

DOI: 10.26693/jmbs04.01.078  
УДК 617.3:616.721.6-57.084.1

Піонтковський В. К.<sup>1</sup>, Радченко В. О.<sup>2</sup>, Морозенко Д. В.<sup>2,3</sup>

## ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ РІЗНИХ ВАРІАНТІВ КОАГУЛЯЦІЇ ЕПІДУРАЛЬНИХ СУДИН ПІД ЧАС ОПЕРАТИВНИХ ВТРУЧАНЬ НА ПОПЕРЕКОВОМУ ВІДДІЛІ ХРЕБТА

<sup>1</sup>КП «Рівненська обласна клінічна лікарня», Україна

<sup>2</sup>ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків, Україна

<sup>3</sup>Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

d.moroz.vet@gmail.com

У статті розглядається питання встановлення рівня біохімічних маркерів крові (глікопротеїни, ходроїтинсульфати, загальний холестерол,  $\beta$ -ліпопротеїни, фракції глікозаміногліканів) у щурів за різних варіантів коагуляції епідуральних судин під час оперативних втручань на поперековому відділі хребта. Експеримент було проведено на 25 білих лабораторних щурах-самцях, вік тварин – 6 місяців, маса тіла –  $250 \pm 30$  г. Усім тваринам було проведено лямінектомію на поперековому рівні, епідуральна кровотеча моделювалася шляхом пошкодження сітки епідуральних судин ін'єкційною голкою. В I-й групі (10 щурів) проведено електрокоагуляцію судин епідурального простору в поперековому відділі хребта (діатермокоагулятор Martin, мінімальний режим біполярної коагуляції) у II-й дослідній групі (10 щурів) – проведено коагуляцію судин епідурального простору за допомогою радіочастотної коагуляції (радіочастотний генератор – Elliquense Surgi-Max, режим – bipolar/coag). Контрольну групу тварин складали інтактні щури (n=5). У I групі щурів, яким під час оперативного втручання на поперековому відділі хребта було застосовано електрокоагуляцію судин епідурального простору, найбільш показовим маркером порушень катаболізму колагену було збільшення наприкінці досліду вмісту гідроксироліну в 2 рази порівняно з показником у інтактних тварин, що зумовлено присутністю епідурального фіброзу. У II групі щурів, яким було застосовано радіочастотну коагуляцію судин епідурального простору, було встановлено збільшення наприкінці досліду вмісту гідроксироліну лише на 35,2 %, що свідчить про відсутність суттєвих змін катаболізму колагену в організмі експериментальних тварин.

**Ключові слова:** щури, біохімічні маркери, поперековий відділ хребта, лазерна коагуляція, радіочастотна абляція, епідуральний простір, судини.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження проводилося в рамках науково-дослідної роботи «Дослідити структурно-метаболичні порушення у м'язовій та сполучній тканинах у хворих на дегенеративні захворювання поперекового відділу хребта та вплив на них коморбідної патології», № держ. реєстрації 0116U001085.

**Актуальність.** Пошуку ефективних методів лікування ускладнень при оперативних втручаннях на хребті, зокрема, епідурального фіброзу, залишається однією із важливих проблем сучасної спінальної хірургії, що віддзеркалюється у сучасних дослідженнях [1, 2]. За даними Є.Г. Педаченко [3], післяопераційний компресійний перидуральний фіброз – це реактивний продуктивний запальний процес, який завжди виникає після проведення хірургічних маніпуляцій (зокрема, мікродискетомії), проте технологія створення бар'єру навколо судинно-нервових утворень шляхом введення спеціальних гелів є високоефективним методом його профілактики. Слід також відзначити, що в ортопедичній практиці одним із ефективних терапевтичних методів є радіочастотна коагуляція, яка може бути застосована, наприклад, для лікування остеоми хребта [4, 5]. Проте з клінічної точки зору застосування електрокоагуляції судин може мати негативний вплив на тканини внаслідок високої температури, який полягає у відсутності контролю глибини коагуляції, а також у прилипанні коагуляту до робочої поверхні інструменту та відриві струпу від коагульованої поверхні [6]. Таким чином, пошук менш інвазивних, травматичних та більш ефективних методів коагуляції судин епідурального простору під час оперативних втручань на поперековому відділі хребта є актуальним напрямом досліджень.

**Мета дослідження** – встановити рівень біохімічних маркерів крові у щурів за різних варіантів

коагуляції епідуральних судин під час оперативних втручань на поперековому відділі хребта.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження проводились на базі ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» у 2018 році. Експерименти на тваринах були виконані на базі відділу експериментального моделювання і трансплантології з експериментально-біологічної клінікою із додержанням правил гуманного відношення до експериментальних тварин та асептики згідно «Європейської конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (1987) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

Експеримент було проведено на 25 білих лабораторних щурах-самцях, вік тварин – 6 місяців, маса тіла –  $250 \pm 30$  г. Усім тваринам було проведено ламінектомію на поперековому рівні, епідуральна кровотеча моделювалася шляхом пошкодження сітки епідуральних судин ін'єкційною голкою. В I-й групі (10 щурів) проведено електрокоагуляцію судин епідурального простору в поперековому відділі хребта (діатермокоагулятор Martin, мінімальний режим біполярної коагуляції) у II-й дослідній групі (10 щурів) – проведено коагуляцію судин епідурального простору за допомогою радіочастотної коагуляції (радіочастотний генератор – Elliquense Surgi-Max, режим – bipolar/coag). Контрольну групу тварин складали інтактні щури ( $n=5$ ). В сироватці крові тварин на 30 та 45 добу після операції досліджували наступні біохімічні показники: глікопротеїни, хондроїтинсульфати, загальний холестерол,  $\beta$ -ліпопротеїни, фракції глікозаміногліканів (ГАГ) – хондроїтин-6-, -4- і гепарансульфат [7–9].

Статистичний аналіз даних був здійснений за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel XP та Statsoft Statistica 6.0. Порівняння груп пацієнтів у динаміці проводилося за непараметричним критерієм Вілкоксона із визначенням медіани (Me) та процентилів (25% –75%) [10].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Біохімічні показники сироватки крові були змінені у більшому ступені в групі щурів I групи, яким проводили електрокоагуляцію судин в епідуральному просторі. Середній показник вмісту глікопротеїнів був підвищений у I групі на 30 добу – на 17,3 %, на 45 добу – на 7,9 % порівняно з показником у інтактних тварин. На 45 добу дослідження вміст глікопротеїнів було вірогідно вище у I групі порівняно з II групою. Показники хондроїтинсульфатів в обох групах тварин не відрізнялись від показника у інтактних тварин та між собою на всіх термінах спостереження, що, очевидно, зумовлено відсутністю пошкодження хрящової та кісткової тканини під час

проведення експерименту. Вміст загального холестеролу і  $\beta$ -ліпопротеїнів також не мали вірогідних відмінностей в групах тварин між собою та порівняно з інтактними тваринами. Концентрація загальних ГАГ у сироватці крові не відрізнялась у групах тварин, проте було встановлено перерозподіл їх фракційного складу із збільшенням III фракції (таблиця).

Було встановлено, що у I групі тварин на 30 та 45 добу III фракція ГАГ була збільшена на 46,2 % та 19,20 % відповідно порівняно з інтактними тваринами. Це, очевидно, зумовлено пошкодженням судин епідурального простору під час електрокоагуляції, адже в III фракції ГАГ міститься переважно гепарансульфат – компонент судинних стінок. У тварин II групи вміст III фракції (гепарансульфату) не був підвищений порівняно з показником у інтактних тварин, на 45 добу він вірогідно відрізнявся від показника у I групі та не виходив за межі показниками в інтактній групі тварин.

Вміст гідроксипроліну в крові щурів I групи був вище за щурів II групи. Рівень гідроксипроліну в крові щурів I групи на 30 добу – на 80,6 %, на 45 добу – удвічі; у II групі на 30 добу – на 43,7 %, на 45 добу – на 35,2 % порівняно з показником у інтактних тварин. Така динаміка вмісту гідроксипроліну, очевидно, зумовлено більшою інтенсивністю катаболізму колагену в I групі тварин, де проводили електрокоагуляцію судин і, як наслідок, розвиток епідурального фіброзу. В групі II, де застосовували радіочастотну коагуляцію, рівень катаболізму колагенових структур міжхребцевих дисків був значно нижчий, що віддзеркалюється у більш низькому рівні гідроксипроліну в крові.

Подібні дослідження проводились в експерименті на свинях, яким для зупинення кровотечі було застосовано систему м'якої коагуляції з точки зору запобігання пошкодження тканин, включаючи пошкодження спинного мозку. Корисність м'якої коагуляції була показана з точки зору зупинення кровотечі з епідуральних судин та зменшення пошкодження м'яких тканин в порівнянні зі звичайним електричним приладом. Крім того, для оцінки потенційного ризику пошкодження спинного мозку, біполярна м'яка коагуляція рекомендується для використання в хірургії хребта [11, 12]. Також одним із методів коагуляції епідуральних вен в експерименті на вівцях під час ламінектомії використовували біполярні щипці, які обмежували термічне пошкодження спинного мозку та колатеральних судин [13]. Попередньо біполярні щипці було експериментально застосовано на щурах, проте їх використання обмежувалось дією на тканини головного мозку, під час якої було підтверджено зниження ризиків пошкодження тканин [14].

Таблиця – Біохімічні маркери сироватки крові експериментальних щурів (Ме, 25%–75%)

Показники	Інтактні тварини, n=5	I група Електрокоагуляція		II група Радіочастотна коагуляція	
		30 доба n=5	45 доба n=5	30 доба n=5	45 доба n=5
Глікопротеїни, г/л	1,27 1,26 – 1,28	1,49* 1,45 – 1,50	1,37* 1,36 – 1,41	1,50* 1,47 – 1,59	1,34*◇ 1,28 – 1,35
Хондроїтинсульфати, г/л	0,348 0,345–0,377	0,346 0,340–0,352	0,376 0,356–0,390	0,362 0,345–0,387	0,355 0,340–0,368
Холестерол, ммоль/л	2,20 2,00 – 2,21	2,00 1,90 – 2,05	2,10 2,10 – 2,15	2,10 2,10 – 2,15	2,15 2,10 – 2,15
β-ліпопротеїни, ум. од.	2,00 1,70 – 2,20	2,00 1,95 – 2,10	2,05 2,00 – 2,10	2,00 1,90 – 2,10	2,00 1,95 – 2,00
Загальні ГАГ, ум. од.	15,80 15,30–17,30	15,60 15,40 – 16,00	15,30 14,20–15,50	15,50 14,90–15,70	15,80 15,10–16,40
Хондроїтин-6-сульфат, ум.од.	7,60 7,30 – 7,70	7,75 7,70 – 7,80	7,40 7,10 – 7,55	7,80 7,70 – 8,20	7,40 7,20 – 8,05
Хондроїтин-4-сульфат, ум.од.	6,90 6,60 – 7,20	6,00 5,72 – 6,33	6,05 6,00 – 6,17	6,50 5,75 – 6,50	7,09 6,65 – 7,50
Гепарансульфат, ум. од.	1,30 1,00 – 1,50	1,90* 1,87 – 1,93	1,55* 1,53 – 1,75	1,40 1,30 – 1,65	1,26◇ 1,20 – 1,40
Гідроксипролін, мг/л	14,20 14,00–15,80	25,65* 25,41 – 25,90	28,50* 28,45–29,80	20,40* 19,83–21,50	19,20*◇ 18,70–19,50

**Примітки:** \* – вірогідно за Вілкосоном порівняно з показником у інтактних тварин; ◇ – вірогідно за Вілкосоном порівняно з показником на 45 добу у I групі.

**Висновки**

1. У I групі щурів, яким під час оперативного втручання на поперековому відділі хребта було застосовано електрокоагуляцію судин епідурального простору, найбільш показовим маркером порушень катаболізму колагену було збільшення наприкінці досліду вмісту гідроксироліну в 2 рази порівняно з показником у інтактних тварин, що зумовлено присутністю епідурального фіброзу.
2. У II групі щурів, яким під час оперативного втручання на поперековому відділі хребта було за-

стосовано радіочастотну коагуляцію судин епідурального простору, було встановлено збільшення наприкінці досліду вмісту гідроксироліну лише на 35,2 %, що свідчить про відсутність суттєвих змін катаболізму колагену в організмі експериментальних тварин.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується визначити гістологічні зміни у поперековому відділі хребта експериментальних щурів після застосування різних методів коагуляції судин епідурального простору.

**References**

1. Fishchenko YA, Zavodovskyy D, Matviyenko T, Nozdrenko D, Motuzok O. Strukturni zminy fibrozu spynnoho mozku shchuriv pry epidural'nomu vvedenni sumishi Ionhidazy ta dyprospanu. *Visnyk Kyivskoho natsional'noho universytetu imeni Tarasa Shevchenka*. 2016; 1(20): 49–53. [Ukrainian]
2. Fishchenko YA, Zavodovskyy DO, Motuzuk OM, Matviyenko TYu, Nozdrenko DM. Protyfibrozna diya dyprospanu, Ionhidazy ta yikh kombinatsiy pry mekhanichnomu travmuванні mizhkhrebtsevykh dyskiv u shchuriv. *Fiziologichnyy zhurnal*. 2017; 63(1): 77–83. [Ukrainian]
3. Pedachenko YE.H, Tarasenko OM. Neyrokhirurhichne likuvannya ta vtorynna profilaktyka kompresiynoho rubtsevo-spaykovoho epidurytu pislya poperekovoyi mikrodysektomiyi. *Ukrayins'kyy neyrokhirurhichnyy zhurnal*. 2008; 4: 39–42. [Ukrainian]
4. Laus M, Albinini U, Alfonso C, Zappoli FA. Osteoid osteoma of the cervical spine: surgical treatment or percutaneous radiofrequency coagulation? *Eur Spine J*. 2007; 16(12): 2078–82. PMID: 17874147. PMCID: PMC2140137. DOI: 10.1007/s00586-007-0478-8
5. Hadjipavlou AG, Tzermiadianos MN, Kakavelakis KN, Lander P. Percutaneous core excision and radiofrequency thermocoagulation for the ablation of osteoid osteoma of the spine. *Eur Spine J*. 2009; 18(3): 345–51. PMID: 19031087. PMCID: PMC2899413. Doi: 10.1007/s00586-008-0791-x
6. Pakhlevanyan VH, Kolesnykov SA. Élektroahulyatsyonnyy hemostaz, preymushchestva y nedostatky. *Nauchnye vedomosti Belhorodskoho hosudarstvennoho unyversyteta: seryya «Medytsyna. Farmatsyya»*. 2016; 5(226): 5–9. [Russian]

7. Morozenko DV, Leont'yeva FS. Metody doslidzhennya markeriv metabolizmu spoluchnoyi tkanyny u klinichniy ta eksperymental'niy medytsyni. *Molodyy vchenyy*. 2016; 2(29): 168–72. [Ukrainian]
8. Kamyshnykov VS. *Klynyko-byokhymycheskaya laboratornaya dyahnostyka: spravochnyk*. T. 1. Mn; 2003. 495 s. [Russian]
9. Horyachkovskyy AM. *Klynycheskaya byokhymyya v laboratornoy dyahnostyke*. Odessa: Ékolohyya; 2005. 616 s. [Russian]
10. Hlants S. *Medyko-byolohycheskaya statystyka: Per s anhl*. M: Praktyka; 1998. 459 s. [Russian]
11. Nishida K, Kakutani K, Maeno K, Takada T, Yurube T, Kuroda R, Kurosaka M. Efficacy of hemostasis for epidural venous plexus and safety for neural structure using soft coagulation system in spinal surgery: a laboratory investigation using a porcine model. *J Spinal Disord Tech*. 2013 Oct; 26(7): E281–5. PMID: 23381179. DOI: 10.1097/BSD.0b013e31828677f9
12. Tam AL, Figueira TA, Gagea M, Ensor JE, Dixon K, McWatters A, et al. Irreversible Electroporation in the Epidural Space of the Porcine Spine: Effects on Adjacent Structures. *Radiology*. 2016 Dec; 281(3): 763–71. PMID: 27266723. PMID: PMC5952366. DOI: 10.1148/radiol.2016152688
13. Elliott-Lewis EW, Jollette J, Ramos J, Benzel EC. Thermal damage assessment of novel bipolar forceps in a sheep model of spinal surgery. *Neurosurgery*. 2010 Jul; 67(1): 166–71. PMID: 20568670
14. Elliott-Lewis EW, Mason AM, Barrow DL. Evaluation of a new bipolar coagulation forceps in a thermal damage assessment. *Neurosurgery*. 2009 Dec; 65(6): 1182–7; discussion 1187. PMID: 19934979. DOI: 10.1227/01.NEU.0000356985.27936.93

УДК 617.3: 616.721.6-57.084.1

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ КООГУЛЯЦИИ  
ЭПИДУРАЛЬНЫХ СОСУДОВ ВО ВРЕМЯ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ  
НА ПОЯСНИЧНОМ ОТДЕЛЕ ПОЗВОНОЧНИКА**

**Пионтковский В. К., Радченко В. А., Морозенко Д. В.**

**Резюме.** В статье рассматривается вопрос установления уровня биохимических маркеров крови (гликопротеины, хондроитинсульфаты, общий холестерол, β-липопротеины, фракции гликозаминогликанов) у крыс при различных вариантах коагуляции эпидуральных сосудов во время оперативных вмешательств на поясничном отделе позвоночника. Эксперимент был проведен на 25 белых лабораторных крысах-самцах, возраст животных – 6 месяцев, масса тела – 250±30 г. Всем животным было проведено ламинэктомия на поясничном уровне, эпидуральное кровотечение моделировалось путем повреждения сетки эпидуральных сосудов инъекционной иглой. В I-й группе (10 крыс) проведено электрокоагуляцию сосудов эпидурального пространства в поясничном отделе позвоночника (диатермокоагулятор Martin, минимальный режим биполярной коагуляции) во II-й опытной группе (10 крыс) – проведена коагуляцию сосудов эпидурального пространства с помощью радиочастотной коагуляции (радиочастотный генератор – Elliquence Surgi-Max, режим – bipolar / coag). Контрольную группу животных составляли интактные крысы (n=5). В первой группе крыс, которым во время оперативного вмешательства на поясничном отделе позвоночника была применена электрокоагуляция сосудов эпидурального пространства, наиболее показательным маркером нарушений катаболизма коллагена было увеличение в конце опыта содержания гидроксиролина в 2 раза по сравнению с показателем у интактных животных, обусловлено присутствием эпидурального фиброза. Во второй группе крыс, которым была применена радиочастотная коагуляция сосудов эпидурального пространства, было установлено увеличение в конце опыта содержания гидроксиролина только на 35,2 %, что свидетельствует об отсутствии существенных изменений катаболизма коллагена в организме экспериментальных животных.

**Ключевые слова:** крысы, биохимические маркеры, поясничный отдел позвоночника, лазерная коагуляция, радиочастотная абляция, эпидуральное пространство, сосуды.

UDC 617.3: 616.721.6-57.084.1

**Comparative Estimation of Biochemical Blood Parameters  
of Experimental Rats after Various Variants of Epidural Vessels Coagulation  
during Surgical Interventions on the Lumbar Spine**

**Piontkovsky V. K., Radchenko V. O., Morozenko D. V.**

**Abstract.** The article deals with the question of determining the level of biochemical markers of blood (glycoproteins, chondroitinsulfates, total cholesterol, β-lipoproteins and glycosaminoglycan fractions) in rats for various variants of coagulation of the epidural vessels during surgical interventions on the lumbar spine.

*Material and methods.* Experiment was carried out on 15 white laboratory male rats, aged 6 months with body weight of 250±30 g. All animals were given laminectomy at the lumbar level; the epidural bleeding was modeled by damaging the net of epidural vessels with an injection needle. In the 1<sup>st</sup> group (10 rats), we performed the electrocoagulation of the vessels of the epidural space in the lumbar spine (Martin diathermic coagulant, minimal mode of bipolar coagulation), in the 2<sup>nd</sup> experimental group (10 rats) we carried out the coagulation of the vessels of the epidural space using radio frequency coagulation (radiofrequency generator – Elliquance Surgi-Max, mode – bipolar / coag).

*Results and discussion.* The control group of animals consisted of intact rats (n=5). The biochemical parameters of blood serum were changed to a greater extent in the group of rats of the 1<sup>st</sup> group, which carried out electrocoagulation of blood vessels in the epidural space. The average index of glycoprotein content was elevated in the 1<sup>st</sup> group for 30 days by 17.3 %, and by 7.9 % for 45 days compared with the indicator in intact animals. After 45 days of study, the content of glycoproteins was significantly higher in the 1<sup>st</sup> group than in the 2<sup>nd</sup> group. Indicators of chondroitin sulfates did not differ from the indicator in intact animals in both groups of animals and among themselves in all terms of observation, which is apparently due to the absence of damage to cartilage and bone tissue during the experiment. The content of total cholesterol and β-lipoproteins also had no significant difference in animal groups among themselves and compared to intact animals. The concentration of general GAG in serum did not differ among animal groups; however, a redistribution of their fractional composition with an increase in the III fraction was established. It was found out that in the 1<sup>st</sup> group of animals at days 30 and 45, the GAG fraction III was increased by 46.2 % and 19.20%, respectively, compared with intact animals. This, obviously, is due to damage to the vessels of the epidural space during electrocoagulation, because in the third fraction GAG contains predominantly heparan sulfate – a component of the vascular walls. In the 2<sup>nd</sup> group animals, the content of the III fraction (heparan sulfate) was not elevated compared to the indicator in intact animals, at 45 days it was significantly different from that in the 1<sup>st</sup> group and did not exceed the values in the intact group of animals. The content of hydroxyproline in the blood of the 1<sup>st</sup> group rats was higher than that of the 2<sup>nd</sup> group rats. The level of hydroxyproline in blood of the 1<sup>st</sup> group rats for 30 days was by 80.6 %, and for 45 days it increased twofold; in the 2<sup>nd</sup> group for 30 days it was by 43.7 %, for 45 days it increased by 35.2 % compared with the indicator in intact animals.

*Conclusion.* This dynamics of the content of hydroxyproline, apparently, is due to a greater intensity of catabolism of collagen in the 1<sup>st</sup> group of animals, where vascular electrocoagulation was performed and, as a consequence, the development of epidural fibrosis. In the 2<sup>nd</sup> group where radiofrequency coagulation was used, the level of catabolism of collagen structures of the intervertebral discs was significantly lower, which was reflected in a lower level of hydroxyproline in the blood.

**Keywords:** rats, biochemical markers, lumbar spine, laser coagulation, radiofrequency ablation, epidural space, blood vessels.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 08.11.2018 р.  
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування