

## Влияние препарата на основе этидронатов лантаноидов и кальция на изменение биохимических показателей сыворотки крови у животных с костным дефектом

*Е.А. Житлова, аспирантка, ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ*

Любые внешние воздействия, в том числе и скелетная травма, вызывают изменения во внутренней среде организма, связанные с адаптационной перестройкой обменных процессов, позволяющих ему существовать в новых условиях [1]. При всём разнообразии различных по силе и качеству раздражителей в организме в ответ на травматическое воздействие происходят общие неспецифические и специфические изменения всех звеньев метаболизма, регулируемые местными и системными факторами и сопровождаемые колебанием концентрации субстратов обмена в сыворотке крови [2]. Поэтому посттравматические изменения складываются из неспецифических (системных) и специфических ответных реакций. Первые развиваются на уровне целостного организма независимо от локализации и тяжести перелома и находятся под действием системных факторов (гормонов); вторые происходят под влиянием местных факторов (ауто- и паракринная регуляция) и связаны с активацией репаративных процессов тканей зоны перелома [3].

**Цель** исследования — анализ изменений биохимических показателей сыворотки крови у животных при применении препарата Инрок, содержащего ионы лантаноидов и кальция.

**Материал и методы исследования.** Исследование выполнено согласно ГОСТу ИСО 10993 (Р) и одобрено локальным этическим комитетом Казанского государственного медицинского университета (протокол заседания № 9 от 25 ноября 2014 г.).

Экспериментальной моделью явились кролики в возрасте 6–10 мес. в количестве 16 животных с массой тела 2500–2800 г. Животные были подобраны по принципу аналогов и разделены на две группы.

Всем экспериментальным животным проводили частичное повреждение одного кортикального слоя в виде дырчатого дефекта в проксимальном отделе большеберцовой кости с медиальной поверхности [4]. Оперативное вмешательство проводили под нейролептаналгезией (Rometar 2%, 0,15–0,2 мл/кг, Золетил 100, 10–15 мг/кг) с соблюдением правил асептики и антисептики. Оперативный доступ к кости осуществляли через разрез кожи и подкожной клетчатки на 2 см ниже бедро-берцового сочленения. Высверливали отверстие в одном кортикальном слое диаметром 3 мм. Заключительный этап операции включал ушивание раны прерывисто-узловатыми швами. Животным I гр. (контрольная) препарат в зону травмы не вводили, аналогам II гр. (опытной) вводили препарат Инрок

в дефект кортикальной пластинки на 3-и и 5-е сут. после операции в дозе 0,2 мл.

Для исследования были использованы серии препарата, содержащие в составе активное вещество — этидроновую кислоту моногидрат, кальций хлорид дигидрат и вспомогательные вещества гадолиния (III) нитрата гексагидрат, диспрозия (III) хлорида гексагидрат, воду для инъекций [5].

Взятие крови для определения биохимических показателей сыворотки крови осуществляли венепункцией *v. Saphenalateralis*: до операции, на 3-и, 7-е, 14-е, 21-е и 56-е сут. после оперативного вмешательства. Применяли вакуумные пробирки IMPROVE с гелем-активатором свёртывания крови. Для оценки ответа острой фазы определяли уровень С-реактивного белка (СРБ) (с использованием полуколичественного теста на основе латекс-агглютинации «HUMAN», Германия). В сыворотке крови определяли маркеры костного метаболизма: общую активность щелочной фосфатазы (ЩФ) (кинетическим колометрическим методом с применением тест-системы ALPDGKC (AuditDifgnostics, Ireland)), уровень кальция (Ca) (фотометрическим методом (CPC, HUMAN)) и фосфора (P) (спектрометрическим методом (HUMAN)).

Также определяли маркеры потенциальной гепатотоксичности: уровень глюкозы — оксидазным тестом (тест-система GLUC — PAP) (Randox, UK), общего белка — биуретовым методом (Randox, UK), аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспарагинаминотрансферазы (АсАТ) — ультрафиолетовым кинетическим методом (TermoScientific, Finland)).

Содержание в сыворотке крови креатинина, мочевины, общего билирубина, прямого билирубина определяли общепринятыми методами [6].

Полученные цифровые результаты были обработаны с помощью пакетов прикладных программ SPSS v.13.0 с применением t-критерия Стьюдента с поправкой Bonferroni. Различия считали достоверными при  $P < 0,05$ .

**Результаты исследования.** При проведении сравнительного анализа результатов исследований у животных контрольной и опытной групп можно отметить, что достоверное снижение концентрации СРБ наблюдалась у кроликов II опытной гр. на 3-и сут. после оперативного вмешательства. Далее динамика и характер изменений концентрации данного показателя были аналогичны у животных обеих групп (табл. 1).

Данные, полученные при изучении показателей обмена костной ткани в динамике после частичного повреждения одного кортикального слоя большеберцовой кости в виде дырчатого дефекта, представлены в таблице 2.

1. Динамика концентрации СРБ в сыворотке крови, мг/л ( $X \pm Sx$ )

Срок эксперимента, сут.	Показатель	
	группа	
	I (к)	II (о)
До опыта	25,92±7,15	13,44±4,69
3-и	10,71±2,32*	6,17±0,92
7-е	4,73±0,65**	4,66±0,65
14-е	5,65±0,66*	5,82±1,09
21-е	6,72±2,49*	4,29±1,21
56-е	6,22±2,23*	5,68±1,03

Примечание: \* – достоверные различия с дооперационными значениями группы сравнения  $P < 0,05$ ; \*\* –  $P < 0,01$

2. Динамика концентрации щелочной фосфатазы, кальция, фосфора сыворотки крови ( $X \pm Sx$ )

Срок эксперимента, сут.	Показатель					
	ЩФ, Е/л		кальций, ммоль/л		фосфор, ммоль/л	
	группа					
	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)
До опыта	129,75±24,78	164,99±26,73	3,07±0,09	3,22±0,06	1,41±0,19	1,37 ±0,13
3-и	104,93±14,63	101,25±13,79	3,28±0,14	3,24±0,10	1,14±0,08	1,10 ±0,10
7-е	129,43±16,92	138,59±20,01	3,16±0,10	3,31±0,05	1,34±0,08	1,37 ±0,15
14-е	177,10±41,22	142,48 ±33,4	3,13±0,07	3,14±0,11	1,27 ±0,1	1,29 ±0,08
21-е	150,24±22,92	139,00±26,01	3,20 ±0,06	3,12 ±0,08	1,37±0,11	1,36±0,10
56-е	173,82±14,68	199,08±57,09	3,19±0,13	3,02 ±0,11	1,27±0,10	1,41±0,07

Показатель щелочной фосфатазы у кроликов обеих групп понижался на 3-и и 21-е сут., однако на протяжении всего опыта достоверного отличия между обеими группами не наблюдалось.

На 3-и сут. отмечалось повышение концентрации кальция в сыворотке крови особей контрольной гр., а на 7-е сут. – только в сыворотке крови аналогов опытной гр. Восстановление концентрации произошло лишь в конце эксперимента на 56-е сут. Достоверных отличий между группами не установлено.

Значительных колебаний в содержании фосфора в сыворотке крови кроликов обеих групп не выявлено. На 3-и сут. после оперативного вмешательства наблюдалось незначительное снижение концентрации фосфора у животных обеих групп, с последующим его повышением до исходного уровня к концу опыта.

Следующий этап комплексного лабораторного мониторинга – оценка тяжести повреждения параоссальных тканей, прежде всего мышц и паренхиматозных органов (табл. 3, 4).

Изменения концентрации общего белка в сыворотке крови кроликов опытной и контрольной групп были подобны. Тенденция к увеличению на 4–5% выше физиологической нормы отмечалась на 56-е сут. в обеих группах. Достоверного отличия между группами не было выявлено.

Значительных достоверных изменений концентрации глюкозы в сыворотке крови животных на протяжении всего опыта не отмечалось.

Концентрация аланинаминотрансферазы (АлАт) в сыворотке крови на протяжении 3–7 сут. опыта находилась в пределах нормы у кроликов опытной

гр., затем отмечалось её снижение ниже границы нормы на 56%, с последующим восстановлением до исходной отметки на 56-е сут. У кроликов контрольной гр. данный показатель не потерпел значительных изменений на протяжении всего опыта.

Отклонений от исходных значений концентрации АсАт в сыворотке крови кроликов обеих групп до 7-х сут. после оперативного вмешательства не отмечалось. С 14-х до 21-х сут. наблюдалось снижение этого показателя ниже нормы с последующим восстановлением на 56-е сутки. Достоверные отличия между группами не регистрировались.

Достоверно пониженное содержание креатинина наблюдалось в сыворотке крови кроликов опытной группы по сравнению с животными контрольной гр. ( $P < 0,05$ ), но значения этого показателя остались в пределах физиологической нормы. В последующие сроки содержание креатинина почти не изменилось.

Характер и динамика концентрации мочевины в сыворотке крови кроликов обеих групп были подобны. На 56-е сут. было замечено некоторое недостоверное повышение концентрации мочевины выше нормы.

На 3-и сут. эксперимента наблюдалось резкое падение концентрации общего билирубина в сыворотке кроликов обеих групп – на 19% по сравнению с исходными дооперационными значениями. В последующие сроки данный показатель постепенно восстановился до прежних начальных величин. Также не было зарегистрировано достоверного отличия между группами.

На протяжении всего опыта уровень прямого билирубина всегда был выше приблизительно

3. Динамика концентрации общего белка, глюкозы, АлАТ, АсАТ в сыворотке крови ( $X \pm Sx$ )

Срок эксперимента, сут.	Показатель							
	общий белок, г/л		глюкоза, мМ/л		АлАТ, ед/л		АсАТ, ед/л	
	группа							
	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)
До опыта	59,15±0,99	57,91±1,54	8,19±0,62	6,66±0,44	51,41±5,57	50,60±5,96	29,79 ±3,65	23,71±3,92
3-и	61,87±1,36	60,99±1,45	7,89±0,4	7,80±0,24	61,53±19,58	61,44±15,99	25,48 ±2,31	24,82±4,35
7-е	60,33±1,25	60,92±0,95	7,21 ±0,56	6,37±0,40	66,68 ±9,11	46,82±5,03	31,96 ±7,25	24,20±2,26
14-е	64,1±2,65	62,53±3,45	7,43±0,30	7,25±0,36	52,67±10,6	34,39 ±6,48	23,93 ±6,07	16,51 ±2,3
21-е	61,72±0,9	61,96±1,74	7,35±0,60	7,02±0,22	52,40 ±8,94	35,41 ±7,38	19,10 ±2,73	13,40±2,43
56-е	67,44±1,41*	64,73±1,47	7,14 ±0,20	7,94±0,55	44,13 ±7,17	50,57 ±8,16	26,01 ±4,18	29,79±5,45**

Примечание: \* – достоверные различия с дооперационными значениями в группе сравнения  $P < 0,01$ ; \*\* – достоверные различия значений на 56-е сут. со значениями на 21-е сут. в опытной группе  $P < 0,05$

4. Динамика концентрации креатинина, мочевины, общего билирубина, прямого билирубина в сыворотке крови ( $X \pm Sx$ )

Срок, сут.	Показатель							
	креатинин, мкМ/л		мочевина, мМ/л		об. билирубин, мкМ/л		пр. билирубин, мкМ/л	
	группа							
	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)	I (к)	II (о)
До опыта	92,00±6,31	78,20±4,73	5,79 ±0,69	5,35 ±0,49	2,06 ±1,01	2,50 ±1,16	0,91 ±0,31	0,63 ±0,21
3-и	89,63±5,59*	76,63±2,43	5,16±0,54	4,67 ±0,13	0,5±0,39	0,61±0,41	0,15 ±0,15	0,45 ±0,23
7-е	89,61±10	91,99±6,34	6,00±0,67	5,71 ±0,88	2,29 ±1,06	2,18 ±1,07	0,48 ±0,15	0,70 ±0,40
14-е	87,98 ±8,07	89,9 ±6,37	6,10±0,63	5,79 ±1	2,94 ±1,44	3,02±1,5	0,37 ±0,19	0,67±0,25
21-е	93,52±9,6	97,24±7,32	5,30±0,61	5,87±0,2	2,93 ±1,43	3,22±1,65	0,70±0,38	1,03 ±0,48
56-е	96,61±10,21	104,29±13,8	6,79±0,81	6,60±0,65	2,52 ±1,27	2,35 ±1,26	1,14 ±0,66	1,04 ±0,51

Примечание: \* – достоверные различия со значениями опытной группы  $P < 0,05$

в 2 раза в сыворотке крови кроликов опытной группы, чем у кроликов группы сравнения, но не выходил за пределы физиологической нормы и статистически достоверного отличия между группами не было отмечено.

**Выводы.** Обобщая результаты исследования биохимического состава сыворотки крови подопытных кроликов можно заключить, что претерпевали значительные изменения следующие показатели: С-реактивный белок, общий белок, прямой билирубин; мочевина имела тенденцию к повышению; кальций, щелочная фосфатаза, креатинин, общий билирубин, АсАт, АлАт, имеющие вначале тенденцию к снижению. Снижение уровня белка происходило за счёт угнетения белково-синтетической функции печени в ответ на травму. Травма кости активизировала распад белков не только в параоссальных тканях, но и в тканях всего организма.

Данные колебания в вышеуказанных показателях биохимического состава сыворотки крови регистрировались в первой половине эксперимента (2–21-е сут.), связанной с острой фазой воспалительного процесса, затем нормализовались к концу опыта.

Значительным сдвигам не подверглись такие показатели, как фосфор, глюкоза, ввиду малой травматизации.

Сочетанное воздействие экспериментальной травмы и препарата Инрок на локальное и общее состояние организма кроликов сопровождается кратковременной реакцией организма в виде активизации местных (в зоне перелома) маркеров воспалительного процесса и некоторых показателей системного ответа, которые нормализуются с угасанием острой фазы воспалительного процесса.

**Литература**

1. Власов В.В. Реакция организма на внешние воздействия: общие закономерности развития и методические проблемы исследования. Иркутск: изд-во Иркутского ун-та, 1994. 344с.
2. Соков С.А., Соков Л.П. Информационное моделирование адаптационных синдромов травматических стресс-ситуаций // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Медицина». 1999. № 1. С. 91–99.
3. Лунева С.Н., Стогов М.В., Столбиков С.А. Изменения биохимических показателей сыворотки крови у пациентов с закрытыми переломами костей голени в нижней трети при лечении по методу Илизарова // Травматология и ортопедия России. 2007. № 3 (45). С. 63–67.
4. Талашова И.А., Осипова Н.А., Кононович Н.А. Сравнительная количественная оценка репаративного процесса при имплантации биокомпозитных материалов в костные дефекты // Гений ортопедии. 2012. № 2. С. 68–71.
5. Шакирова Ф.В., Житлова Е.А. Изменение гематологических показателей экспериментальных животных при введении препарата на основе этидронатов лантаноидов и кальция в дефект большеберцовой кости // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2016. № 5 (139). С. 149–152.
6. Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие / под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабора, 2009. Т. 2. 304 с.