

УДК 616.7-018.4-003.9-092.9:[577.1:599.323.4

Біохімічні показники крові щурів у різні терміни репаративного остеогенезу за умов гіпергомоцистеїнемії

Ю.О. Безсмертний

НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Україна

The effects, produced by hyperhomocysteinaemia (HHcy) and its correction with Decamevit and Glutargin on bone tissue metabolism in rats with femur fractures in different terms of reparative osteogenesis, were studied. It was established, that HHcy caused enhancement of bone tissue resorption, increase of calcium excretion with urine, inhibition of collagen biosynthesis in rats with femur fractures. HHcy induced dysregulation of reparative osteogenesis by lowering the transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1) levels in the first 2 weeks after trauma and by an excessive increase of this index on days 30–45 after the trauma. Decamevit and Glutargin reduced HHcy-induced imbalance between the processes of resorption and biosynthesis of bone tissue, and normalized the staging changes of TGF- β 1 levels in blood serum of rats with femur fractures.

Исследовано влияние гипергомоцистеинемии (ГГЦ), ее коррекции декамевитом и глутаргином на метаболизм костной ткани у крыс с переломом бедренной кости в разные сроки репаративного остеогенеза. Установлено, что ГГЦ вызывает усиление резорбции костной ткани, увеличение экскреции кальция с мочой, угнетение биосинтеза коллагена у крыс с переломом бедренной кости. ГГЦ индуцирует дисрегуляцию репаративного остеогенеза посредством снижения уровня трансформирующего фактора роста-бета 1 (ТФР- β 1) в первые 2 недели и чрезмерного повышения этого показателя на 30–45 сутки после травмы. Декамевит и глутаргин уменьшают ГГЦ-индуцированный дисбаланс между процессами резорбции и биосинтеза костной ткани и нормализуют стадийность изменений уровня ТФР- β 1 в сыворотке крови при переломе бедренной кости у крыс.

Ключові слова: гіпергомоцистеїнемія, репаративний остеогенез, стегнова кістка щура, трансформувальний фактор росту-бета 1, декамевіт, глутаргін

Порушення репаративного остеогенезу залишаються однією із складних проблем травматології та ортопедії. Навіть у разі сучасних методів лікування переломів частота незрощень кісток сягає 30% [8]. У структурі причин первинної інвалідності внаслідок ортопедичних захворювань та травм 49,6% припадає на незрощені переломи та псевдоартрози, при цьому серед осіб з порушеннями репаративної регенерації кісток переважають люди працездатного віку [8].

Репаративний остеогенез є генетично запрограмованим процесом, перебіг якого залежить від дії чисельних екзо- та ендогенних чинників [3, 6]. Серед них вагоме місце займає група факторів, які детермінують остеоіндуктивний потенціал організму та активність процесів резорбції/біосинтезу кісткової тканини на момент травми, а саме: вік,

стать, метаболічні розлади (цукровий діабет, атеросклероз), імунологічний статус, облітерувальні захворювання судин тощо [6, 11]. Останніми роками було з'ясовано, що порушення обміну сірковмісних амінокислот — гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ) асоціюється з високим ризиком остеопорозу та остеопоротичних переломів [13]. Остеотоксичну дію ГГЦ здебільшого пов'язують з активацією остеокластогенезу та посиленням процесів резорбції кісткової тканини [15]. Цілком імовірно, що мають місце й інші механізми небажаного впливу ГГЦ на стан кісток. Є дані про зв'язок цього синдрому з порушенням судинної продукції оксиду азоту [5] та посиленням фібробластичної експресії трансформувального фактору росту-бета 1 (ТФР- β 1) [9], а останній, як відомо, залучений до регуляції остеогенезу та загоєння переломів [10, 14]. Не виключено,

що ГГЦ може істотно змінювати остеорепаративний процес, однак детальних досліджень у цьому напрямку не проведено. Залишається відкритим питання, яким чином корекція ГГЦ та асоційованих з нею метаболічних порушень відображається на процесах консолідації переломів та формуванні псевдоартрозів.

Метою роботи було вивчення змін біохімічних показників метаболізму кісткової тканини в сироватці крові щурів з модельованим переломом стегнової кістки за умов ГГЦ та її корекції засобом із гіпогемостатичною дією (декамевітом) і донором оксиду азоту (глутаргіном) у різні терміни репаративного остеогенезу.

Матеріал та методи

Досліди проведено на 135 білих нелінійних щурах-самцях. Під час експериментів всі тварини перебували в стандартних умовах з 12-годинним світло-тіньовим режимом, вільним доступом до води та їжі, утримувалися на напівсинтетичній крохмально-казеїновій дієті з контрольованим вмістом усіх макро- та мікронутрієнтів [5]. ГГЦ створювали у 93 тварин (групи 3–6) шляхом введення D,L-гомоцистеїну (Fluka, Німеччина) в дозі 100 мг/кг маси тіла інтрагастрально на 1% розчині крохмалю 1 раз на день протягом 14 діб. Після досягнення цільових рівнів ГЦ у плазмі крові (14 доба) у тварин 2–6 груп у стерильних умовах моделювали поперечний перелом у середній третині діафізу стегнової кістки. Ортопедичним сепараційним диском розпилювали діафіз на 2/3 його товщини і виконували надлом. У кістковомозкову порожнину проксимального та дистального відламків вводили спицю Кіршнера діаметром 1 мм. Після співставлення відламків проводили гемостаз та ушивали рану. Додаткову іммобілізацію перелому не застосовували. Далі тваринам 3–6 груп продовжували введення тіолактону ГЦ (як зазначено вище). Тваринам 4–6 груп проводили метаболічну корекцію. З цієї метою використовували полівітамінний комплекс декамевіт (Декамевіт®, АТ «Київський вітамінний завод») — єдиний з вітчизняних препаратів, що містить в одній таблетці високі дози вітамінів B₆, B₉, B₁₂ (20,0; 2,0; 0,1 мг), які забезпечують гіпогемостатичний ефект [1]. Іншим препаратом був глутаргін (сіль L-аргініну та L-глутамінової кислоти, ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна), який є донором оксиду азоту і має антигіпоксичну, антиоксидантну та мембраностабілізуючу дію. Тварини 4-ої групи отримували з дієтою декамевіт (781 мг/кг сухого корму, що забезпечувало надходження 1430 мкг вітаміну B₆, 143 мкг вітаміну B₉,

7,15 мкг вітаміну B₁₂ на 1 кг маси тіла тварин), тваринам 5-ої групи вводили глутаргін у дозі 200 мг/кг інтрагастрально на 1% розчині крохмалю 1 раз на добу, тварини 6-ої групи отримували декамевіт та глутаргін. Контрольну групу склав 21 інтактний щур. На 15, 30 та 45 добу 7–8 щурів з кожної групи піддавали евтаназії шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Досліди виконували згідно з міжнародними вимогами «Європейська конвенція по захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Strasburg, 1986), правилами гуманного ставлення до експериментальних тварин, затверджених комітетом з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

У сироватці крові визначали маркери метаболізму кісткової тканини. Вміст вільного та пептидов'язаного оксипроліну визначали за реакцією з пара-диметиламінобензальдегідом, вміст загальних глікозаміногліканів (ГАГ) — за реакцією з карбазолом [4]. Вміст загального кальцію в сироватці крові та сечі (добова екскреція), активність лужної фосфатази в сироватці крові визначали за уніфікованими методами з використанням наборів «Кальцій» та «Лужна фосфатаза» (Філісіт-Діагностика, Україна). Вміст загального ГЦ і ТФР-β1 у сироватці крові визначали імуноферментним методом, використовуючи набори «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англія) та «TGF-β1» (Biosource, Europe S.A.).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою стандартних статистичних програм «MS Excel XP». Вірогідність відмінностей оцінювали за t-критерієм Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

Введення тіолактону ГЦ викликало вірогідне зростання рівня ГЦ у сироватці крові піддослідних тварин у 2,5 рази за станом на 15 добу та в 2,9–3,2 рази за станом на 30 та 45 добу після травми (табл. 1). Збагачення дієти тварин декамевітом прискорювало елімінацію надлишку ГЦ з їх організму: вміст цього метаболіту в сироватці крові щурів 4-ої групи (перелом + ГГЦ + декамевіт) був вірогідно меншим (на 38–55% залежно від терміну досліду), ніж у щурів 3-ої групи (перелом + ГГЦ). З'ясувалось, що глутаргін також спричиняв гіпогемостатичний ефект, хоча і значно слабший, ніж декамевіт, і вміст ГЦ у щурів 5-ої групи (перелом + ГГЦ + глутаргін) був на 14–32% меншим, ніж у нелікованих щурів. Найбільш ефективно формуванню ГГЦ запобігало поєднане застосування декамевіту та глутаргіну. Слід відзначити, що власне травматичне ушкодження стегнових кісток не супроводжувалось вірогідними змінами вмісту ГЦ у плазмі крові.

Таблиця 1. Динаміка вмісту ГЦ у сироватці крові щурів дослідних груп за наявності та відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном ($M \pm m$, $n=7-8$)

№ групи	Характеристика груп	ГЦ, мкмоль/л		
		15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	7,10±0,27	7,04±0,29	6,98±0,20
2	Перелом	7,68±0,39	7,46±0,35	7,05±0,34
3	Перелом + ГГЦ	19,4±1,07 ¹	21,6±1,19 ¹	22,8±1,07 ¹
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	11,9±0,56 ^{1,2}	10,8±0,49 ^{1,2}	10,2±0,58 ^{1,2}
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	16,6±0,86 ^{1,2}	16,1±0,99 ^{1,2}	15,4±1,01 ^{1,2}
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	10,8±0,82 ^{1,2}	9,77±0,59 ^{1,2}	8,73±0,54 ^{1,2}

Примітки: ¹ — $p < 0,05$ відносно тварин 2-ї групи (контроль на перелом); ² — $p < 0,05$ відносно тварин 3-ї групи (перелом + ГГЦ)

Таблиця 2. Динаміка вмісту оксипроліну в сироватці крові щурів дослідних груп за наявності та відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різні терміни репаративної регенерації стегнової кістки ($M \pm m$, $n=7-8$)

№ групи	Характеристика груп	Вільний оксипролін, мкмоль/л			Пептидозв'язаний оксипролін, мкмоль/л		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	23,8±0,52	24,2±0,54	23,9±0,81	27,9±1,40	28,4±1,06	27,3±1,10
2	Перелом	45,5±1,18 ¹	36,9±0,79 ¹	27,3±0,42 ¹	43,8±2,96 ¹	47,0±3,30 ¹	48,3±2,25 ¹
3	Перелом + ГГЦ	52,5±0,52 ²	54,6±0,90 ²	55,7±0,70 ²	28,6±2,23 ²	34,5±1,50 ²	35,6±0,88 ²
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	47,4±1,84 ³	41,2±0,53 ^{2,3}	32,3±0,42 ^{2,3}	37,3±1,64 ³	41,2±2,19 ³	43,3±2,92 ³
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	42,3±0,59 ^{2,3}	40,8±0,67 ^{2,3}	30,9±1,21 ^{2,3}	35,2±2,15 ³	40,9±1,86 ^{2,3}	42,3±3,05 ^{2,3}
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	41,4±0,75 ^{2,3}	38,8±1,27 ³	29,6±1,16 ³	38,6±2,24 ³	42,3±2,85 ³	44,8±2,49 ³

Примітки: ¹ — $p < 0,05$ у разі порівняння з 1-ю групою; ² — $p < 0,05$ відносно тварин 2-ї групи; ³ — $p < 0,05$ відносно тварин 3-ї групи

Оцінка маркерів метаболізму кісткової тканини показала (табл. 2), що за станом на 15 добу після перелому стегнової кістки зареєстровано зростання вмісту вільного та пептидозв'язаного оксипроліну в сироватці крові на 91,2% та 56,9% відповідно. На 30 та 45 добу після травми вміст вільного оксипроліну зменшувався, а пептидозв'язаного, навпаки, підвищувався, що вказує на сповільнення резорбційних процесів та посилення біосинтезу колагену в регенераті. ГГЦ модифікувала перебіг репаративного остеогенезу, про що свідчать вірогідні відмінності в динаміці вмісту фракцій оксипроліну в сироватці крові у щурів 2-ї та 3-ї груп. Зокрема, на 15 добу рівень вільного оксипроліну у щурів 3-ї групи (перелом + ГГЦ) перевищував такий у щурів 2-ї групи на 15,4%, і виявлені відхилення поглиблювались до 48% та 104% на 30 та 45 добу після травми. Приріст рівня пептидозв'язаного оксипроліну реєстрували пізніше (після 15 доби) і був вірогідно меншим (на 26,3–26,6%), ніж у щурів 2-ї групи. Отже, ГГЦ викликала посилення резорбції та пригнічення синтезу колагенових білків, що може порушувати формування регенерату після перелому. Застосування декамевіту та глутаргіну, а особ-

ливо їх поєднання, зменшувало негативний вплив ГГЦ на обмін колагену і сприяло підтримці балансу між резорбційними та біосинтетичними процесами в різні терміни репаративного остеогенезу.

На 15 добу після перелому в сироватці крові щурів виявлено підвищення (на 22,0%, $p < 0,05$) вмісту ГАГ з наступним зниженням на 30 добу і практичною нормалізацією на 45 добу. У разі поєднання перелому з ГГЦ спостерігали більш суттєве зростання (на 17,4% відносно 2-ї групи, $p < 0,05$) рівня ГАГ у сироватці крові на 15 добу, а на 30 та 45 добу виявлені відхилення посилювались (до 28,7% та 39,7%, $p < 0,05$), що свідчить про порушення обміну органічного матриксу в регенераті. Застосування декамевіту, глутаргіну і, особливо, їх комбінації ефективно стримувало зростання ГАГ у сироватці крові щурів з переломом та ГГЦ.

Дисбаланс між процесами резорбції та біосинтезу кістки в процесі репаративного остеогенезу на тлі ГГЦ асоціювався з порушенням кальцієвого балансу (табл. 3). Так, за умов нормогомоцистеїнемії на 15 добу після перелому спостерігали помірне зростання (на 24,1% відносно контролю) рівня кальцію у сироватці крові, але на 30 добу цей показник

Таблиця 3. Динаміка показників обміну кальцію у щурів дослідних груп за наявності або відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різні терміни репаративної регенерації стегнової кістки ($M \pm m$, $n=7-8$)

№ групи	Характеристика груп	Кальцій сироватки крові, ммоль/л			Екскреція кальцію з сечею, мкг/24 години		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	2,36±0,07	2,41±0,08	2,39±0,08	15,4±0,22	16,1±0,69	15,8±0,72
2	Перелом	2,93±0,08 ¹	2,66±0,07 ¹	2,28±0,09	13,9±0,50 ¹	11,0±0,37 ¹	10,5±0,89 ¹
3	Перелом + ГГЦ	3,32±0,07 ²	3,16±0,09 ²	2,97±0,07 ²	32,5±1,00 ²	37,4±1,07 ²	36,5±1,22 ²
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	2,98±0,08 ³	2,73±0,09 ³	2,45±0,06 ³	20,2±0,94 ^{2,3}	19,6±0,88 ^{2,3}	17,6±0,94 ³
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	3,06±0,09	2,78±0,12 ³	2,56±0,11 ³	28,6±1,34 ^{2,3}	27,7±0,87 ^{2,3}	23,1±0,83 ^{2,3}
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	2,88±0,11 ³	2,57±0,08 ³	2,34±0,07 ³	16,4±0,57 ^{2,3}	15,9±0,86 ^{2,3}	14,3±0,72 ^{2,3}

Примітки: ¹ — $p < 0,05$ у разі порівняння 1-ої та 2-ої груп; ² — $p < 0,05$ відносно тварин 2-ої групи; ³ — $p < 0,05$ відносно тварин 3-ої групи

вірогідно зменшився (на 9,21% порівняно зі станом на 15 добу, $p < 0,05$) і на 45 добу практично нормалізувався. Вважається, що за умов перелому зростання кальцію у сироватці крові є наслідком резорбції неорганічної складової травмованої кістки, а його подальше зниження зумовлено активацією процесів мінералізації кісткового регенерату [2]. За ГГЦ на 15 добу після травми виявлявся більш суттєвий приріст (на 13,3% відносно 2-ої групи) рівня кальцію у сироватці крові і на 30 та 45 добу також мало місце підвищення цього показника, що свідчить про посилену резорбцію кісткової тканини.

Формування негативного кальцієвого балансу в організмі тварин за умов ГГЦ підтвердило дослідження добової екскреції цього іону із сечею, динаміка якої була більш виразною, ніж зміни вмісту кальцію у сироватці крові. Так, якщо у тварин з переломом за нормогомоцистеїнемії екскреція кальцію з сечею вірогідно зменшувалась (на 9,7–33,5%) протягом всього терміну спостереження, то за ГГЦ, навпаки, зростала на 111–131% порівняно з групою контролю. Метаболічна корекція декамевітом та глутаргіном, особливо у вигляді комбінованої терапії, зменшувала ознаки дисбалансу кальцієвого обміну після перелому на тлі ГГЦ, що може свідчити про нормалізацію процесів мінералізації кісткового регенерату.

Вагому роль в регуляції репаративних процесів, проліферації та диференціації клітин хрящової і кісткової тканин, біосинтезі та деградації макромолекул екстрацелюлярного матриксу відіграє ТФР- β 1 [7]. Не виключено, що небажаний вплив ГГЦ на процес репаративного остеогенезу може опосе-

редковуватись через модуляцію продукції цього регулятора. Результати наших досліджень показали, що на 15 добу після перелому у щурів спостерігали вірогідне зростання (на 108%) вмісту ТФР- β 1 у сироватці крові (табл. 4). У подальшому відзначали поступове зниження сироваткового вмісту ТФР- β 1 і за станом на 30 та 45 добу після перелому цей показник перевищував такий у контролі на 46,4% та 16,5% відповідно. У разі поєднання перелому з ГГЦ вміст ТФР- β 1 підвищувався менш виразно і був на 23,8% нижчим, ніж у 2-й групі, за станом на 15 добу. На відміну від нормогомоцистеїнемії, за ГГЦ у подальшому спостерігали прогресивне зростання цього показника: рівень ТФР- β 1 у тварин 3-ої групи за станом на 45 добу був вищим на 57,4%, ніж за станом на 15 добу ($p < 0,05$), і вірогідно перевищував такий у тварин 2-ої групи на 115%. Застосування декамевіту та глутаргіну сприяло нормалізації динаміки сироваткового вмісту ТФР- β 1 упродовж репаративного остеогенезу за ГГЦ, і у випадку комбінованого застосування цих засобів вказаний ефект посилювався.

Отримані нами результати щодо стабільності змін вмісту ТФР- β 1 у сироватці крові щурів з переломами узгоджуються з даними інших дослідників. Так, у пацієнтів з переломами довгих кісток максимальне зростання вмісту ТФР- β 1 у сироватці крові спостерігали у перші два тижні після травми, в подальшому рівень цього показника поступово знижувався з настанням повної нормалізації лише через 12 міс [7]. У пацієнтів зі сповільненою консолідацією переломів довгих кісток реєстрували більш низькі рівні ТФР- β 1 в сироватці крові, ніж

Таблиця 4. Динаміка вмісту трансформуючого фактору росту- $\beta 1$ та активності лужної фосфатази в сироватці крові щурів дослідних груп за наявності або відсутності метаболічної корекції декамевітом та глутаргіном у різні терміни репаративної регенерації стегнової кістки ($M \pm m$, $n=7-8$)

№ групи	Характеристика груп	ТФР- $\beta 1$, пг/мл			Лужна фосфатаза, нмоль/хв·мл		
		15 доба	30 доба	45 доба	15 доба	30 доба	45 доба
1	Контроль	127 \pm 2,63	-	-	221 \pm 3,64	218 \pm 6,61	220 \pm 4,26
2	Перелом	265 \pm 4,97 ¹	186 \pm 3,65 ¹	148 \pm 4,20 ¹	307 \pm 3,74 ¹	290 \pm 3,43 ¹	252 \pm 5,43 ¹
3	Перелом + ГГЦ	202 \pm 4,84 ²	287 \pm 5,61 ²	318 \pm 6,88 ²	353 \pm 3,98 ²	372 \pm 5,40 ²	364 \pm 5,18 ²
4	Перелом + ГГЦ + декамевіт	239 \pm 5,14 ^{2,3}	217 \pm 6,99 ^{2,3}	162 \pm 6,30 ³	315 \pm 4,51 ³	285 \pm 3,84 ³	271 \pm 4,72 ^{2,3}
5	Перелом + ГГЦ + глутаргін	243 \pm 6,14 ^{2,3}	228 \pm 5,66 ^{2,3}	177 \pm 4,52 ^{2,3}	321 \pm 4,60 ^{2,3}	304 \pm 5,08 ^{2,3}	280 \pm 3,47 ^{2,3}
6	Перелом + ГГЦ + глутаргін + декамевіт	252 \pm 6,18 ³	192 \pm 5,61 ³	156 \pm 4,79 ³	311 \pm 3,98 ³	289 \pm 5,72 ³	267 \pm 3,79 ^{2,3}

Примітки: ¹ — $p < 0,05$ у разі порівняння 1-ої та 2-ої груп; ² — $p < 0,05$ відносно тварин 2-ої групи; ³ — $p < 0,05$ відносно тварин 3-ої групи

у осіб з нормальним зрощенням [7, 12]. У дослідках *in vitro* було доведено, що в процесі остеогенезу ТФР- $\beta 1$ проявляє біфазний ефект: на ранніх стадіях цей фактор дозозалежно стимулює диференціацію та проліферацію остеобластів, а на пізніх стадіях, навпаки, інгібує утворення кістки і пригнічує її мінералізацію [14]. ТФР- $\beta 1$ традиційно вважають активатором клітин остеобластичного диферону, але він також може стимулювати остеокластогенез і посилювати процеси резорбції кістки [14]. Отже, недостатнє підвищення ТФР- $\beta 1$ у сироватці крові на ранніх етапах після перелому та надмірне зростання його рівня на пізніх може бути одним із патогенетичних механізмів дисрегенерації довгих кісток за умов ГГЦ.

Біохімічним маркером, який відображає активність процесів ремоделювання кісткової тканини і характеризує стан остеобластів, вважають активність лужної фосфатази в сироватці крові. З'ясовано, що у період з 15 по 30 добу після перелому, який відповідає терміну остеобластичної диференціації регенерату, спостерігали помірне підвищення (на 38,9%) активності лужної фосфатази в сироватці крові з поступовим зниженням цього показника на 45 добу. За умов ГГЦ приріст активності лужної фосфатази був значно більшим (на 14,9–44,4% відносно другої групи) на всі терміни репаративного остеогенезу і тенденції до її зниження не реєстрували. З огляду на ГГЦ-індуковане пригнічення біосинтетичних процесів у кістковій тканині, виявлені зміни активності лужної фосфатази можуть вказувати на деструктивні процеси в остеобластах — головного

джерела кісткової лужної фосфатази. Можливість цього механізму зростання активності лужної фосфатази в процесі репаративного остеогенезу відзначають й інші дослідники [2]. Метаболічна корекція декамевітом та глутаргіном запобігала надмірному зростанню активності лужної фосфатази на 15 добу після перелому і сприяла нормалізації динаміки активності цього ферменту в подальшому.

Таким чином, перебіг репаративного остеогенезу супроводжується низкою метаболічних змін, які мають певну стадійність. Зокрема, на 15 добу після травми реєструються ознаки активації резорбційних (зростання вмісту вільного оксипроліну, ГАГ та кальцію в сироватці крові) та біосинтетичних процесів (зростання вмісту пептидов'язаного оксипроліну, ТФР- $\beta 1$ та лужної фосфатази в сироватці крові) у кістковій тканині, але на 45 добу репаративного остеогенезу більшість показників сироватки крові травмованих тварин повертається до норми. Однак, якщо перелом виникає на тлі ГГЦ, виразність та спрямованість біохімічних змін стають кардинально іншими — істотно поглиблюються ознаки резорбції кісткової тканини, пригнічуються процеси біосинтезу колагену, порушується кальцієвий баланс. Ми вперше показали, що негативний вплив ГГЦ на репарацію довгих кісток може реалізуватись через порушення регуляції формування остеоїду внаслідок зниженої продукції ТФР- $\beta 1$ у перші тижні після травми і його гіперпродукції у пізніші терміни. Декамевіт та глутаргін зменшують ГГЦ-індукований дисбаланс між процесами резорбції та біосинтезу кісткової тканини, що може

опосередковуватись через нормалізацію стабільності змін вмісту ТФР- β 1 в сироватці крові за переломів довгих кісток.

Отримані результати у перспективі можуть стати підґрунтям для оптимізації оцінки остеоіндуктивного потенціалу, прогнозування перебігу кісткової репарації та профілактики її порушень в осіб із синдромом ГГЦ.

Висновки

1. Перебіг репаративного остеогенезу у щурів з переломом стегнової кістки характеризувався низкою метаболічних змін: на 15 добу після травми в сироватці крові зростав вміст маркерів резорбції кістки — вільного оксипроліну (на 91,2%), ГАГ (на 22,0%) та кальцію (на 24,1%), виявляли ознаки посилення біосинтезу колагену (вміст пептидозв'язаного оксипроліну збільшився на 56,9%) та активації остеобластів (збільшувались вміст ТФР- β 1 та активність лужної фосфатази в сироватці крові). Більшість біохімічних параметрів сироватки крові щурів нормалізувалась на 45 добу перелому.

2. ГГЦ істотно змінювала стабільність та виразність змін біохімічних показників сироватки крові у випадку перелому стегнової кістки щурів: на 15 добу посилювались ознаки резорбції кісткової тканини, вдвічі збільшувалась екскреція кальцію з сечею, пригнічувались біосинтетичні процеси. В подальшому виявлені розлади поглиблювались. ГГЦ спричиняє дисрегуляцію репаративного остеогенезу через затримку зростання рівня ТФР- β 1 у сироватці крові у перші два тижні після травми і надмірним підвищенням (на 115%) системного рівня цього фактора на пізніх стадіях (30–45 доба) загоєння перелому.

3. Застосування гіпогомоцистеїнемічного засобу декамевіту (781 мг/кг сухої дісти) та донору оксиду азоту глутаргіну (200 мг/кг маси тіла) сприяло нормалізації метаболічних процесів у тканинах регенерату та забезпечувало природню стабільність змін вмісту ТФР- β 1 у сироватці крові. Найбільший протективний ефект виявлявся у разі комбінованого застосування декамевіту та глутаргіну.

Література

1. Артемчук М.А. Профілактично-лікувальна дія вітамінних та вітамінно-мікроелементних препаратів за гострої та

хронічної метіонінової гіпергомоцистеїнемії / М.А. Артемчук // *Biomed. Biosocial Anthropology*. — 2006. — № 7. — С. 17–20.

2. Біохімічні показники крові в різні терміни репаративного остеогенеза / В.З. Сікора, М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач // *Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. Труды Крымского гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского*. — 2007. — Т. 143, Ч. IV. — С. 84–86
3. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Системные факторы, влияющие на заживление перелома. (Сообщение 3) / Н.А. Корж, Н.В. Дедух, О.А. Никольченко // *Ортопед. травматол.* — 2006. — № 2. — С. 93–99.
4. Определение свободного и пептидно-связанного гидроксипролина в сыворотке крови / П.Н. Шараев, Е.П. Сахабутдинова, О.И. Лекомцева, С.В. Кошикова // *Клин. лабор. диагностика*. — 2009. — № 1. — С. 7–9.
5. Патогенетичні аспекти гіпергомоцистеїнемії та перспективи створення лікарських засобів для лікування патології, асоційованої з порушеннями обміну гомоцистеїну / О.О. Пентюк, М.Б. Луцок, Н.В. Заїчко та ін. // *Biomed. Biosocial Anthropology*. — 2008. — № 10. — С. 297–303.
6. Ролік О.В. Незрощення довгих кісток (аналіз, фактори ризику, лікувальна тактика) / О.В. Ролік, І.А. Засаднюк // *Ортопед. травматол.* — 2005. — № 2. — С. 61–64.
7. Трансформирующий фактор роста (ТФР)- β 1 как маркер замедленного сращения переломов / G. Zimmermann, P. Henle, M. Kusswetter et al. // *Ортопед. травматол.* — 2009. — № 1. — С. 57–65.
8. Ферментная стимуляция остеогенеза при несросшихся переломах и ложных суставах костей конечностей / В.И. Зоря, Н.В. Ярыгин, Е.Д. Склянчук, А.П. Васильев // *Вест. травматол. и ортопед. им. Н.Н. Приорова*. — 2007. — № 2. — С. 80–85.
9. Myocardial fibrosis and TGFB expression in hyperhomocysteinemic rats / L. Raaf, C. Noll, H. Cherifi Mel et al. // *Mol. Cell Biochem.* — 2011. — Vol. 347, № 1–2. — С. 63–70.
10. Nitric oxide modulates fracture healing / A.D. Diwan, M.X. Wang, D. Jang et al. // *J. Bone Miner. Res.* — 2000. — Vol. 15, № 2. — P. 342–351.
11. Saito M. Poor bone quality in diabetes and arteriosclerosis / M. Saito // *Clin. Calcium*. — 2009. — Vol. 19, № 9. — P. 1257–1268.
12. The effects of shockwave on bone healing and systemic concentrations of nitric oxide (NO), TGF-beta1, VEGF and BMP-2 in long bone non-unions / C.J. Wang, K.D. Yang, J.Y. Ko et al. // *Nitric Oxide*. — 2009. — Vol. 20, № 4. — P. 298–303.
13. The role of hyperhomocysteinemia as well as folate, vitamin B(6) and B(12) deficiencies in osteoporosis: a systematic review / M. Herrmann, J. Peter Schmidt, N. Umanskaya et al. // *Clin. Chem. Lab. Med.* — 2007. — Vol. 45, № 12. — P. 1621–1632.
14. Transforming growth factor-beta1 to the bone / K. Janssens, P. ten Dijke, S. Janssens, W. Van Hul // *Endocr. Rev.* — 2005. — Vol. 26, № 6. — P. 743–774.
15. Vitamin B(12) deficiency stimulates osteoclastogenesis via increased homocysteine and methylmalonic acid / B.L. Vaes, C. Lute, H.J. Blom et al. // *Calcif. Tissue Int.* — 2009. — Vol. 84, № 5. — P. 413–422.