

УДК 619:617-001.5:616-074:615.31:636.7

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У СОБАК С ПЕРЕЛОМАМИ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ И ЗАМЕЩЕНИЕМ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ «БИОМИНОМ-ГТ»**Рубленко М.В.,* Семеняк С.А.,* **Поворознюк В.В., ***Ульянчик Н.В.**

*«Белоцерковский национальный аграрный университет», г. Белая Церковь, Украина,

**Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарьова НАМН Украины, г. Киев, Украина,

***Институт проблем материаловедения им. И.Н. Францевича, г. Киев, Украина

В статье отображена динамика содержания остеокальцина (ОС) и β -терминального телопептида коллагена I типа (β -СТх) в сыворотке крови собак с переломами бедренной кости и костей предплечья. Установлено, что при замещении костных дефектов остеокондуктивным материалом «Биоин-ГТ» консолидация перелома происходит в 1,2 раза быстрее. Самая большая концентрация ОС была у собак с переломами бедренной кости. При переломах костей предплечья пик его концентрации наблюдается на 30-е сутки после остеосинтеза. Содержание β -СТх в сыворотке крови собак было самым высоким в контрольной группе и более динамично изменялось при заполнении костного дефекта «Биоин-ГТ». Биохимические маркеры костного метаболизма позволяют проследить динамику заживления переломов костей и на ранних стадиях, до появления рентгенологических изменений, спрогнозировать его течение.

The osteocalcin (OC) and β - terminal telopeptide collagen of I type (β -CTx) dynamics in blood serum of dogs with femur and forearm bones fracture was showed. It is established that replacement of bone defects with "Biomim-GT" acuter bone healing in 1,2 times. The maximum activity of OC appeared in dogs with femur fracture. The peak of OC concentration observed on 30th day after osteosynthesis fractured radius and ulna bones. The maintenance of β -CTx in blood serum was high in control group and more dynamically changed in case a filling of bone defect by "Biomim-GT". Markers of a bone metabolism allow to investigate dynamics of fracture healing on the early stages before occurrence of X-ray changes and give opportunity to prognosis bone healing in future.

Ключевые слова: собаки, переломы, костные биомаркеры, биоин.**Keywords:** dog, bone fracture, bone markers, biomin.

Введение. У собак среди хирургической патологии преобладает травматизм, который находится на уровне 23–46% [1–3]. Наиболее сложными последствиями травм являются переломы костей, которые составляют 6–15% среди всей хирургической патологии [2, 4]. Среди трубчатых костей чаще травмируются бедренная и кости предплечья, при этом частота осколочных фрактур может достигать 25–60% [5–7]. Именно такие переломы, как правило, сопровождаются дефектами костной ткани по причине удаления мелких осколков при невозможности их репозиции и фиксации или вследствие потери связи с мышечной тканью. Костный дефект в зоне перелома способствует развитию нестабильности, что обуславливает необходимость применения более сложных методов остеосинтеза (пластины с винтами, внешние фиксаторы и др.). Однако это не всегда ведет к успешному лечению, и часто наблюдаются различные осложнения в виде замедленной консолидации, развития ложных суставов, остеомиелита. В связи с этим постоянно ведутся поиски материалов, которыми можно заместить костный дефект и ускорить процесс заживления перелома.

К таким остеокондуктивным материалам на основе фосфатов кальция в виде гидроксилapatита и трикальцийфосфата относятся кергап, остим-100 и др. [8–9], а также биокомпозиты – коллапан, гапкол, в состав которых входит коллаген [10]. Однако наличие чужеродного коллагена в составе таких материалов нередко приводит к развитию иммунозависимых реакций в организме собак, что способствует развитию осложнений.

Материалы на основе фосфатов кальция можно изготовить путем синтеза из солей кальция и фосфатов, что исключает возможность передачи инфекции, они биологически совместимы, имеют различные формы выпуска: порошок, гранулы, блоки. Наличие в гранулах и блоках определенной пористости способствует быстрой интеграции его с костной тканью и формирование костно-керамического композита в зоне перелома, который может выдерживать функциональные нагрузки и, постепенно резорбируясь, замещаться костной тканью [11].

Процесс заживления переломов костей имеет сложную регуляцию и зависит от многих факторов. Поэтому очень важно уметь контролировать его течение и прогнозировать исход. Однако в ветеринарной ортопедии этой проблеме посвящены единичные исследования, а многие вопросы остаются дискуссионными. Одни исследователи предлагают контролировать течение репаративного остеогенеза по интенсивности фосфорно-кальциевого обмена, активности общей щелочной фосфатазы [8, 12]. Другие свидетельствуют о достаточной стабильности концентрации макроэлементов в крови при репаративном остеогенезе, а интенсивность фосфорно-кальциевого обмена предлагают определять в костном регенерате [13]. Однако эти показатели не являются достаточно специфическими маркерами костного метаболизма.

Цель работы – исследовать динамику биомаркеров костного метаболизма при репаративном остеогенезе в случае замещения костных дефектов трубчатых костей у собак гранулами «Биомина-ГТ».

Материалы и методы исследований. Работу выполняли в хирургической клинике Белоцерковского НАУ на собаках с диафизарными осколочными переломами бедренной кости и костей предплечья. Диагноз устанавливали на основании клинических и рентгенологических данных. Животных в возрасте 2,2–5,5 лет разделили на три группы 1-я группа (n=5) – собаки с осколочными переломами бедренной кости, 2-я и 3-я (по 5 гол) – костей предплечья.

Животным всех групп после общего и местного обезболивания проводили латеральный доступ к поврежденной кости. После фиксации отломков гравиметрически измеряли объем костного дефекта (по объему воды, которую вытесняет предварительно внесенный в дефект оттискной материал - альгинат натрия). Экстракостальный остеосинтез проводили пластинами, которые закрепляли шурупами. В 1-й и 2-й группах дефекты костной ткани замещали гранулами остеотропного материала «Биомин-ГТ», производства ЦНТУ «Рапид», (Украина), который состоит из синтетического гидроксилатапата и β-трикальцийфосфата ≤ 50%, в 3-й группе костный дефект не заполняли. Рану ушивали послойно. В послеоперационный период всем собакам применяли цефазолин в дозе 25 мг/кг. Течение репаративного остеогенеза контролировали клинически, рентгенологически, натошак на 7-е, 14-е, 30-е и 60-е сутки после остеосинтеза проводили отбор проб крови. В группу клинически здоровых собак (n=8) включали животных того же возраста, которые подлежали диспансеризации. В сыворотке крови определяли содержание остеокальцина (ОК) и β-терминального телопептида коллагена I типа (β-СТх) (тест системой cobas) иммуноферментным методом на хемилюминисцентном анализаторе Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, ФРГ).

Результаты исследований. Метаболизм костной ткани связан с двумя противоположными процессами – остеогенезом и резорбцией, которые являются результатом активности костных клеток – остеобластов и остеокластов. Они синтезируют ряд веществ (специфические ферменты, белки и др.), которые частично попадают в кровоток, где могут быть исследованы, что и позволяет объективно оценить активность костных клеток и спрогнозировать течение костной патологии. В ветеринарной ортопедии изучению динамики специфических костных биомаркеров при репаративном остеогенезе посвящены единичные зарубежные работы [14, 15]. При этом некоторые исследователи не подтверждают их диагностическую информативность [16], что может быть связано с разной чувствительностью некоторых костных маркеров при определенных изменениях костного метаболизма, поэтому требуется дальнейшее изучение этого вопроса.

Согласно результатам клинико-рентгенологических исследований при использовании Биомин-ГТ для замещения костных дефектов после экстракостального остеосинтеза осколочных переломов костей предплечья их заживление наступает в 1,2 раза быстрее. Заживление осколочных переломов бедренной кости при использовании Биомин-ГТ происходит на 11-14 суток быстрее, чем заживление аналогичных переломов без замещения костного дефекта [17].

Для оценки течения репаративного остеогенеза важно исследовать специфические биомаркеры костной ткани, которые изменяются только под влиянием костного метаболизма. Один из таких – остеокальцин, самый распространенный неколлагеновый, кальцийсвязывающий белок органического матрикса кости, который синтезируется остеобластами.

Для комплексной оценки течения репаративного остеогенеза важно исследовать не только остеогенез, но и процессы резорбции костной ткани, маркером чего являются продукты деградации коллагена I типа – С-телопептиды (СТХ). Коллаген I типа составляет более 90% органического матрикса кости, синтезируется непосредственно остеобластами, а при резорбции костной ткани небольшие пептидные фрагменты попадают в кровь, где могут быть исследованы.

У клинически здоровых собак содержание в сыворотке крови ОС и β-СТх установлено на уровне 25,7±1,65 нг/мл и 0,34±0,03 нг/мл, соответственно. При исследовании концентрации ОС в сыворотке крови собак на различных стадиях репаративного остеогенеза было установлено, что на протяжении всего периода заживления осколочных переломов бедренной кости в 1-й группе её уровень был в 1,6-1,8 раза (p<0,05) выше, чем у клинически здоровых животных. При этом на 7-е и 14-е сутки его концентрация превышала в 1,2 и 1,7 раза (p<0,05), соответственно, показатели контрольной группы (таблица 1).

Таблица 1 - Содержание биомаркеров костного метаболизма в сыворотке крови собак с переломами трубчатых костей

Показатели	Клинически здоровые (n=8)	7-е сутки	14-е сутки	30-е сутки	60-е сутки
ОС (нг/мл)	25,7±1,65	42,4±0,56***+	45,3±2,74***++	44,6±5,50**	44,0±6,78
		27,0±1,14**	30,9±2,71	34,4±3,22	26,6±3,37
		35,7±2,18*	27,0±3,64	38,3±4,85	31,9±6,87
β-СТх (нг/мл)	0,34±0,03	0,60±0,02	0,76±0,10	0,62±0,06	0,44±0,05+
		0,38±0,07+	0,46±0,06++	0,61±0,09	0,67±0,07
		0,58±0,03**	0,85±0,05***	0,65±0,03**	0,72±0,09*

Примечания: 1) I – первая опытная группа (n=5); II – вторая опытная группа (n=5); III – контрольная группа (n=5);

2) значение p: * – <0,05; ** – <0,01; *** – <0,001, остальные – >0,05 по сравнению с клинически здоровыми животными;

3) значение p: + – <0,05; ++ – <0,01; остальные – >0,05, между опытной и контрольной группами

Концентрация β-СТх также была в 1,8-2,2 раза (p<0,05) выше, чем у клинически здоровых собак в течении 30 дней после остеосинтеза и только на 60 сутки снизилась до 44,0±0,05 нг/мл, что не имело достоверной разницы с показателями клинически здоровых собак. Следует обратить внимание, что у животных 1-й группы показатели костного метаболизма были существенно выше, что, видимо, связано с большей площадью зоны перелома бедренной кости по сравнению с фрактурами костей предплечья и, как следствие,

большей активностью костных клеток: остеобластов и остеокластов. В то же время следует отметить, что пиковый уровень β -СТх имел место на 14-е сутки репаративного остеогенеза, что свидетельствует об интенсивности остеорезорбции. Стабильно же высокий уровень остеокальцина во все периоды исследования указывает на интенсивный остеогенез.

Уровень ОК во второй опытной группе постепенно повышался до 30-х суток, когда его концентрация в 1,3 раза превысила ($p < 0,05$) показатели клинически здоровых собак. При этом на 7-е сутки его уровень был в 1,3 раза ($p < 0,01$) ниже, чем в контрольной группе, что, вероятно, связано со способностью «Биомина-ГТ» локализовать репаративный процесс в зоне перелома и, как следствие, меньшим развитием периостальной реакции, которая в большей степени наблюдалась в контрольной группе и сопровождалась увеличенным содержанием ОС на 7-е и 30-е сутки. Концентрация β -СТх в контрольной группе была повышенной на протяжении всего периода исследований в 1,7-2,5 ($p < 0,05$) раза, что вероятно связано с чрезмерной активностью остеокластов в начальный период – резорбция отломков в зоне костного дефекта, а в более позднем – периостального регенерата. Во второй опытной группе динамика β -СТх характеризовалась постепенным повышением концентрации с пиком на 60-е сутки, при этом его содержание в сыворотке крови на 7-е и 14-е сутки было в 1,5-1,8 раза меньше ($p < 0,05$) чем в контрольной группе, что свидетельствует о более динамичном течении репаративных процессов в опытных группах.

Заключение. Материал «Биоин-ГТ» в зоне перелома выполняет функцию остеокондуктивной матрицы для формирования костной мозоли, а пористость гранул способствует пространственной ориентации синтезированного остеобластами коллагена, что ускоряет консолидацию переломов. Содержание костных маркеров в сыворотке крови собак с переломами костей позволяет отслеживать активность костных клеток, что дает возможность контролировать течение репаративного остеогенеза задолго до появления рентгенологических изменений.

Концентрация ОС и β -СТх в сыворотке крови собак с переломами трубчатых костей отображает процессы остеогенеза и резорбции. Самым интенсивным остеогенез был у собак 1-й группы, при этом значимое повышение ОС во всех группах наблюдалось на 30 сутки, что отвечает пику активности остеобластов. Концентрация β -СТх в сыворотке крови собак отображает процессы костной резорбции, которые были самими высокими в контрольной группе и более динамично проходили при заполнении костного дефекта «Биоин-ГТ».

Литература 1. Пустовіт Р.В. Гемостаз та його корекція при переломах трубчастих кісток у собак : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія” / Р.В. Пустовіт. – Біла Церква, 2008. – 22 с. 2. Рубленко С.В. Моніторинг ветеринарної допомоги і структура хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин в умовах міської клініки / С.В. Рубленко, О.В. Єрошенко // Вісник Сумського НАУ. – Суми, 2012. – Вип. 1 (30). – С. 150-154. 3. Семеняк С.А. Структура переломів кісток у собак в умовах мегаполісу / С.А. Семеняк, С.В. Рубленко, Ю.М. Данилейко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Біла Церква. – 2014. – Вип. 13 (108). – С. 218–223. 4. Сахно Н. В. Оптимізація репаративного остеогенезу при костних травмах у малих домашніх тваринних : автореф. дис. на соиск. учен. степені д-ра вет. наук : спец. 06. 02. 04 – ветеринарна хірургія / Н. В. Сахно; ФГБОУ ВПО «Орловський державний аграрний університет». – Орел, – 2012 – 22 с. 5. Телятніков А.В. Поширення переломів кісток у собак / А.В. Телятніков // Наук. вісник вет. мед.: Зб. наук. праць. – Біла Церква, 2013. – Вип. 11 (101). – 149 – 153. 6. Haaland P.J. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases / P.J. Haaland L. Sjöstrom; M. Devor, et al // Vet. Comp. Orthop Traumatol. – 2009. Vol. 4. – P. 309–315. 7. Анников В.В. Характер и частота травматических повреждений трубчатых костей у мелких непродуктивных животных в городе Саратове / В.В. Анников // XIV Международный московский конгресс по болезням мелких домашних животных : тезисы докл. – М., 2006. – С. 82–83. 8. Смурна О.В. Застосування екстрацелюлярного остеосинтезу та гідроксилатапату «кергап» при переломах клубової кістки у собак: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія” / О.В. Смурна – Біла Церква, 2009. – 20 с. 9. Оценка биосовместимости имплантационных кальций-фосфатных материалов в зависимости от их минерального состава / И.А. Талашова, Т.А. Силантьева, Н.А. Кононович, С.Н. Лунева // Бюллетень сибирской медицины. – 2012, – №3. – С. 62–68. 10. Козлов Н.А. Влияние коллапана на остеорепарацию при экстремедулярном остеосинтезе длинных трубчатых костей у собак: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. вет. наук: спец. 16.00.05, ветеринарная хирургия / Н.А. Козлов – Москва, 2002. – 20 с. 11. Ульянов Н.В. Иващенко Е.А. Уварова И.В. и др. Возможность использования кальцийфосфатной керамики в качестве носителя лекарственных средств // Укр. морфолог. альманах. – 2010. – №2. – С. 44–46. 12. Дорошук В.О. Стимуляція репаративної регенерації кісткової тканини при переломах у собак: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія” / В.О. Дорошук – Біла Церква, 2004. – 19 с. 13. Белов А. Д. Видовые особенности патогенеза костной травмы, рациональные способы лечения и стимуляции остеогенеза у животных (Радиобиологические, рентгено-морфологические, био- и гистохимические исследования) : автореф. дис. на соиск. науч. степени д-ра вет. наук : спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія” / А. Д. Белов – М., 1973. – 38 с. 14. Sousa C. Serum total and bone alkaline phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase activities for the assessment of bone fracture healing in dogs / C. Sousa, H. Abreu, C. Viegas // Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. – 2011. Vol 63. – P.1007-1011. 15. Paskalev M. Сравнительное исследование костных маркеров крови при нормально заживающих и инфицированных моделях перелома кости у собак / M. Paskalev // Современная ветеринарная медицина. – 2012. – №2. – С. 13–18. 16. Theyse, L. The efficacy of the bone markers osteocalcin and the carboxyterminal cross-linked telopeptide of type-I collagen in evaluating osteogenesis in a canine crural lengthening model / Theyse, L.; Mol, J.A.; Voorhout, G. et al // Vet. J. – 2005. Vol.171. – P.525-531. 17. Semenyak S. Prospects of use of biocomposite materials for comminuted fractures of tubular bones in dogs / S. Semenyak // Ветеринарна медицина України. – 2014. – № 9. – С 27–29.

Статья передана в печать 15.04.2015 г.