

Pavlenko K. V., Gozhenko A. I., Nasibullin B. A., Uvarova E. B. Особенности измерения обмена кальция у крыс при переломе малоберцовой кости в зависимости от применяемых лечебных факторов = Features measurement of calcium exchange in rats in fractures of the fibula depending on applied medical factors. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(11):727-734. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.46669>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3404>
<http://pbn.nauka.gov.pl/works/717178>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport (null) 2391-8306 7

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland.

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 15.11.2015. Revised 20.11.2015. Accepted: 30.11.2015.

УДК 616.718.6-001.5-085.814.5

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕРЕНИЯ ОБМЕНА КАЛЬЦИЯ У КРЫС ПРИ ПЕРЕЛОМЕ МАЛОБЕРЦОВОЙ КОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРИМЕНЯЕМЫХ ЛЕЧЕБНЫХ ФАКТОРОВ

К. В. Павленко, А. И. Гоженко, Б. А. Насибуллин, Е. Б. Уварова

ГП «Украинский НИИ медицины транспорта» МЗ Украины, Одесса

РЕЗЮМЕ

Авторы, по результатам экспериментальных исследований проведенных на 90 крысах о изменениях показателей кальциевого обмена при переломе малой берцовой кости, установили: что эти изменения носят фазный характер. Этапы изменения показателей кальциевого обмена совпадают с фазами репаративного процесса в области перелома. Применение «Апизартрона» сохраняет фазность изменений, но ускоряет переход между ними. При применении плазмы обогащенной тромбоцитами наблюдается практическое отсутствие фазы воспаления, а протяженность остальных фаз репарации резко сокращается. Авторы полагают, что экзогенное введение факторов роста с плазмы обогащенной тромбоцитами активирует процессы образования тканеспецифических элементов и структурно-функциональной организации костной ткани.

Ключевые слова: кальций, щелочная фосфатаза, «Апизартрон», плазма обогащенная тромбоцитами.

FEATURES MEASUREMENT OF CALCIUM EXCHANGE IN RATS IN FRACTURES OF THE FIBULA DEPENDING ON APPLIED MEDICAL FACTORS

K. V. Pavlenko, A. I. Gozhenko, B. A. Nasibullin, E. B. Uvarova

Ukrainian Scientific and Research Institute of Transport Medicine, Odessa, Ukraine

Abstract

There was an experimental study on 90 rats. The authors stated that in case of fracture of fibula variation of calcium metabolism indices has a phasic habit. Variation milestones are the same as the phases of reparative process in the fracture. The usage of “Apizartron” maintains variation phasicity but promotes transaction in between. In applying the platelet-rich plasma the inflammation phase is almost absent and the extension of other repair phases slashes. The authors consider that exogenic intake of growth promoting substance from the platelet-rich plasma promotes the building-up process of tissue-specific features and structural-functional organization of osseous tissue.

Key words: calcium, alkaline phosphatases, “Apizartron”, platelet-rich plasma.

Наше время, по праву, определяют как время «эпидемия травматизма». Ежегодно травмы получают до 2 млн. взрослых и до 300 тыс. детей, живущих на Украине [1, 3]. Поскольку травма и ее последствия являются причиной инвалидности 89% лиц трудоспособного населения [4] проблема травматизма, в том числе и переломов конечностей приобретает не только медицинское, но и социально-экономическое значение. В связи с вышесказанным особую актуальность приобретают вопросы разработки технологий регенерации кости, повышающих качество и сокращающих время этого процесса. Однако результативность таких разработок напрямую связана с углублением и расширением наших представлений о патогенезе репаративных процессов в кости. Одним из механизмов участвующих в процессах восстановления кости является обмен кальция. Согласно современным представлениям кальция, поступающий в область перелома играет не только роль материала, обеспечивающего создание плотного вещества кости (кальцификация), но и агента регулирующего

протекание процесса регенерации. В работах ряда исследователей [2, 7, 8] показано, что ионы кальция являются важным фактором регуляции целого ряда биологических процессов, прежде всего процессов возбуждения функциональной активности и процессов дифференциации и пролиферации клеточных элементов. Исходя из вышесказанного, целью нашей работы была оценка влияния природных лечебных ресурсов (пчелиный яд, плазма обогащенная тромбоцитами) на показатели кальциевого обмена и скорость регенерации костной ткани при экспериментальном переломе у крыс.

Материалы и методы исследований

Материалом настоящего исследования послужили данные полученные при исследовании 80 белых крыс-самцов линии Вистер, аутобредного разведения, весом 180-200 грамм. Животные были ранжированы на 3 группы I группа (30 крыс), составили животные которым моделировали перелом малоберцовой кости, последующее его заживление не сопровождалось лечебными воздействиями, – группа сравнения; II группа (30 крыс) – составили животные с переломом малой берцовой кости, которым проводили курс фонофореза с «Апизартроном»; III группу (30 животных) составили крысы с переломом малоберцовой кости, которым проводили курс инъекций плазмой обогащенной тромбоцитами в область перелома.

Описание процесса перелома, а также порядок проведения фонофореза с «Апизартроном»; получение плазмы обогащенной тромбоцитами и порядок ее введения описаны в наших предыдущих работах [5, 6]. По завершению эксперимента и на промежуточных его этапах (7, 14, 21, сутки после перелома) животных выводили из опыта декапитацией под легким эфирным наркозом. У животных брали кровь (5 мл) в которой биохимическими методами [9] определяли содержание Ca^{2+} и PO_4^{3-} крови, а также активность щелочной фосфатазы. Выбранные показатели позволяли судить об интенсивности поступления кальция в ткани в область перелома, а также об интенсивности образования PO_4^{3-} , необходимого для этого поступления. Для контроля за течением процесса проводили гистологическое исследование области перелома, после декальцинации выделенной части кости.

Результаты и их обсуждения

Данные гистологических исследований позволили выделить несколько этапов в процессе регенерации кости. В первые трое суток опыта в области перелома преобладают проявления воспаления – лимфоидная инфильтрация, отек, паретическое расширение окружающих сосудов. Затем на 7 сутки определяются в области перелома

остеоциты и фибробласты, островки и «языки» гомогенного костного вещества. Эти явления распространяются и усиливаются к 14 суткам опыта, когда восстанавливается целостность плотного вещества кости. В последующий период до 21 суток наблюдается восстановления, хотя и не полной структурно-функциональной организации кости.

У крыс, которым проводили курс апифонофореза, выраженность этапа регенерации незначительна. Уже на третьи сутки в области перелома определяются участки гомогенного эозинофильного вещества и остеоциты. На 7 сутки опыта целостность плотного вещества кости восстановлена, а на 14 сутки наблюдается неполное восстановление структурно-функциональной организации кости, т.е. имеет место ускорение процесса заживления и появление элементов разных этапов регенерации в один момент времени.

При использовании плазмы обогащенной тромбоцитами первый этап был практически невыраженным, восстановление структурно-функциональной организации кости имело место на 14 сутки эксперимента, а присутствие элементов последующего этапа в предыдущем было значительным. Имело место резкое сокращение времени восстановления кости, отсутствие этапа воспаления и активное образование тканеспецифических клеточных элементов уже в ранние периоды регенерации.

Что касается состояния показателей кальциевого обмена, то их изменения в ходе опыта отражены в таблице №1.

Согласно данным таблицы №1 содержание Ca^{2+} в плазме крови, на протяжении эксперимента было ниже контроля, однако оно менялось в разные сроки наблюдений. До 7 суток оно было самым низким при этом уровень PO_4^{3-} был самым высоким. Очевидно на этапе воспаления Ca^{2+} интенсивно поступает в область перелома. Поскольку активность Щ.Ф. в этот период была самой низкой можно полагать, что снижение интенсивности выделения PO_4^{3-} из соединений предотвращает излишнее поступление Ca^{2+} в область перелома. Это предотвращает кальцификацию тканей и Ca^{2+} используется как регулятор активности биопроцессов. В фазе образования тканеспецифических элементов и формировании плотного вещества кости (7-14 сутки опыта) повышается содержание Ca^{2+} и активность Щ.Ф. при сохранении содержания PO_4^{3-} .

Таблица №1

Сравнительная оценка показателей кальциевого обмена у крыс с переломом при разных способах коррекции (M±m)

Показатель		Ca ²⁺ ммоль/л	(PO ₄ ³⁻) ммоль/л	Щ.Ф. Ед/л
Контроль		2,66±0,41	3,0±0,74	369,19±12,41
Перелом	7 суток	2,45±0,02	1,72±0,35	221,18±28,32
	14 суток	2,70±0,04	1,60±0,21	263,06±30,06
	21 сутки	2,82±0,33	1,28±0,11	206,19±28,25
Перелом + фонофорез с «Апизартро- ном»	7 суток	5,50±0,067	1,82±0,22	244,84±14,79
	14 суток	2,39±0,052	1,54±0,046	242,84±4,56
	21 сутки	5,60±0,035	1,41±0,33	213,68±4,32
Перелом + инъекция плазмы обогащенной тромбоцитами	7 суток	2,93±0,12	1,80±0,23	298,0±23,6
	14 суток	2,42±0,32	4,45±0,47	456,0±46,9
	21 сутки	2,03±0,18	1,92±0,16	326,0±36,3

$p \leq 0,05$

Очевидно в этот период усиливается поступление Ca²⁺ в область перелома, где он выполняет функцию не только регулятора, но и участника кальцификации. В заключительный период опыта когда плотное вещество кости в принципе создано и идет процесс его организации содержание Ca²⁺ в плазме крови нормализуется, а активность Щ.Ф. и содержание PO₄³⁻ снижается. Очевидно потребность в поступлении кальция в область репарации перелома снижается, поэтому выделение и содержание PO₄³⁻ невысокое, а кальция в плазме нормализуется.

Применение фонофореза с «Апизартроном» влияет на поведение показателей кальциевого обмена у подопытных крыс. В отличие от предыдущей группы содержание Ca²⁺ в плазме крови резко повышается при этом содержание PO₄³⁻ остается в пределах физиологического коридора (вблизи его нижней границы). Поскольку у животных этой группы явления образования тканеспецифических элементов отмечается уже в этот период, можно полагать, что поступление кальция в область перелома значительно

усиливается, что обусловлено действиями «Апизартрона». Снижение активности Щ.Ф. при этом выступает в роли регулятора интенсивности процесса. В период 7-14 суток, когда наблюдается восстановление целостности плотного вещества кости и появляются признаки ее структурно-функциональной организации содержание Ca^{2+} падает, как и содержание PO_4^{3-} , но поскольку активность Щ.Ф. остается близкой к данным предыдущего срока можно говорить об интенсивном поступлении кальция в область перелома. Наконец к моменту окончания эксперимента кальций вновь нарастает, величины других показателей достоверно снижаются, т.е. можно полагать, что потребность в кальции в области перелома для кальцификации и управления нет, поэтому срабатывает механизм предотвращающий его движение в перелом. В целом можно говорить, что «Апизартрон» ускоряет смену фаз обмена кальция и тем самым ускоряет процесс заживления кости.

Применение плазмы обогащенной тромбоцитами меняет динамику показателей кальциевого обмена у подопытных крыс, но эти изменения отличаются от наблюдаемых в предыдущих группах. Прежде всего обращало на себя внимание относительно небольшое снижение активности Щ.Ф. в первый период репарации кости (1-7 сутки), очевидно поступление PO_4^{3-} в этот период происходит достаточно активно именно под влиянием тромбоцитарной массы, т.к. признаки воспаления области перелома у этих животных были незначительны. Содержание PO_4^{3-} в плазме крови у животных данной группы в этот период оставалось близким к норме, а Ca^{2+} даже недостоверно превышало ее. Можно полагать, что под влиянием плазмы обогащенной тромбоцитами уже в первом периоде патологического процесса кальций активно поступает в область перелома. Поскольку гистологически в этот период наблюдается слабая выраженность воспаления, но достаточно активное образование тканеспецифических элементов, можно полагать, что происходит замещение необходимых для репарации факторов роста из клеток воспаления, факторами роста из экзогенных тромбоцитов, что позволяет исключить фазу воспаления и раньше начать процесс пролиферации тканеспецифических элементов. В период до 14 суток, когда у животных данной группы происходит восстановление целостности и структурно-функциональной организации плотного вещества кости, наблюдается достоверное повышение активности Щ.Ф. и соответственно достоверное повышение содержание PO_4^{3-} . Количество кальция в плазме возвращается к норме, т.е. можно полагать, что имеет место массивное поступление кальция в область перелома не только как регулирующей молекулы, но и как материала для кальцификации плотного вещества

кости. В заключительный период опыта, когда кость в области перелома восстановлена, исследуемые показатели кальциевого обмена также нормализуются.

Таким образом результаты наших исследователей показали, что показатели кальциевого обмена изменяются в процессе репарации кости. Эта изменения носят фазный характер, который по времени совпадает с фазами репаративного процесса. Применение «Апизартрона» не меняет характера изменений кальциевого обмена, но ускоряет смену фаз и интенсивность каждой из них, благодаря этому каждая последующая фаза репарации начинается до того как завершилась предыдущая, что значительно ускоряет процесс заживления. Плазма обогащенная тромбоцитами выступает в роли экзогенного источника факторов роста, что обуславливает исключение фазы воспаления из процесса репарации и резко интенсифицирует этот процесс. Хотя имеется и побочный эффект в виде излишнего образования плотного вещества кости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Т. М. Ортопедическая заболеваемость и организация специализированной помощи при патологии костно-мышечной системы [Text] / Т. М. Андреева, В. В. Троценко // Вестник травматологии и ортопедии. - 2006. - N1. - С.3-6.
2. Калюжная М.А. Нарушения кальциевого обмена и способы коррекции. – М., 2004. – С.217.
3. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации/ Корж Н.А., Дедух Н.В. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 77-84.
4. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Локальные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 2)/ Корж Н.А., Романенко К.К., Горидова Л.Д. // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 84-89.
5. Павленко К.В. Структурно-функціональні особливості загоєння переломів малогомілкової кістки при застосуванні апіфонофорезу в залежності від дози бджолиної отрути/ Гоженко А.І., Павленко К.В., Насібуллін Б.А. // ВІСНИК МОРФОЛОГІЇ REPORTS OF MORPHOLOGY 2015. – 21 (1). – С.84-86.
6. Павленко К.В. Структурні та метаболічні особливості репаративного процесу в кістці щура при введенні плазми, збагаченої тромбоцитами/ Гоженко А.І., Павленко К.В., Насібуллін Б.А. // Вісник наукових досліджень 2015. – №1. – С.93-95.
7. Струков В.И. и соавт. Нарушение кальциевого обмена. Часть I. Гиперкальциемические состояния // – Пенза: Издат. РОСТРА, 2010. – С. 67.
8. Щеплягина Л.А. Кальций и кость: профилактика и коррекция нарушений минерализации костной ткани/ Щеплягина Л.А., Моисеева Т.Ю.// Consilium medicum. 2003. № 5(6).
9. Горячковский А.М. Клиническая биохимия // Одесса. – 1998. – Астропринт. – С. 417.

References

1. Andreeva T. M. Orthopaedic disease and organization of specialized care in the pathology of the musculoskeletal system / T. M. Andreeva, V. V. Trocenko // Vestnik travmatologii i ortopedii. - 2006. - N1. - P.3-6. (Rus.)
2. Kaliugnaya M.A. Disorders of calcium metabolism and methods of correction. – M., 2004. – P.217. (Rus.)
3. Korj N.A. Reparative bone regeneration: a modern view on the problem. Regeneration Stages / Korg N.A., Deduh N.V. // Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye. – 2006. – № 1. – P. 77-84. (Rus.)
4. Korj N.A. Reparative bone regeneration: a modern view on the problem. Local factors affecting fracture healing (Post 2)/ Korg N.A., Romanenko K.K., Goridova L.D. // Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye. – 2006. – № 1. – P. 84-89. (Rus)
5. Pavlenko K.V. Structural and functional properties of the healing fractures fibula in the application of phonophoresis up depending on the dose of bee venom / Gozhenko A.I., Pavlenko K.V., Nasibullin B.A. // REPORTS OF MORPHOLOGY 2015. – 21 (1). – C.84-86. (Ukr.)
6. Pavlenko K.V. The structural and metabolic features of reparative process in rat bone when introduced plasma enriched with platelets / Gozhenko A.I., Pavlenko K.V., Nasibullin B.A. // Visnik naukovih doslidjen, 2015. – №1. – P.93-95. (Ukr.)
7. Strukov V.I. et al. Violation of calcium metabolism. Part I. gipokaltsiemicheskij state // – Penza: ROSTRA, 2010. – P. 67. (Rus.)
8. Scheplyagina L.A. Calcium and bone: the prevention and correction of bone mineralization / Scheplyagina L.A., Moiseeva T.Uy.// Consilium medicum. 2003. № 5(6). (Rus.)
9. Goryachkovskiy A.M. Klinicheskaya biohimiya // Odessa. – 1998. – Astroprint. – P. 417. (Rus.)