

## РЕАКЦІЯ БІЛКІВ ГОСТРОЇ ФАЗИ У СОБАК З ПЕРЕЛОМАМИ КІСТОК ПЕРЕДПЛІЧЧЯ

О. В. Єрошенко

Білоцерківський національний аграрний університет

*Досліджено динаміку гострофазних білків у собак за переломів кісток передпліччя. Виявлені особливості продукції білків гострої фази у собак за переломів кісток передпліччя від моменту травми до репозиції кісткових уламків та на різних стадіях репаративного остеогенезу. Встановлено, що найбільш діагностичними маркерами запальної реакції у собак є такі гострофазні білки як гаптоглобін, церулоплазмін та фібриноген.*

**Ключові слова:** БІЛКИ ГОСТРОЇ ФАЗИ, ПЕРЕЛОМИ КІСТОК, ПЕРЕДПЛІЧЧЯ, СОБАКИ

Хірургічна патологія в умовах міста серед дрібних домашніх тварин досить поширена і становить близько 43 % [1], однією із основних причин її розвитку є травматизм, частота якого складає 42–55 % серед хірургічно хворих дрібних домашніх тварин [2]. Найбільш складними наслідками травм є різні за локалізацією та ступенем складності переломи трубчастих кісток, що займають близько 85 % від загальної кількості травматичних ушкоджень кісток у собак. У останніх найчастіше травмується стегнова кістка (33,7 % від загальної кількості свіжих переломів), а далі у порядку зменшення — кістки гомілки (29,1 %), передпліччя (12,8) і плечова кістка (10,5), кістки пальців (5,8), п'ястка (4,7) і плесни (3,5 %) [3].

Останнім часом переломам кісток у собак приділяється велика увага. Проте дослідники, головним чином, звертали увагу на обґрунтування технічних прийомів і засобів оперативного лікування переломів кісток, удосконалюючи інтрамедулярний, накостний, кортикальний чи зовнішній черезкістковий остеосинтез [4–9].

Водночас процес репаративної регенерації кісток надзвичайно складний і включає запальну реакцію, резорбцію кісткової тканини, її мінералізацію та ремоделювання кісткового регенерату. Він є багатofакторним і в значній мірі залежить від цитокінового профілю імунної системи, активація якої супроводжується посиленням синтезу і метаболізму білків гострої фази [10]. Це все в цілому спонукає до подальшого вивчення патогенетичних механізмів запальної реакції, а саме особливостей продукції гострофазних білків при травмі кісток, як невід'ємної складової їх репаративної регенерації.

Метою досліджень було встановити динаміку продукції різних груп білків гострої фази під час запально-репаративного процесу за переломів кісток передпліччя у собак.

### Матеріали і методи

Роботу виконували на собаках із спонтанними діафізарними переломами кісток передпліччя (n=5), які надходили у хірургічну клініку Білоцерківського національного аграрного університету. Контрольними були клінічно здорові собаки (n=15), які підлягали обстеженню у зв'язку із плановими щепленнями. Діагноз на перелом кісток передпліччя встановлювали за сукупністю клінічних та рентгенологічних ознак.

У дослідній групі після загального ацепромазин-кетамінового наркозу та місцевого знеболювання тваринам проводили репозицію кісткових уламків та накладали гіпсову пов'язку. За тваринами вели клінічні спостереження та рентгенологічний контроль у відповідності до фаз запальної реакції та репаративного остеогенезу. В післяопераційний період тваринам проводили антибіотикотерапію цефазоліном у загальноприйнятих дозах протягом 7 днів.

Проби крові відбирали через 6, 12 та 24 години після травми, а також на 3-, 10- 30- та 60-ту добу після накладання гіпсової пов'язки. Наборами фірми «Реагент» (Україна) у сироватці крові визначали вміст церулоплазміну методом Равіна, гаптоглобіну за реакцією з риванолом, загального білка за біуретовою реакцією, альбуміну за реакцією з бромкрезоловим зеленим. У плазмі крові визначали вміст фібриногену [11],  $\alpha_1$ -інгібітора протеїназ ( $\alpha_1$ -ІІІ) та  $\alpha_2$ -макроглобуліну ( $\alpha_2$ -М) за методами К. М. Веремеєнка зі співавт [12].

### Результати й обговорення

Згідно з проведеними дослідженнями (табл. 1) уміст в сироватці крові загального білка у клінічно здорових тварин був на рівні  $67,5 \pm 1,2$  г/л, проте у доопераційний період через добу після травмування відмічали його вірогідне зменшення —  $62,7 \pm 2,2$  ( $p < 0,05$ ). Через 3 доби після накладання гіпсової пов'язки спостерігали максимальне зниження загального білка  $61,1 \pm 1,0$  ( $p < 0,01$ ) порівняно із тваринами контрольної групи. В подальшому відбувалося поступове збільшення його вмісту в сироватці крові, але на 10-ту добу після лікування, ще спостерігали вірогідну різницю між групами —  $63,1 \pm 1,0$  ( $p < 0,05$ ) г/л.

Альбумін відноситься до негативних реактантів гострої фази, концентрація якого за розвитку запальної реакції знижується. Це є важливим показником розвитку запальної реакції, а ступінь його зниження в сироватці крові має досить високе прогностичне значення [13]. Згідно з проведеними дослідженнями його вміст у сироватці крові клінічно здорових собак становив  $42,6 \pm 0,9$  г/л. Через 12 годин після травмування встановлено вірогідне зниження концентрації альбуміна  $36,8 \pm 2,3$  г/л ( $p < 0,05$ ), яке мало місце і через добу після пошкодження —  $36,3 \pm 2,2$  г/л ( $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що найбільшого прояву гіпоальбумінемія досягла на 3-ю добу після накладання гіпсової пов'язки —  $33,6 \pm 1,2$  г/л ( $p < 0,001$ ). У подальшому на 10-, 30- та 60-ту добу запально-репаративного процесу за переломів кісток передпліччя у собак спостерігали поступове збільшення його рівня в сироватці крові.

Водночас гаптоглобін відноситься до головних гострофазних білків. Він запобігає втраті заліза, формуючи надзвичайно стійкі комплексні з'єднання з вільним гемоглобіном у крові. В такий спосіб, як вважають [14], гаптоглобін має бактеріостатичний ефект, обмежуючи доступність заліза, необхідного для бактерійного росту. За результатами проведених досліджень встановлено, що вміст гаптоглобіну у клінічно здорових тварин знаходиться у межах  $1,6 \pm 0,03$  г/л. У собак за переломів кісток передпліччя вже через 6 годин після нанесення травми спостерігали вірогідне збільшення вмісту в сироватці крові цього гострофазного білка до  $1,72 \pm 0,02$  г/л ( $p < 0,01$ ) та утримання його на високому рівні до 24 години травматичного періоду —  $1,82 \pm 0,04$  г/л ( $p < 0,001$ ), що в 1,2 раза вище за показник клінічно здорових собак. В подальшому на третю добу після проведення консервативного методу лікування переломів у тварин встановлено найвище значення гаптоглобіну за весь період дослідження —  $1,94 \pm 0,01$  г/л ( $p < 0,001$ ). Проте на 10-, 30- та 60-ту добу репаративного остеогенезу спостерігалася тенденція до зниження вмісту цього гострофазного білка в крові, але його концентрації залишалися ще досить високими —  $1,85 \pm 0,01$  г/л ( $p < 0,001$ ),  $1,8 \pm 0,02$  г/л ( $p < 0,001$ ), та  $1,7 \pm 0,01$  г/л ( $p < 0,01$ ), відповідно, порівняно із показником клінічно здорових собак. До гострофазних білків також відноситься церулоплазмін —  $\alpha_2$ -глікопротеїн, що зв'язує 90–95 % міді плазми крові. Велика кількість церулоплазміна синтезується гепатоцитами та легеними епітеліоцитами. Він відіграє роль подібну з супероксиддисмутазою, захищаючи клітинні мембрани від пошкодження, а також здатний інгібувати фермент мієлопероксидазу. Протизапальна активність церулоплазміну зумовлена його здатністю інактивувати гістаміназу сироватки крові [15]. За результатами представлених досліджень рівень у крові церулоплазміну у клінічно здорових собак складає  $90,4 \pm 4,3$  мг/л.

За переломів кісток передпліччя його вміст вірогідно збільшувався на 12 годину після травмування —  $106,5 \pm 4,9$  мг/л ( $p < 0,01$ ), та утримувався на такому рівні до 24 години —  $100,0 \pm 7,5$  мг/л ( $p < 0,05$ ). За весь період дослідження на третю добу після репозиції кісткових уламків та їх фіксації іммобілізуючою пов'язкою спостерігали пікове значення цього гострофазного білка —  $137,5 \pm 8,8$  мг/л ( $p < 0,001$ ), що в 1,5 раза перевищує показник клінічно здорових тварин. Починаючи з 10-ї доби репаративного остеогенезу, відмічалася тенденція до зниження його вмісту —  $120,0 \pm 4,5$  мг/л ( $p < 0,001$ ), але вірогідна різниця між групами зберігалася на 30- та 60-ту добу —  $110,8 \pm 2,1$  мг/л ( $p < 0,001$ ),  $104,0 \pm 2,7$  мг/л ( $p < 0,001$ ), відповідно.

Відомо [16], що фібриноген є не тільки важливим білком згортання крові, але й позитивним реактантом гострої фази запалення. Він є джерелом утворення фібринопептидів, що володіють протизапальною активністю. Його вміст у плазмі крові здорових собак становив  $1,73 \pm 0,15$  г/л. У собак дослідної групи його концентрація починала збільшуватися з 12 години після перелому —  $3,2 \pm 0,2$  г/л ( $p < 0,001$ ), а через добу досягла  $3,67 \pm 0,2$  г/л ( $p < 0,001$ ), що у 2,1 раза перевищувало показник клінічно здорових собак. Однак максимального значення концентрація фібриногену досягла на 3-ю добу після операції —  $4,16 \pm 0,2$  г/л ( $p < 0,001$ ), що в 2,4 раза вище за таку у тварин контрольної групи. Починаючи з 10-ї доби, його рівень поступово знижувався до  $4,16 \pm 0,2$  г/л ( $p < 0,001$ ), але залишався досить високим і на 30-у добу репаративного остеогенезу —  $3,6 \pm 0,4$  г/л ( $p < 0,01$ ).

Білок  $\alpha_1$ -ІІ інактивує протеїнази гранулоцитів, що вивільняються при руйнуванні тканин, і гальмує дію нейтрофільної еластази. Його провідна роль у регуляції активності протеїназ у разі дефіциту до певної міри компенсується  $\alpha_2$ -МГ [12, 17]. Згідно з проведеними дослідженнями рівень  $\alpha_1$ -ІІ у плазмі крові знаходився в межах  $61,4 \pm 3,9$  мкмоль/л. Починаючи з 6-ї години після перелому його вміст починав поступово збільшуватися до  $73,0 \pm 5,9$  мкмоль/л та утримувався фактично без змін до 24-ї години —  $77,0 \pm 9,9$  мкмоль/л. На 3-ю, 10-у та 30-у добу запально-репаративного процесу за переломів кісток передпліччя його концентрація поступово знижувалася —  $75,4 \pm 5,8$  мкмоль/л,  $73,6 \pm 5,9$  та  $70,1 \pm 2,5$  мкмоль/л, відповідно. Проте слід зазначити, що за весь період дослідження вірогідної різниці за показником  $\alpha_1$ -ІІ між групами не встановлено.

$\alpha_2$ -Макроглобулін також відноситься до позитивних гострофазних білків плазми крові. Він має здатність інгібувати активність широкого спектру протеолітичних ферментів, у тому числі таких, які беруть участь у процесах ангиогенезу, клітинної адгезії, синтезу, активації і деградації цитокінів та факторів росту [18]. Він є найважливішим фактором захисту сполучної тканини від деструктивної дії ендогенних протеїназ [19]. Як видно із таблиці 1, вміст  $\alpha_2$ -МГ у плазмі крові здорових собак становив  $2,15 \pm 0,05$  г/л. У собак із переломами кісток передпліччя його концентрація у плазмі крові мала тенденцію спочатку до зниження  $1,95 \pm 0,17$  г/л, а потім на 10-ту добу репаративного остеогенезу до збільшення —  $2,28 \pm 0,08$  г/л. ( $p > 0,05$ )

Таким чином, динаміка ряду білків гострої фази за переломів кісток передпліччя в цілому співпадає з такою за фрактур стегнової кістки, встановлену нами раніше [20], тобто притаманна загалом для подібних травм довгих трубчастих кісток. Вона відображає зміну фаз запально-регенеративного процесу в зв'язку із травмою кісткової тканини. Разом з тим достатньо підвищений вміст у крові протягом майже всього періоду досліджень гаптоглобіну, церулоплазміну та фібриногену свідчить про доволі неоднозначну їх роль у репаративному остеогенезі, що потребує подальших досліджень. Водночас наші попередні дослідження [21] свідчать, що застосування після остеосинтезу довгих трубчастих кісток імуностимулювальних засобів (нуклеїнат натрія, тіотриазолін) сприяє підвищенню інгібіторного потенціалу крові, особливо за рахунок  $\alpha_2$ -макроглобуліну, а це супроводжується прискоренням загоєння переломів.

## Висновки

1. Встановлені особливості продукції білків гострої фази у собак за переломів кісток передпліччя від моменту травми до репозиції кісткових уламків та на різних стадіях репаративного остеогенезу.

2. У собак за переломів кісток передпліччя спостерігаються зменшення вмісту в сироватці крові через добу після травми загального білку та гіпоальбумінемія вже з 6-ї години після

травмування, яка максимально проявляється на 3-ю добу після репозиції кісткових уламків та накладання гіпсової пов'язки.

3. Гаптоглобін, фібриноген та церулоплазмін як білки гострої фази можуть бути діагностично-прогностичними маркерами контролю та перебігу запально-регенеративного процесу за переломів кісток передпліччя у собак, проте їх роль у репаративному остеогенезі є неоднозначною.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективним є дослідження динаміки білків гострої фази в умовах корекції запально-регенеративного процесу за переломів довгих трубчастих кісток у собак.

*O. Yeroshenko*

## **ACUTE PHASE RESPONSE IN DOGS WITH FEMORAL FRACTURES**

### **S u m m a r y**

The dynamic of acute phase proteins in dogs with forearms fractures was investigated. The features of acute phase protein production in dogs with forearms fractures were shown. It is established that the most diagnostic markers of inflammatory reaction in dogs are such acute phase reagents are haptoglobin, caeruloplasmin and fibrinogen.

*O. B. Eroshenko*

## **РЕАКЦИЯ БЕЛКОВ ОСТРОЙ ФАЗЫ У СОБАК С ПЕРЕЛОМАМИ КОСТЕЙ ПРЕДПЛЕЧЬЯ**

### **А н н о т а ц и я**

Исследована динамика острофазных белков у собак при переломах костей предплечья. Выявлены особенности продукции белков острой фазы у собак при переломах костей предплечья с момента травмы до репозиции костных обломков и на разных стадиях репаративного остеогенеза. Установлено, что наиболее диагностическими маркерами воспалительной реакции у собак являются такие острофазные белки как гаптоглобин, церулоплазмин и фибриноген.

1. *Пустовіт Р. В.* Моніторинг хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин ДЛІВМ у Київському районі м. Одеси за 2003–2005 рр. / Р. В. Пустовіт, Ю. М. Данилейко, М. В. Рубленко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. — Біла Церква, 2006. — Вип. 36. — С. 132–137.

2. *Авраменко Т. О.* Особливості травматизму у собак в умовах великого міста / Т. О. Авраменко, Л. Г. Стецюра, В. Б. Борисевич // Наук. вісник націон. аграрн. ун-ту. — Київ, 2001. — Вип. 38. — С. 63–67.

3. *Київська Г. В.* Вплив низькоінтенсивного інфрачервоного лазерного випромінювання на репаративні процеси при переломах кісток у собак : автореф. дис...канд. вет. наук : спец. 16.00.05 «Ветеринарна хірургія» / Г. В. Київська. — Київ, 2007. — 20 с.

4. *Петренко О. Ф.* Раціональні методи остеосинтезу та стимуляція репаративного остеогенезу у тварин : автореф. дис...докт. вет. наук : спец. 16.00.05 «Ветеринарна хірургія» / О. Ф. Петренко. — Біла Церква, 2002. — 34 с.

5. *Транквилевский Д. В.* Сравнительная оценка заживления переломов трубчатых костей у собак после применения аппарата внешней фиксации и интрамедуллярного остеосинтеза : автореф. дис... канд. вет. наук : спец. 16.00.05 «Ветеринарная хірургія» / Д. В. Транквилевский. — Воронеж, 2000. — 22 с.

6. *Шевцова В. И.* Метод чрескостного остеосинтеза / В. И. Шевцова, А. А. Шрейнер, Л. А. Попова // Ветеринария. — 2000. — № 2. — С. 56–60.

7. Степанов М. А. Способ лечения проксимальных эпифизеолізів плечової кістки у малих домашніх тварин : Мат-лы XV Московського міжнародного конгресу по хворобам малих домашніх тварин, 21–23 квітня 2007 р. : тези докл / М. А. Степанов. — М., 2007. — С. 87–88.
8. Дорошук В. О. Стимуляція репаративної регенерації кісткової тканини у собак : автореф. дис... канд. вет. наук : спец. 16.00.05 «Ветеринарна хірургія» / В. О. Дорошук. — Біла Церква, 2004. — 19 с.
9. Смурна О. В. Застосування екстракортикального остеосинтезу та гідроксилапатиту «КЕРГАП» при переломах клубової кістки у собак : автореф. дис... канд. вет. наук : спец. 16.00.05 «Ветеринарна хірургія» / О. В. Смурна. — Біла Церква, 2009. — 20 с.
10. Корж Н. А. Репаративная регенерация кости : современный взгляд на проблему. Методы тканевой терапии и генной инженерии (сообщение 6) / Н. А. Корж, Н. В. Дедух, Н. А. Ашукина // Ортоп, травм. и протез. — 2006. — № 3. — С. 93–99.
11. Беліцер В. О. Кількісне визначення фібриногену в плазмі крові людини / В. О. Беліцер, Т. В. Варецька та ін. // Лабор. діагностика. — 1997. — № 2. — С. 53–55.
12. Веремеєнко К. Н. Протеоліз в нормі і при патології / К. Н. Веремеєнко, О. П. Голобородько, А. І. Кизим. — К. : Здоров'я, 1988. — 200 с.
13. Родоман Г. В. Сывороточный альбумин при синдроме системной воспалительной реакции / Г. В. Родоман, Т. И. Шалаева, Г. Е. Добрецов и др. // Анестез. и реанимат. — 2006. — № 2. — С. 62–64.
14. Petersen H. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry / H. H. Petersen, J. P. Nielsen, P. M. Heegaard // Vet. Res. — 2004. — № 35 — P. 163–187.
15. Ващенко В. І. Церулоплазмин — от метаболита до лекарственного средства психофармакология и биологическая наркология / В. І. Ващенко, Т. Н. Ващенко. — 2006. — Т. 6, вып. 3.
16. Blomback. Fibrinogen and fibrin — proteins in haemostasis and thrombosis // Tromb. Res. — 1996 — 83, № 1. — P. 1–75.
17. Janciauskiene S. M. The discovery of  $\alpha$ 1-antitrypsin and its role in health and disease / S. M. Janciauskiene et al. // Respir Med. — 2011.
18. Зорин Н. А. Универсальный регулятор —  $\alpha$ -2-макроглобулин / Н. А. Зорин, В. Н. Зорина, Р. М. Зорина, В. Г. Левченко // Клинич. лаб. диагностика. — 2004. — № 11. — С. 18–22.
19. Bode J. G. The inhibitory effect of IL-1 beta on IL-6-induced alpha 2-macroglobulin expression is due to activation of NF-kappa B / J. G. Bode, R. Fischer, D. Haussinger et al. // J. Immunol. — 2001. — V. 167. — P. 1469–1481
20. Рубленко М. В. Реакція гострої фази у собак з переломами стегнової кістки / М. В. Рубленко, О. В. Єрошенко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. — Біла Церква, 2011. — Вип. 8 г/л (87). — С. 138–143.
21. Пустовіт Р. В. Застосування тіотриазоліну та нуклеїнату натрію для корекції гемостазу і стимуляції загоєння переломів трубчастих кісток у собак / Р. В. Пустовіт, М. В. Рубленко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. — Біла Церква, 2007. — Вип. 48. — С. 72–76.

**Рецензент:** провідний науковий співробітник лабораторії фізіології і патології відтворення, кандидат біологічних наук, с. н. с. Андрушко О. Б.