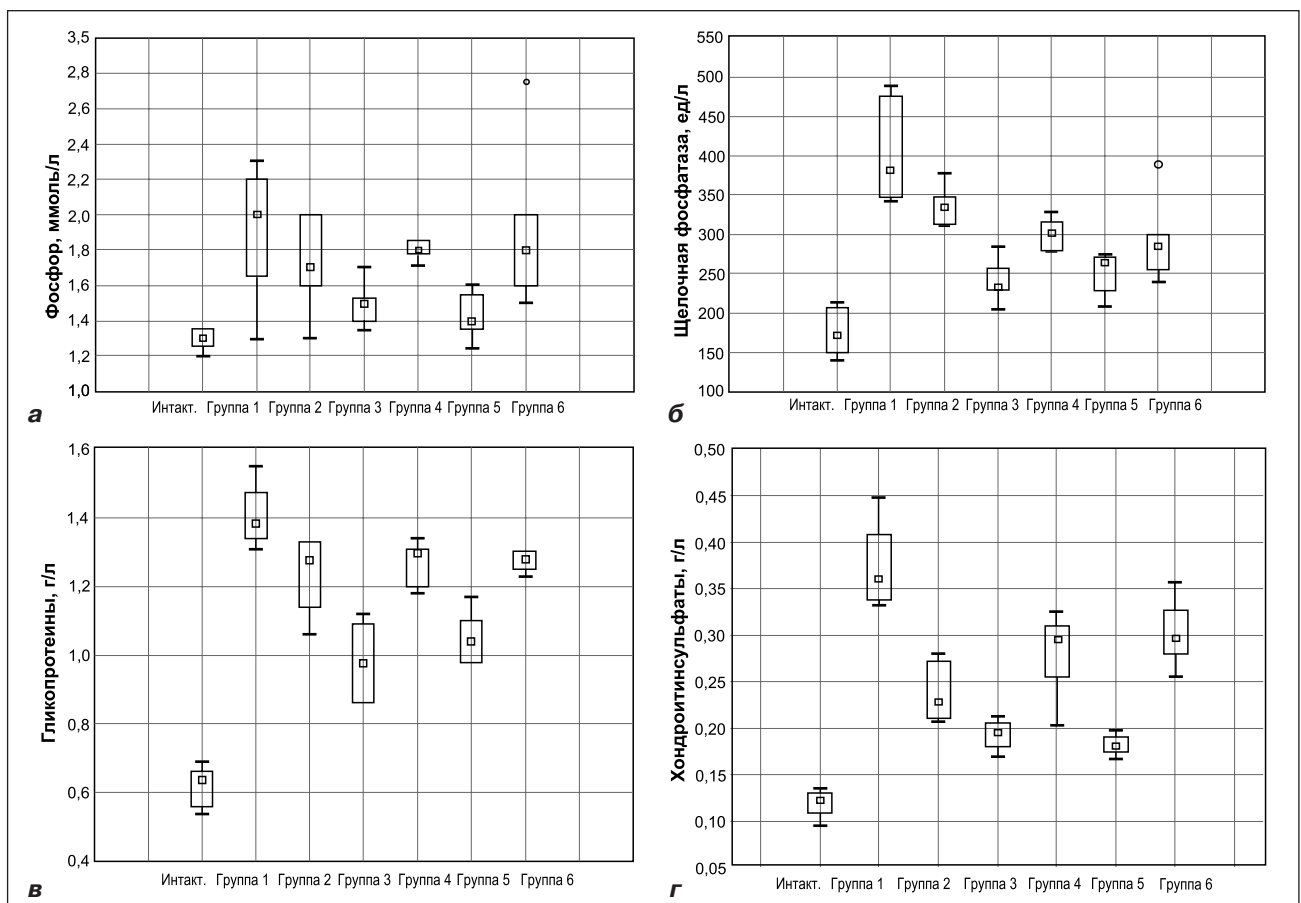


Рисунок 1. Уровень фосфора (а), активности щелочной фосфатазы (б), гликопротеинов (в) и хондроитинсульфатов (г) в сыворотке крови кроликов через 8 недель после моносегментарного заднебокового поясничного спондилодеза: группа 1 — декортикация поперечных отростков L_{IV} – L_V позвонков без использования костно-пластического материала; в остальных группах применяли: группа 2 — местные костные ауто-трансплантаты; группа 3 — местные костные ауто-трансплантаты в сочетании с PRF; группа 4 — костные алло-трансплантаты; группа 5 — костные алло-трансплантаты в сочетании с PRF; группа 6 — PRF

Значимое повышение уровня щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных из группы 1 может свидетельствовать о достаточно выраженной биосинтетической функции данного фермента и, соответственно, высокой активности репаративного остеогенеза в зоне оперированных поясничных сегментов. В остальных экспериментальных группах процессы костного сращения в зоне спондилодезных масс протекали менее интенсивно, особенно в группах с сочетанным использованием костных трансплантатов и PRF.

Во всех экспериментальных группах наблюдалось также повышение концентрации сложных белков в плазме крови. Наиболее существенным изменение уровня гликопротеинов, хондроитинсульфатов и β -липопротеинов по сравнению с показателями интактной группы оказалось в группах 1, 2, 4 и 6. Так, в группе 1 содержание гликопротеинов превышало показатели $N_{\text{инт}}$ в 2,2 раза ($p < 0,05$), в группах 2, 4 и 6 — в 2 раза (табл. 1, рис. 1в). Концентрация хондроитинсульфатов оказалась увеличенной в группе 1 в 3 раза ($p < 0,01$), в группе 2 — в 2,2 раза ($p < 0,05$), в группах 4 и 6 — в 2,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с показателями интактной группы (табл. 1, рис. 1г). Уровень β -липопротеинов был выше показателей $N_{\text{инт}}$ в 2,5 раза в группе 1 ($p < 0,05$) и в 2,3 раза — в группах 2 и 6 ($p < 0,05$). В группах 3 и 5 изменения указанных биохимических маркеров обмена соединительной ткани были существенно ниже. Содержание гликопротеинов в этих группах превышало показатели интактной группы на 53,1 и 62,5 % соответственно; концентрация хондроитинсульфатов — на 59,8 и 47,5 % соответственно, а уровень β -липопротеинов был идентичен показателям $N_{\text{инт}}$ ($4,42 \pm 0,80$ ммоль/л в группе $N_{\text{инт}}$; $4,65 \pm 1,12$ ммоль/л в группе 3 и $4,24 \pm 0,96$ ммоль/л в группе 5) (табл. 1, рис. 1в, г).

Сложные белки в процессе репаративного остеогенеза играют значительную роль, которая окончательно не установлена. Гликаны и фибриллы коллагена, синтезируемые остеобластами, обеспечивают непрерывный рост кристаллов гидроксиапатита и выступают в качестве посредников при связывании минеральных кристаллов с органическим матриксом. В зоне кальцификации при участии лизосомных протеиназ происходит деградация протеогликанов, связанных с коллагеном I типа. Высвобождающиеся фрагменты протеогликанов, заряженные отрицательно, связывают ионы кальция [19]. Некоторое число ионов кальция и фосфатов образуют пары и триплеты, которые связываются с коллагеновыми и неколлагеновыми белками, формирующими матрикс, с образованием кластеров или ядер надмолекулярного матрикса костной ткани [20].

Кристаллизация гидроксиапатита сопровождается снижением уровня протеогликанов и воды в органическом матриксе костной ткани [21] и изменением состава гликозаминогликанов: сульфатированные соединения уступают место несulfатированным [22].

Гликопротеины усиливают структурную организацию экстрацеллюлярного матрикса костной тка-

ни, обеспечивая устойчивость белков и регуляцию их функции [19]. Протеогликаны формируют тканевую структуру, сохраняют пористость и целостность органического матрикса соединительной ткани, повышают растяжимость коллагеновой сети [21].

Хондроитинсульфаты соединительной ткани принимают участие в минерализации костной ткани путем инициирования фиксации серы в процессе синтеза хондроитинсерной кислоты и, таким образом, способствуют депонированию кальция в костной ткани [23]. Они способны поддерживать остеогенную дифференциацию путем повышения эффективности костного анаболического фактора роста [24].

Хондроитинсульфаты участвуют и в формировании коллагеновых волокон. Микрофибриллы коллагена связываются олигосахарами гликопротеинов, создавая укрупненные фибриллы, которые затем с помощью цепей гликозаминогликанов, входящих в состав протеогликанов, объединяются в волокна различной толщины [25]. Необходимо отметить, что существует четкое соответствие между интенсивностью обмена гликозаминогликанов и коллагена: максимальная интенсивность их метаболизма наблюдается в том числе в период формирования тканевых структур [21, 22].

В костном матриксе присутствуют и липиды, которые могут играть существенную роль в образовании ядер кристаллизации при минерализации кости [26]. Бета-липопротеины плазмы крови включают липопротеины низкой плотности и липопротеины очень низкой плотности. Первые транспортируют жирные кислоты, участвующие в синтезе аденозинтрифосфата; вторые переносят жирные кислоты — предшественники построения клеточных мембран и синтеза биологически активных эйкозаноидов [27].

Существенное увеличение концентрации гликопротеинов, хондроитинсульфатов и β -липопротеинов в сыворотке кроликов из групп 1, 2, 4 и 6 косвенно свидетельствует об активном формировании органического матрикса костной ткани в зоне спондилодеза у этих животных. Уровень сложных белков в сыворотке крови экспериментальных животных в группах 3 и 5 косвенно отражал активность процесса создания межклеточного вещества костной ткани, близкую к физиологической норме.

Таким образом, исследованные маркеры минерального обмена и обмена соединительной ткани косвенно характеризуют новообразованные спондилодезные массы как наиболее зрелые при использовании костных алло- или местных ауто трансплантатов в сочетании с аутологичным фибрином, обогащенным тромбоцитами. В случаях изолированного использования костных алло- или местных ауто трансплантатов, а также аутологичного фибрина, обогащенного тромбоцитами, можно говорить об активном процессе репаративного остеогенеза с формированием органического матрикса и минеральной фазы костной ткани. У животных, которым была выполнена декорткация поперечных отростков без применения костно-пластического материала, концентрация ис-

следованных показателей косвенно отражала активное создание межклеточного вещества с начальными стадиями процесса минерализации в зоне костного сращения.

Выводы

1. Концентрация ионов кальция и фосфора и их соотношение выявились наиболее сходными в сыворотке крови кроликов из интактной группы, а также групп с использованием костных алло- и местных аутотрансплантатов в сочетании с PRF. Наибольшие отличия исследованных маркеров минерального обмена от показателей интактной группы наблюдались у экспериментальных животных контрольной группы, где была выполнена декортикация поперечных отростков без использования костно-пластического материала.

2. Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови всех групп экспериментальных животных превышала результаты интактной группы, причем в контрольной группе кроликов различия между показателями оказались значимыми ($p < 0,05$).

3. Содержание в сыворотке крови сложных белков было повышено во всех группах экспериментальных животных по сравнению с показателями интактной группы; значимыми выявились различия в контрольной группе (для уровня гликопротеинов $p < 0,05$, хондроитинсульфатов — $p < 0,001$, β -липопротеинов — $p < 0,001$), в группе с использованием при спондилодезе в качестве костно-пластического материала PRF (для уровня хондроитинсульфатов $p < 0,05$, β -липопротеинов — $p < 0,05$), в группе с применением местных костных аутотрансплантатов (для уровня β -липопротеинов $p < 0,05$) и в группе с использованием костных аллотрансплантатов (для уровня хондроитинсульфатов $p < 0,05$).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии какого-либо конфликта интересов при подготовке данной статьи.

Список литературы

1. Schimandle J.H. Spine update. The use of animal models to study spinal fusion / J.H. Schimandle, S.D. Boden // *Spine (Phila Pa 1976)*. — 1994. — Vol. 19. — P. 1998-2006.
2. Ghodasra J.H. Factors influencing arthrodesis rates in a rabbit posterolateral spine model with iliac crest autograft / J.H. Ghodasra, E.L. Daley, E.L. Hsu, W.K. Hsu // *Eur. Spine J.* — 2014. — Vol. 23. — P. 426-434. — doi: 10.1007/s00586-013-3074-0.
3. Reliability of the rabbit postero-lateral spinal fusion model: A meta-analysis / A.M. Riordan, R. Rangarajan, J.W. Balts [et al.] // *J. Orthop. Res.* — 2013. — Vol. 8. — P. 1261-1269. — doi: 10.1002/jor.22359.
4. Zunariah B. Posterolateral intertransverse lumbar arthrodesis in the New Zealand white rabbit model: The illustration of an alternative surgical approach / B. Zunariah, Z. Zamzuri, C.S. Che Nor Zarida, A.J. Rosnani // *IMJM.* — 2012. — Vol. 11. — P. 19-22.

5. A systematic review of comparative studies on bone graft alternatives for common spine fusion procedure / C.R. Fischer, R. Cassilly, W. Cantor [et al.] // *Eur. Spine J.* — 2013. — Vol. 22. — P. 1423-1435. — doi: 10.1007/s00586-013-2718-4.

6. Evaluation of autologous platelet concentrate for intertransverse lumbar fusion / G. Acebal-Cortina, M.A. Suarez-Suarez, C. Garcia-Menendez // *Eur. Spine J.* — 2011. — Vol. 20 (Suppl. 3). — P. S361-S366. — doi: 10.1007/s00586-011-1904-5.

7. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. — Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — Офіційний веб-сайт. (Міжнародний документ Ради Європи). — Режим доступу до документу: електронний ресурс: [http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cginreg=994_137].

8. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник: В 2 т. Т. 1. — 2-е изд. / В.С. Камышников. — Минск: Интерпрессервис, 2003. — 495 с.

9. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник: В 2 т. Т. 2. — 2-е изд. / В.С. Камышников. — Минск: Интерпрессервис, 2003. — 463 с.

10. Морозенко Д.В. Методи дослідження маркерів метаболізму сполучної тканини у сучасній клінічній та експериментальній медицині / Д.В. Морозенко, Ф.С. Леонтюса // *Молодий вчений: науковий журнал.* — 2016. — № 2(29). — С. 168-172.

11. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. / С. Гланц. — М.: Практика, 1998. — 459 с.

12. Ewringmann A. Leitsymptome beim Kaninchen: Diagnostischer Leitfaden und Therapie. — 3 Auflage. — Enke: Stuttgart, 2016. — 279 p.

13. Calcium intake, bone mineral density, and fragility fractures: evidence from an Italian outpatient population / L.Vannucci, L. Masi, G. Gronchi [et al.] // *Arch. Osteoporos.* — 2017. — Vol. 12. — P. 40. — doi: 10.1007/s11657-017-0333-4.

14. Burckhardt P. Calcium revisited: part I / P. Burckhardt // *Bone Key Rep.* — 2013. — Vol. 2. — P. 433. — doi: 10.1038/bonekey.2013.167.

15. Millán J.L. The role of phosphatases in the initiation of skeletal mineralization / J.L. Millán // *Calcif. Tissue Int.* — 2013. — Vol. 93(4). — P. 299-306. — doi: 10.1007/s00223-012-9672-8.

16. Harrison's Principles of Internal Medicine / J.L. Jameson, A.S. Fauci, D.L. Kasper [et al.]. — 20th edition. — Vol. 2. — S & P Global Inc.: New York, 2016. — P. 1512-2607.

17. Bone formation controlled by biologically relevant inorganic ions: role and controlled delivery from phosphate-based glasses / N.J. Lakhkar, I.H. Lee, H.W. Kim [et al.] // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* — 2013. — Vol. 65(4). — P. 405-420. — doi: 10.1589/jpts.27.2261.

18. Sharma U. Alkaline phosphatase: An overview / U. Sharma, D. Pal, R. Prasad // *Ind. J. Clin. Biochem.* — 2014. — Vol. 29(3). — P. 269-278. — doi: 10.1007/s12291-013-0408-y.

19. Wittmann V. Glycoproteins: Properties. In: *Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology*, 2th ed. / Ed. by Fra-

ser-Reid B.O., Tatsuta K., Thiem J., Wittmann V. — Berlin: Springer, 2008. — P. 1771-1793. — doi: 10-1007/978-3-540-30429-6.

20. Bone biomaterials and interactions with stem cells / C. Gao, S. Peng, P. Feng, C. Shuai // *Bone Res.* — 2017. — Vol. 5. — P. 150-159. — doi: 10.1038/boneres.2017.59.

21. Bio-orthopaedics. A New Approach / A. Gobbi, J. Espreguerira-Mendes, J.G. Lane, M. Karahan. — Berlin: Springer, 2017. — 687 p. — doi: 10.1007/978-3-662-54181-4.

22. Kitagawa H. Biosynthetic mechanism of the bioactive sulfated glycosaminoglycans / H. Kitagawa // *Yakugaku Zasshi.* — 2002. — Vol. 122(7). — P. 435-450. — doi: 10.1248/yakushi.122.435.

23. Klüppel M. The roles of chondroitin-4-sulfotransferase-1 in development and disease / M. Klüppel // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* — 2010. — Vol. 93. — P. 113-132. — doi: 10.1016/S1877-1173(10)93006-8.

24. Kwon H.J. Chondroitin sulfate-based biomaterials for tissue engineering. Review article / H.J. Kwon, Y. Han // *Turk. J. Biol.* — 2016. — Vol. 40. — P. 290-299. — doi:10.3906/biy-1507-16.

25. Mikami T. Biosynthesis and function of chondroitin sulfate / T. Mikami, H. Kitagawa // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2013. — Vol. 1830(10). — P. 4719-4733. — doi: 10.1016/j.bbagen.2013.06.006.

26. Hoover-Plow J. Lipoprotein(a) metabolism: potential sites for therapeutic targets / J. Hoover-Plow, M. Huang // *Metabolism.* — 2013. — Vol. 62. — P. 479-91. — doi: 10.1016/j.metabol.2012.07.024.

27. Kamstrup P.R. Elevated lipoprotein(a) levels, LPA risk genotypes, and increased risk of heart failure in the general population / P.R. Kamstrup, B.G. Nordestgaard // *JACC Heart Fail.* — 2016. — Vol. 4. — P. 78-87. — doi: 10.1016/j.jchf.2015.08.006.

Получено 02.04.2018 ■

Радченко В.О., Палкін О.В., Колесніченко В.А., Морозенко Д.В.

ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка Національної академії медичних наук України», м. Харків, Україна

Біохімічні маркери сироватки крові у кроликів після поперекового експериментального задньобічного спондилодезу з використанням аутологічного фібрину, збагаченого тромбоцитами

Резюме. Актуальність. Дослідження біохімічних маркерів сироватки крові дозволяє непрямо оцінити активність процесу репаративної регенерації кісткової тканини. **Мета** дослідження — дослідити маркери мінерального обміну і обміну сполучної тканини в сироватці крові кроликів після поперекового експериментального задньобічного спондилодезу з використанням різних кістково-пластичних матеріалів. **Матеріали та методи.** Поперековий моносегментарний задньобічний спондилодез виконаний 42 статево-зрілим самцям каліфорнійських кроликів у віці 4–5 міс., які були розподілені на 6 груп (по 7 особин у кожній). У контрольній групі 1 трансплантати не застосовувалися; використовували: група 2 — місцеві аутографти, група 3 — місцеві аутографти з поєднанні з PRF, група 4 — алотрансплантати з крила клубової кістки, група 5 — алотрансплантати з крила клубової кістки в поєднанні з PRF, група 6 — PRF. Біохімічні маркери (загальний білок, глікопротеїни, хондроїтинсульфати, β -ліпопротеїни, активність лужної фосфатази, загальний кальцій, фосфор) досліджували двічі:

для отримання нормативних показників у інтактних тварин — за 5–7 днів до операції (група N_{int}) і перед виведенням кроликів з експерименту через 8 тижнів після спондилодезу. **Результати.** Вміст загального білка, кальцію і фосфору виявився у межах фізіологічної норми для даного виду тварин; рівень глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів, β -ліпопротеїнів, активність лужної фосфатази були підвищені різною мірою в усіх експериментальних групах. **Висновки.** З рівнем досліджених біохімічних маркерів в сироватці крові кроликів з інтактною групою найбільш подібними були результати груп з використанням кісткових ало- і місцевих аутографтів у поєднанні з PRF; найбільші відмінності спостерігалися в контрольній групі, де була виконана декортикація поперечних відростків без використання кістково-пластичного матеріалу.

Ключові слова: експериментальний поперековий моносегментарний задньобічний спондилодез; кролики; місцеві аутографти; алотрансплантати; аутологічний фібрин, збагачений тромбоцитами; біохімічні дослідження

V.O. Radchenko, O.V. Palkin, V.A. Kolesnichenko, D.V. Morozenko

State Institution "Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kharkiv, Ukraine

Biochemical markers of blood serum in rabbits after experimental posterolateral lumbar fusion with autologous platelet-rich fibrin

Abstract. Background. The study of serum biochemical markers allows assessing indirectly the process of bone tissue reparative regeneration activity. The objective was to study the markers of mineral metabolism and the connective tissue metabolism in the blood plasma of rabbits after experimental posterolateral lumbar fusion using various grafts. **Materials and methods.** Monosegmental posterolateral lumbar fusion was performed in 42 mature California males rabbits aged 4–5 months, which were divided into 6 groups (7 animals each). In the control group 1, grafts were not applied; there were used: group 2 — local autograft, group 3 — local autograft with platelet-rich fibrin (PRF), group 4 — allograft from iliac crest, group 5 — allograft from iliac crest with PRF, group 6 — PRF. Biochemical markers in the blood plasma (total protein, glycoproteins, chondroitin sulfates, β -lipoproteins, alkaline phosphatase activity, total calcium, phosphorus) were evaluated

twice: 1) to obtain normative indices in intact animals 5–7 days before surgery (N_{int} group); 2) eight weeks after the fusion before rabbits were sacrificed. **Results.** The content of total protein, calcium and phosphorus was within the physiological norm for these animal species. In all experimental groups, the level of glycoproteins, chondroitin sulfates, β -lipoproteins, the activity of alkaline phosphatase were increased. **Conclusions.** The results in groups using bone allografts and local autografts combined with PRF were most similar with the level of studied biochemical markers of the rabbits from the intact group; the greatest differences were found in the control group, where the decortication of the transverse processes was performed without using grafts.

Keywords: experimental monosegmental posterolateral lumbar fusion; rabbits; local autografts; allografts; autologous platelet-rich fibrin; biochemical studies