

М.В.ПогорєловСумський державний
університет

УДК 616.71-001.52-076.4

**МІНЕРАЛЬНИЙ ОБМІН ТРАВМОВАНОЇ
КІСТКИ В НОРМІ ТА ПРИ ПОРУШЕННІ
ВОДНО-СОЛЬОВОГО БАЛАНСУ**

Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи "Морфофункціональні особливості перебудови скелета та внутрішніх органів в умовах порушення гомеостазу" (№ державної реєстрації 010U001287).

Ключові слова: репаративна регенерація, хімічний склад, атомно-абсорбційна спектроскопія, гіпергідратація.

Резюме. В роботі проведено вивчення хімічного складу регенерату великогомілкової кістки в нормі та за умов гіпергідратації у щурів зрілого віку. Отримані данні свідчать про поступове зростання вмісту мінеральних речовин та кальцію зі зниженням рівню води, заліза, калію та натрію в регенераті у тварин контрольної серії. Також відбувається різке зростання рівню марганцю та цинку в другій стадії репаративного процесу та міді – в останній строк спостереження. Гіпергідратація організму призводить до порушення хімічного складу регенерату (зниження вмісту кальцію в регенераті та порушення обміну макро- та мікроелементів), вираженість якого залежить від ступеню гіпергідрії.

*Надійшла: 12.04.2008
Прийнята: 17.08.2008*

Морфологія. – 2009. – Т. III, № 3. – С. 90-94.
© М.В.Погорєлов, 2009

Pogorelov M.V. Mineral exchange in traumatic bone in normal condition and under water-salt balance disturbance.

Summary. In this article has been studied chemical compound of the tibia regenerate in normal condition and during the overhydration on the adult rats. The dates that we found showed the increase of the mineral substances and Ca and decrease of the water, Fe, K and Na. Also the level of Mn and Zn increase in second stage of bone repair processes but Cu – in last term of research. Overhydration make a disorder of chemical compound (increase the level of Ca and disorders of the macro- and microelements metabolism).

Key words: bone repair, chemical compound, atomic-absorbing spectrometry, overhydration.

Вступ

Відомо, що обмінні процеси на клітинному і субклітинному рівнях забезпечуються функціонуванням близько 2000 ферментів, кожен з яких каталізує відповідну хімічну реакцію (Рудаков І.А. та співавт., 2005). У свою чергу, каталітична активність ферментів забезпечується кофакторами небілкового походження – органічними сполуками або неорганічними елементами (іонами металів – макро- (МаЕ) і мікроелементами (МіЕ)) (Скальний А.В., 2002). МіЕ, як і вітаміни, є найважливішими каталізаторами обмінних процесів і грають важливу роль в адаптації організму в нормі і в умовах патології (Ребров В.Г., 2003). Не дивлячись на те, що мінеральні речовини не володіють енергетичною цінністю, як білки, жири і вуглеводи, більшість ферментативних процесів в організмі неможливі без участі тих або інших мінеральних речовин. Добре відомо, що МіЕ мають широкий спектр синергетичних і антагоністичних взаємин. Так, показано, що між 15 відомими життєво необхідними елементами існує 105 двосторонніх і 455 тристоронніх взаємодій (Скальний А.В., 1999; Скальний А.В. та співавт., 2004). Це положення є природною основою для вивчення проявів і оцінки

розвитку дисбалансу мікроелементного гомеостазу, настільки характерного при дефіциті навіть одного есенціального елементу. Таким чином, важливий не лише рівень вмісту, недостатнє або надлишкове надходження в організм певних МіЕ, але й їхнє співвідношення.

Особливого значення вивчення обміну МаЕ та МіЕ набуває при дослідженні функціонування мінералізованих тканин. Наявність даних про їх елементний склад дозволяє опосередковано визначити рівень їх метаболізму та є показником функціональної активності тканини. В літературі є достатньо даних про макро- та мікроелементний склад кісток тканин в нормі та за умов впливу різноманітних екзогенних та ендогенних чинників (Vaananen H.K. et al., 2000; Аврунин А.С. та співавт., 2005). Достатньо вивченим є також мінеральний гомеостаз кісток при їх ушкодженні, хоча в доступній літературі висвітлюється в основному обмін МаЕ (Webb J.C., 2000; Кладченко Л.А. та співавт., 2001; Дєдх Н.В. та співавт., 2003; Корж Н.А. та співавт., 2006). Мікроелементний склад регенерату кісткової тканини в умовах протікання репаративного остеогенезу вивчений недостатньо. Відсутні також данні про елементний склад травмованого органу при бага-

тьох патологічних станах організму, зокрема при порушенні водно-сольового балансу. Патологія водно-електролітного обміну здатна порушувати процеси всмоктування, виведення та транспорту як МаЕ так і МіЕ, що може значно вплинути на їх рівень в крові та депо (Судаков К.В., 2000). Протікання репаративного остеогенезу в свою чергу супроводжується активізацією мінерального обміну, зрушення якого може призвести до дисрегуляторних змін.

Мета

Визначити особливості вмісту МаЕ та МіЕ в регенераті кістки тварин зрілого віку в нормі та за умов порушення водно-сольового балансу організму.

Матеріали та методи

Контрольній серії тварин (24 щура 6-ти місячного віку) в умовах стерильної операційної наносився дірчастий дефект з медіальної поверхні тіла середньої третини великогомілкової кістки. Місце нанесення травми було відібрано з урахуванням найменшого травматизму м'язів та магістральних судин, які відсутні в цій ділянці. Дефект наносився стоматологічним бором діаметром 1,5-2 мм під наркотановим інгаляційним наркозом з використанням наркозного апарату власної конструкції. Операційну рану зашивали, тварин виводили з наркозу та утримували в стаціонарних умовах віварію. Експериментальній серії тварин (72 щура 6-х місячного віку) моделювали гіпоосмолярну гіпергідратацію 3-х ступеней важкості. Для досягнення гіпергідрії тваринам кожен день зондово вводили дистильовану воду в кількості 10 мл тричі на добу. Також використовували виварені знесолені харчі для зменшення надходження солей в організм. Для запобігання фізіологічної підтримки водного гомеостазу та досягнення необхідного ступеню гідратації щурам вводили синтетичний аналог АДГ (вазопресину) – «Минирін» (Ferring). Препарат має виражену антидіуретичну дію і вводився тваринам зондово разом з питною водою 2 рази на добу у дозі 0,01 мг. Тривалість моделювання гіпергідрії залежала від її ступеню: легка – 10 днів (зростання гідратації на 5%), середньої тяжкості – 15 днів (зростання гідратації на 8%) та важкого ступеню – 25 днів (зростання гідратації на 15%). При моделюванні гіпоосмолярного синдрому враховували осмолярність плазми нижче 280 мосм/кг та концентрацію вмісту натрію менше за 135 ммоль/л. Для постановки експерименту ми використовували показник "дискременту осмолярності", що є діагностичним критерієм гіпоосмолярної гіпергідрії та визначається за формулою Dogvant: Осмолярність плазми (в мосм на 1 кг води) = $1,86 \cdot \text{Na}(\text{в моль/л}) + \text{глюкоза}(\text{в моль/л}) + \text{сечовина}(\text{в моль/л}) + 9$. Тваринам наносився дефект великогомілкової кістки при досягненні відповідного ступеню гіпергідрії.

Щурів виводили з експерименту через 3, 10,

15 та 24 доби після нанесення перелому, що відповідає основним стадіям репаративного остеогенезу за А.А.Корж, Н.В.Дедух (2006). Вилучалися травмовані великогомілкові кістки, з яких вирізали ділянку дефекту для дослідження елементного статусу органа.

Вилучені ділянки кістки зважувались з точністю до 0,001 г, спалювались в муфельній печі при температурі 450⁰С для видалення органічної матриці (Sunderman F.W. et al., 2000). Після отримання попелу проводили його розчинення в суміші соляної (2 мл) та азотної (1 мл) кислот та доводили об'єм розчину до 10 мл бідистильованою водою (Butala S.J. et al., 2006). Отриманий розчин аналізували на спектрофотометрі С115-01 з полумєневим та електротермічним атомізатором. Вибір методу атомізації ґрунтувався на концентрації елемента в розчині. Методом полумєневої атомізації визначали вміст кальцію, натрію, калію, міді, цинку та заліза, методом електротермічної атомізації – рівень марганцю та магнію. Перед визначенням кожного елемента будували калібрувальний графік, використовуючи стандартні розчини елементів (ГСОРМ) (Zareba S. et al., 2005). При калібруванні використовували не менше чотирьох відомих концентрацій. Після проведення процедури визначення вмісту елемента в розчині, вводили масу зразка та отримували концентрацію елемента в 1 г досліджуваної тканини. Для наглядного представлення результатів дослідження вміст кальцію, натрію та калію перераховували у відсоток до загальної ваги зразка, концентрацію інших елементів наводили в мкг/г вологої тканини. Проведення вимірів та розрахунків проводили з використанням програми AAS-SPECTR. Статистичну обробку отриманих результатів проводили в програмі MS EXCEL з використанням критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Вивчення хімічного складу проводилось в ділянці дефекту з материнською кісткою. Рівень води в досліджуваних зразках на третю добу після дефекту складає 64,19%. Високий вміст вологи в кістках пояснюється наявністю посттравматичної гематоми, яка містить значну кількість води. Наявність дефекту, що заповнений клітинами крові з низьким вмістом мінеральних речовин, призводить до зменшення їх рівня в досліджуваних зразках. Так в даний термін спостереження у тварин контрольної серії рівень мінеральної складової становить 10,04%. Вміст кальцію при цьому дорівнює 5,82%, гідрофільних елементів натрію та калію відповідно 23,81% та 9,43%. Вміст міді, цинку, магнію, заліза та марганцю в даний термін спостереження складає відповідно 29,54 мкг/г, 236,7 мкг/г, 12,7 мкг/г, 300,88 мкг/г та 10,77 мкг/г.

Через 10 днів після травми хімічний склад ділянки дефекту дещо відрізняється від попереднього терміну спостереження. Відбувається

незначне зростання вмісту кальцію, що свідчить про початок процесів осифікації. Відбувається зниження рівню вологи, натрію, калію, міді та заліза майже у 2 рази, що свідчить про регресію гематоми та зменшення кількості клітин крові та червоного кісткового мозку в зоні перелому. Натомість різко зростає рівень цинку (316,47 мкг/г) та марганцю (16,37 мкг/г), що можливо пов'язано з участю даних елементів в активації ферментів, які приймають участь в остеогенезі та відновленні ушкодженої кістки.

Через 15 днів після нанесення дефекту хімічний склад ділянки дефекту характеризується зростанням вмісту кальцію до 14,82%. У зв'язку з регресією гематоми в даний термін зменшується вміст заліза, міді, натрію та калію. Майже у 2 рази зменшується вміст марганцю – до 7,93 мкг/г. Зростає рівень магнію та цинку, що приймають участь в якості коферментів лужної фосфатази та у кальцифікації органічного матриксу.

Хімічний склад травмованої ділянки кісток в останній термін спостереження характеризується зростанням вмісту кальцію до 24,09%. Характерним для даного терміну репаративного остеогенезу є різке підвищення рівню міді, концентрація якої складає 27,54 мкг/г, що майже в 3 рази перевищує показники попередніх термінів спостереження. Таке різке збільшення вмісту міді можна пояснити її ключовою участю в процесах кальцифікації в якості коферменту.

Визначення хімічного складу ділянки регенерату кісток щурів, що перебували в умовах гіпоосмолярної гіпергідрії легкого ступеню, не показало зрушень у обміні основних макро- та мікроелементів кісткової тканини. Так рівень кальцію, магнію, калію, марганцю та міді недо-

стовірно відрізняється від контролю протягом усіх термінів спостереження.

При аналізі хімічного складу досліджуваних зразків методом атомної абсорбційної спектроскопії в умовах середнього ступеню гіпергідрії відмічається як зменшення вмісту кальцію в досліджуваних кістках в цілому так і дисбаланс інших елементів матриксу, що не спостерігалось при гіпергідрії легкого ступеню. Різниця з контролем для кальцію складає відповідно строкам спостереження 5,88%, 6,72%, 6,27% та 4,32%. Відбувається також зменшення рівню марганцю та міді від 4,38% до 8,62%. Не зважаючи на гіпергідрію, вміст натрію та калію майже не змінюється.

Вивчення травмованих ділянок кісток експериментальних тварин при важкому ступені гіпергідратації показало глибокі зрушення мінерального метаболізму (рис. 1). Абсолютний вміст кальцію в травмованих кістках зменшується. Так, різниця з контролем відповідно стадіям складає 6,89%, 7,23%, 6,75% та 5,03%. Незважаючи на зростання вмісту вологості кісток на 9,29-14,32%, рівень вмісту натрію та калію залишається в межах норми, що пов'язане з особливостями підготовки зразків до аналізу, яка включає повне зневоднення. Спостерігається зменшення вмісту марганцю, міді та цинку – елементів, які каталізують важливі процеси кісткоутворення та виступають у якості коферментів важливих кісткових ензимів. Так через 5 днів після травми їх рівень зменшується відповідно на 7,12%, 9,26% та 7,39%, через 10 днів – на 10,75%, 12,73% та 9,16%, через 15 днів – на 10,06%, 6,02% та 6,39%, різниця з контролем через 24 доби складає 6,88%, 6,18% та 4,02%.

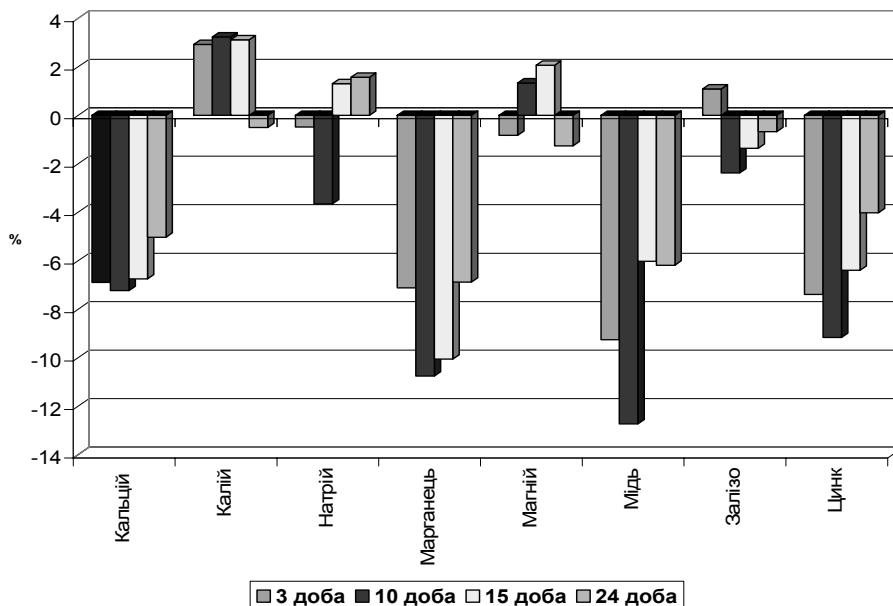


Рис. 1. Динаміка змін макро- та мікроелементного складу регенерату кісток щурів в умовах важкого ступеню гіпоосмолярної гіпергідрії.

Підсумок

Хімічний склад травмованих ділянок кісток контрольних тварин характеризується поступовим зростанням вмісту мінеральних речовин та кальцію і зниженням рівню води, заліза, калію та натрію, що характеризує регресію гематоми, формування кісткової тканини з її мінералізацією. Характерним є різке зростання рівню марганцю та цинку в другій стадії репаративного процесу та міді – в останній строк спостереження, що ймовірно є свідченням їх участі в процесі зв'язування органічного матриксу.

Легкий та середній ступінь гіпергідратації не призводить до значних зрушень мінерального

гомеостазу під час протікання репаративної регенерації. Натомість важкий ступінь порушень водно-електролітного балансу супроводжується зниженням вмісту кальцію в регенераті та порушенням обміну CaE та MiE , особливо марганцю, міді та цинку.

Перспективи подальших досліджень

В подальшому планується вивчення особливостей елементного статусу регенерату та кісткової тканини при порушеннях водно-сольового балансу у тварин молодого та старечого віку а також пошук засобів корекції порушень мінерального обміну.

Літературні джерела

Биоэлементология : основные понятия и термины / Рудаков И. А., Нотова С. В., Бурцева Т. И. [и др.]. – Оренбург : ИПК ГОУ ОГУ, 2005. – 50 с.

Дедух Н. В. Регенерація кісткової тканини при остеопорозі (експериментальне дослідження) / Н. В. Дедух, О. А. Нікольченко, А. М. Побел // Український медичний альманах. – 2003. - Т. 6, № 2. – С. 66-69.

Корж Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Локальные факторы, влияющие на заживление перелома / Н. А. Корж, Л. Д. Горидова, К. К. Романенко // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - № 2. - С. 99-105.

Корж Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации / Н. А. Корж, Н. В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - № 1. - С. 76-84.

Особенности метаболизма компонентов регенерата кости при различных условиях репаративного остеогенеза / Л. А. Кладченко, Л. Д. Горидова, С. В. Малышкина, К. К. Романенко // Український медичний альманах. - 2001. - Т. 4, № 4. - С. 67-72.

Ребров В. Г. Витамины и микроэлементы / В. Г. Ребров, О. А. Громова. – М. : Алев-В, 2003. - 674 с.

Скальный А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков – М. : Мир, 2004. – 272 с.

Скальный А. В. Микроэлементозы у детей / А. В. Скальный, Г. В. Яцык, Н. Д. Одинаева. – М. : КМК, 2002. - 151 с.

Скальный А. В. Микроэлементозы человека

/ А. В. Скальный - М. : 1999. - 96 с.

Уровни организации минерального матрикса костной ткани и механизмы, определяющие параметры их формирования / Аврунин А. С., Тихилов Р. М., Аболин А. Б., Щербак И. Г. // Морфология. – 2005. – Т. 127, № 2. – С. 78-82.

Физиология. Основы и функциональные системы: [Курс лекций] / [Под ред. К. В. Судакова]. - М. : Медицина, 2000. - С. 256-264.

Butala S. J. Atomic absorption spectrophotometry methodology for the quantitative analysis of mercury in fish and hair / S. J. Butala, L. P. Scanlan, S. N. Chaudhuri // J. Food Prot. – 2006. – Vol. 69, № 11. – P. 2720-2728.

Dong Y. G. Determination of Na in anticoagulant sodium heparin by flame atomic absorption spectrophotometry / Dong Y. G., Shen H. J. // Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi. - 2002. – Vol. 22, № 4. – P. 689-90.

Electrothermal atomic absorption spectrophotometry of nickel in tissue homogenates / F. W. Sunderman, A. Marzouk, M. C. Crisostomo, D. R. Weatherby // An. Clin. Lab. Sci. – 1985. - Vol. 15, № 4. – P. 299-307

The cell biology of osteoclast function / H. K. Vaananen, H. Zhao, M. Mulari, J. M. Halleen // J. Cell Sci. – 2000. – Vol. 113. – P. 377-381.

Webb J. C. A review of fracture healing / J. C. Webb, J. Tricker // Current orthopedics. - 2000. - Vol. 14. - P. 457-463.

Zareba S. Determination of Fe(II) and Zn(II) by spectrophotometry, atomic absorption spectrometry and ions chromatography methods in Vitrum / S. Zareba, K. Szarwilo, A. Pomykalski // Farmaco. – 2005. – Vol. 60, № 5. – P. 459-464.

Погорелов М.В. Минеральный обмен травмированной кости в норме и при нарушении водно-солевого баланса.

Резюме. В работе проведено изучение химического состава регенерата большеберцовых костей в

норме и при гипергидратации у крыс зрелого возраста. Полученные данные свидетельствуют о постепенном приросте минеральных веществ и кальция на фоне снижения уровня воды, железа, калия и натрия. Также происходит стремительный рост уровня марганца и цинка во второй стадии репаративного процесса и меди – в последний срок наблюдения. Гипергидратация организма приводит к нарушениям химического состава регенерата (снижение содержания кальция в регенерате и нарушение обмена макро- и микроэлементов), выраженность которых зависит от степени гипергидрии.

Ключевые слова: репаративная регенерация, химический состав, атомно-абсорбционная спектроскопия, гипергидратация.