

О.Д. БОНДАРЧУК^{1,2}

ВИЗНАЧЕННЯ ЧИННИКІВ РОСТУ ТА ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ РІЗНОГО ТИПУ В ДИНАМІЦІ СПОСТЕРЕЖЕНЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТРАВМІ КЛУБОВОЇ КІСТКИ КРОЛІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ БІОКОМПОЗИТУ «СИНТЕКІСТКА»

¹*Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова
(ректор – проф. В.В. Петрушенко);*

²*КНП «Вінницька обласна клінічна лікарня ім. М.І. Пирогова ВОР»
(директор – В.В. Паненко)*

В останні десятиліття багато уваги приділяється застосуванню експериментальних моделей різних патологічних процесів для визначення основних механізмів їх патогенезу і вивчення дії нових фармакотерапевтичних засобів [4, 6, 7]. До складних для відтворення відносяться моделі травматичних уражень кісткового апарату і, особливо, ті з них, що супроводжуються суттєвою реакцією нервової тканини і її структур, наприклад, черепно-мозкові травми (ЧМТ). Нами було створено модель травми клубової кістки кроля без ураження структур кісткового мозку та проведено експериментальне лікування ураженої ділянки із застосуванням біокомпозиту «Синтекістка» [8] з динамічним морфологічним контролем стану травми протягом 12 міс. спостережень, а також визначено вплив хірургічного лікування із застосуванням гідроксипатитного біокомпозиту [5].

Для визначення патофізіологічних основ ефективної експериментальної терапії травми кістки у тварин та механізмів репарації доцільним було визначити кількісний вміст чинників росту та прозапальних цитокінів в сироватці крові кролів в таких групах і в такі терміни: «0» – вихідний вміст до початку експерименту; «1» – вміст через 1 міс. після нанесення травми без застосування біокомпозиту; «2» – через 1 міс. після травми із застосуванням біокомпозиту; «3»

– через півроку без застосування біокомпозиту; «4» – через півроку із застосуванням біокомпозиту.

Моделювання травматичного пошкодження клубової кістки у кролів, а також схеми лікування після травми було описано в наших дослідженнях раніше [1, 5].

Для дослідження факторів росту і прозапальних цитокінів у вказаних групах тварин кров отримували з вени вуха, сепарували, сироватку крові поміщали в епендорфи і зберігали матеріал при -20⁰С. В сироватці крові методом ІФА визначали вміст трансформуючого фактор росту 1β (TGF-1β), фактору росту фібробластів (ФРФ).

Найбільш вивченими регуляторними факторами, що безпосередньо беруть участь у остеогенезі, є родина білків трансформуючого фактору росту бета (TGF-β) і споріднені йому фактор росту кісткової тканини, фактор росту фібробластів, інсуліноподібні фактори росту. Функціями TGF-β1 є стимуляція проліферації та активності фібробластів, пригнічення продукції інших типів клітин, диференціювання, рухливості та апоптозу деяких клітин, що може призводити до імуносупресивної дії, формуванню позаклітинного матриксу [3, 7].

Фактор росту фібробластів репрезентований в 2 формах, і основною його функцією є мітогенна активність по відношенню до клітин нейрон-ектодермального та мезе-

нхімального генезу, стимуляція ангиогенезу, підтримка і стимуляція диференціювання різних типів нейрональних клітин [2, 3].

IL-6 також бере участь у регуляції остеогенезу, маючи численні біологічні функції, в основному прозапального характеру. Він продукується моноцитами, клітинами ендотелію та лімфоцитами і відіграє вирішальну роль в гострофазній відповіді при запаленні, специфічній імунній відповіді та регуляції кровотворення. Основними проявами біологічної активності IL-6 є модуляція взаємодії Т- і В-лімфоцитів, підсилення функціональної активності Т-кілерів, а також стимуляція гранулоцитарного паростка кровотворення. Прозапальна дія IL-6 проявляється також активацією експресії молекул адгезії на ендотелії та хемотаксису лейкоцитів [3]. IL-6 стимулює міграцію моноцитів, а також підсилює функціональну активність остеокластів.

Інтерлейкін 1β – це прозапальний цитокін з широким спектром регуляторної дії майже на всі клітини, що беруть участь в процесах запалення та імунітету [3].

Додатково як прозапальний чинник визначався рівень IgG, який має можливість формувати імунні комплекси на тканинах та здійснювати фіксацію на комплекс компонентів комплементу з наступною руйнацією тканин або клітин [2, 3, 10].

Матеріал та методи

Дослідження проведено на 2 групах кролів по 7 в кожній групі. У тварин проводили забір крові з вухної вени до проведення маніпуляцій з клубовою кісткою. Отримували сироватку і витримували її в холодильнику при -20°C не більше ніж 3 міс. Моделювання травми проводили згідно рекомендацій Kishchuk та співавторів [5]. В контрольній групі тварин лікування проводилось за допомогою фіксації частин кістки металеву пластину. Хірургічне лікування із застосуванням біокомпозитного матеріалу (БКС) «Синтекістка» проводилось згідно рекомендацій А.Д. Бондарчук та співавторів та Kishchuk та співавторів [1, 5].

Всі вказані чинники імунітету визначались імуноферментним методом [3, 4, 6] з використанням аналізатора StatFax 2100 (США) і наборів реактивів фірм «Хема»

(Україна), «Elabscience» (США), «Euroimmun» (Бельгія).

Статистична обробка результатів досліджень проводилась з використанням непараметричного критерію U Вілкоксона-Манна-Уїтні за допомогою пакету програм для статистичної обробки біометричних даних WinPEPI [4, 9].

Результати

Було встановлено, що вміст TGF- 1β підвищився після нанесення травми через 1 міс. в обох групах і зберігався на підвищеному рівні в групі, де експериментальна терапія проводилась за стандартним методом, тоді як в групі із використанням біокомпозиту рівень даного чинника росту через 6 міс. після моделювання наблизився до показників норми (рис. 1).

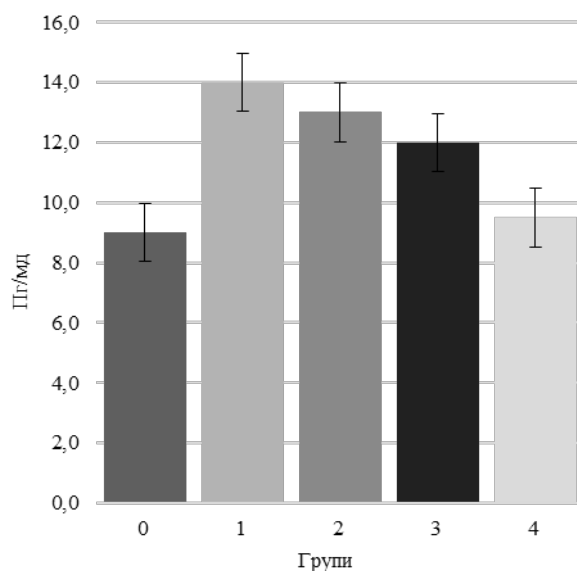


Рис. 1. Вміст TGF- 1β в сироватці крові кролів з експериментальною травмою клубової кістки різних груп.

Дані по вмісту фактору росту фібробластів в сироватці крові різних груп кролів наведено в табл. 1. Представлені дані свідчать про досить тривале підвищення ФРФ в крові кролів із травмою кістки, що може бути обумовлено тривалим процесом регенерації, якій завжди реалізується з участю фібробластів.

Дані щодо вмісту інтерлейкіну- 1β в сироватці крові різних груп кролів наведено в табл. 2.

Таблиця 1

Вміст фактору росту фібробластів (пг/мл) у сироватці крові кролів різних груп

Показники	Групи тварин				
	0 (n=7)	1-а (n=7)	2-а (n=7)	3-я (n=7)	4-а (n=7)
Середнє значення	100,0	185,5	200,4	155,5	138,5
Межі коливань	80-150	100-210	110-240	90-250	80-200
p	-	<0,05	<0,05	=0,05	>0,05<0,8

Таблиця 2

Вміст інтерлейкіну-1 β (пг/мл) в сироватці крові кролів різних груп

Показники	Групи тварин				
	0 (n=7)	1-а (n=7)	2-а (n=7)	3-я (n=7)	4-а (n=7)
Середнє значення	18,0	28,5	33,4	45,5	20,5
Межі коливань	8-25,0	15-40	20-54,0	20-55,0	10-30,0
p	-	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05<0,8

Як видно з даних, наведених в табл. 2, суттєве зростання концентрації прозапального цитокіну – інтерлейкіну-1 β було виявлено через 1 міс. після травми незалежно від проведеного лікування і в контрольній групі кролів – через 6 міс. після нанесення травми, тоді як в 4-й групі тварин за умов використання препарату «Синтекістка» через 6 міс. після травмування середній показник вмісту цитокіну був у межах норми.

В табл. 3 наведено дані про вміст інтерлейкіну-6 в крові різних груп дослідних тварин. Представлені результати свідчать про інтенсивну прозапальну реакцію з боку білків типу інтерлейкіну-6, яка у сироватці крові за рівнем не знижується до кінця терміну спостережень. Ці дані співпадають з результатами досліджень із визначення рівня інтерлейкіну-6 у кролів з експериментальною травмою хрящів вуха [7].

Таблиця 3

Вміст інтерлейкіну-6 (пг/мл) в крові кролів різних груп до та після експериментальної травми кістки

Показник	Групи тварин				
	0 (n=7)	1(n=7)	2(n=7)	3(n=7)	4(n=7)
Середнє значення	8,0	29,5	36,4	35,5	22,5
Межі коливань	3-12	15-42	20-56,0	22-56,0	10-29,0
P	-	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05<0,8

На рис. 2 представлено дані про вміст в сироватці крові кролів групи імунглобулінів класу G як можливих чинників проза-

пальних реакцій. Як видно з наведених результатів, в сироватці крові кролів обох груп порівняння спостерігається тенденція

до збільшення вмісту імуноглобулінів цього класу. Можливо, ці зміни можна пояснити відсутністю високої реакції на травмовані тканини і швидкою реалізацією дегративних структур клітинами-фагоцитами, які можуть бути активовані прозапальними цитокінами, наприклад, інтерлейкіном-6 [3].

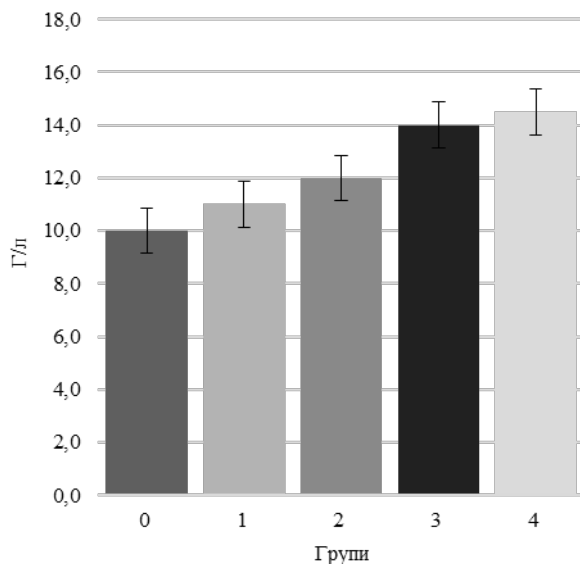


Рис. 2. Вміст IgG в сироватці крові дослідних тварин різних експериментальних груп.

Обговорення результатів

Майже всі досліджені чинники імунітету мали схожий вектор змін: підвищення рівнів як факторів росту, так і прозапальних інтерлейкінів. Нормалізація вмісту досліджених факторів була помітною через півроку спостереження переважно в групі тварин, у яких локально в зоні травми був застосований біокомпозитний матеріал «Син-

текістка». Достовірних відхилень вмісту імуноглобуліну класу G в сироватці крові дослідних тварин у порівнянні із стартовим рівнем («0») виявлено не було.

Аналізуючи отримані результати експериментальних досліджень та факти, зазначені в літературних джерелах з проблеми застосування біокомпозитних матеріалів з умовним позначенням «Синтекістка» для репарації кісток при травмах різної локалізації, можна зробити такі узагальнення:

- застосування біокомпозитних матеріалів на гідроапатитній основі в хірургічному лікуванні травм кісток є більш патогенетично обґрунтованим методом, ніж металевий остеосинтез;

- застосування біокомпозиту супроводжується системними змінами цитокінового профілю, зокрема, TGF-1 β , фактору росту фібробластів, IL-6, інтерлейкіну-1 β і наближення цих показників до рівня норми, що відмічалось в групі кролів із застосуванням біокомпозиту у кінці терміну спостережень, вказує на патогенетичність застосованого підходу до лікування травм кісток;

- доцільним вважається подальше вивчення стану як системного, так і, особливо, місцевого (в рані) імунітету перед проведенням лікувального процесу із застосуванням біокомпозитних матеріалів «Синтекістка».

Висновок

Зважаючи на особливості природної репарації пошкодженої кісткової тканини, застосування біокомпозиту «Синтекістка» є перспективним методом для забезпечення повноцінної регенерації при травмах кісток.

References

1. Bondarchuk AD, Melnykov OF, Timchenko MD, Didyk ND. [Clinical and immunological studies of humoral factors of inflammation and regeneration in patients with injuries of the frontal and basal area]. *Otorhinolaryngology*. 2021;4(4):68-71. [Article in Ukrainian]. doi: 10.37219/2528-8253-2021-4-68.
2. Bredun OJu, Melnykov OF, Bredun CO. [Chronic tonsilit & hypertrophy of palatine tonsils]. Kyiv: FOP Koljada OP, 2024. 164 p. [In Ukrainian].
3. Drannik HM. [Clinical immunology and allergology]. Kyiv: Astra print; 2010. 602 p. [In Ukrainian].
4. Kaidashev IP, et al. [Methods of clinical and experimental research in medicine]. Poltava: Polymet; 2003. 320 p. [In Ukrainian].
5. Kishchuk VV, Bondarchuk OD, Dmytrenko IV, Bartsykhovskiy AI, Grytsun YP, Isniuk AS. Morphological dynamics of bone tissue reparative regeneration during the implantation of biocomposite "Syntekost" in to the cavity of the traumatic

defect of the iliac crest of a rabbit in the experiment. WiadLek. 2018;71(7):1281-1288.

6. Lysiani NY, Pedachenko EH, Kadzhaia NV. [Features of the development of autoimmune reactions during repeated CBI]. Immunology and allergology. 2006;3:53-57. [Article in Ukrainian].
7. Melnikov OF, Minin YuV, Tymchenko MD, Kucherenko TI, Minina AYU. [The content of transforming growth factor TGF 1 and interleukin 6 in the blood serum of rabbits with experimental trauma of the auricle after systemic application of allogeneic mesenchymal stem cells]. Otorhino-

laryngology. 2023;5(6):20-28. [Article in Ukrainian].

8. Rosenfeld LG, Dubok VA, Brik AV, Shincaruk AB. [The bioactive composite "synthe-bone" it discusses the prospects for its application for bone tissue plasticity]. Mistectvo likuvannâ. 2008;50(4):68-71. [Article in Ukrainian].
9. Hlants S. Medical and biological statistics. Berlin: Praktik; 2000. 459 p. [In German].
10. Volker W, Jordan O. Clinical use Immunoglobulins. Volker Jordan 2nd edition. Bremen-London: UNI-MED; 2013. 250 p.

Надійшла до редакції 19.11.2025

© О.Д. Бондарчук

ВИЗНАЧЕННЯ ЧИННИКІВ РОСТУ ТА ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ РІЗНОГО ТИПУ В ДИНАМІЦІ СПОСТЕРЕЖЕНЬ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТРАВМІ КЛУБОВОЇ КІСТКИ КРОЛІВ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ БІОКОМПЗИТУ «СИНТЕКІСТКА»

^{1,2} Бондарчук ОД

¹Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова;

²КНП «Вінницька обласна клінічна лікарня ім. М.І. Пирогова ВОР»

Email: eskulap20009@gmail.com

А н о т а ц і я

В останні десятиліття багато уваги приділяється застосуванню експериментальних моделей різних патологічних процесів для визначення основних механізмів їх патогенезу і вивчення дії нових фармакотерапевтичних засобів. До достатньо складних моделей відносяться моделі травматичних уражень кістково-го апарату і особливо ті з них, що супроводжуються суттєвою реакцією нервової тканини її структур, наприклад, черепно-мозкові травми (ЧМТ).

Нами було створено модель травми клубової кістки кроля без ураження кісткових мозкових структур і проведена експериментальна терапія локально ураженої ділянки із застосуванням біокомпозиту «Синтекістка» з динамічним морфологічним контролем стану травми протягом до 12 міс. спостережень, а також встановлено вплив хірургічного лікування із застосуванням гідроапатитного біокомпозиту.

Мета: Визначити кількісні показники чинників росту та прозапальних цитокінів в сироватці крові дослідних кролів для обґрунтування патофізіологічних основ ефективної експериментальної терапії травми кістки та механізмів її репарації.

Матеріал та методи: Дослідження прозапальних цитокінів за кількісним їх вмістом в сироватці крові кролів в точках досліджень: «0» – вихідний рівень до початку експерименту; «1» – через 1 міс. після нанесення травми без застосування біокомпозиту; «2» – через 1 міс. після травми із застосуванням біокомпозиту; «3» – через півроку без застосування біокомпозиту; «4» – через півроку із застосуванням біокомпозиту. Моделювання травматичного пошкодження кістки клубової у кролів, а також схеми лікування після травми проводилось, як було описано в наших попередніх дослідженнях.

Досліджувались фактори росту і прозапальні цитокіни у вказані строки забору. Кров отримували з вени вуха у фіксований час. Досліджувався вміст у сироватці трансформуючого фактору росту (TGF-1 β), фактору росту фібробластів, інтерлейкінів-6 та 1 β , імуноглобуліну класу G.

Дослідження проведено на двох групах кролів по 7 особин в кожній. У тварин забирали кров з вухної вени до моделювання травми клубової кістки. Отримували сироватку і витримували її в холодильнику при -20⁰С не більше, ніж 3 міс. Моделювання травми проводили згідно рекомендацій А.Д. Бондарчук та співавторів та Kishchuk та співавторів. В контрольній групі лікування проводилось за допомогою фіксації частин кістки металевою пластиною з наступною фіксацією кінцівки. Хірургічне лікування із застосуванням БКС «Синтекістка» проводилось згідно раніше розроблених рекомендацій.

Всі досліджувані чинники імунітету визначались імуноферментним методом з використанням аналізатора StatFax 2100 (США) і наборів реактивів фірм Хема (Україна), Elabscience (США), Euroimmun (Бельгія). Притримувались рекомендацій статистичних програм Біостат-6 та Win-Peri.

Результати та їх обговорення: Аналізуючи отримані результати експериментальних досліджень та факти, зазначені в літературних джерелах з проблеми застосування біокомпозитних матеріалів з умовним позначенням «Синтекістка» для репарації кісток при травмах різної локалізації, можна зробити такі узагальнення:

- застосування біокомпозитних матеріалів на гідроапатитній основі в хірургічному лікуванні травм кісток є більш патогенетично обґрунтованим методом, ніж металевий остеосинтез;

- застосування біокомпозиту супроводжується системними змінами цитокінового профілю, зокрема, TGF-1 β , фактору росту фібробластів, IL-6, інтерлейкіну-1 β і наближення цих показників до рівня норми, що відмічалось в групі кролів із застосуванням біокомпозиту у кінці терміну спостережень, вказує на патогенетичність застосованого підходу до лікування травм кісток;

- доцільним вважається подальше вивчення стану як системного, так і, особливо, місцевого (в рані) імунітету перед проведенням лікувального процесу із застосуванням біокомпозитних матеріалів «Синтекістка».

Висновок: Зважаючи на особливості природньої репарації пошкодженої кісткової тканини, застосування біокомпозиту «Синтекістка» є перспективним методом для забезпечення повноцінної регенерації при травмах кісток.

Ключові слова: травми кісток, цитокіни, фактори росту, біокомпозитний матеріал «Синтекістка».

RESEARCH OF THE DIFFERENT TYPES PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES AND GROWTH FACTORS STATE IN THE DYNAMICS OF OBSERVATIONS IN THE CASE OF EXPERIMENTAL INJURY OF THE RABBIT'S ILIUM USING THE BIOCOMPOSITE "SYNTEKISTKA"

^{1,2} Bondarchuk OD

¹ MykolaPyrohovVinnytsia Regional Hospital, Vinnytsia, Ukraine;

² Communal nonprofit enterprise «Vinnytsya regional Clinical Hospital named after. N.I. Pirogov Vinnytsia Regional Council»

Email: eskulap20009@gmail.com

Abstract

Relevance: In recent decades, much attention has been paid to the use of experimental models of various pathological processes to determine the main mechanisms of their pathogenesis and to study the effect of new pharmacotherapeutic agents. Sufficiently complex models include models of traumatic lesions of the bone apparatus and, especially, those that are accompanied by a significant reaction of nervous tissue and its structures, for example, traumatic brain injury (TBI). We created a rabbit iliac bone injury model without damage to the bone marrow structures and carried out experimental therapy of the locally affected area using the "Syntekistka" biocomposite with dynamic morphological control of the injury state during up to 12 months of observation and established the positive effect of surgical treatment with the use of hydroapatite biocomposite.

Aim: In order to determine the pathophysiological basis of effective experimental therapy of bone trauma in animals and repair mechanisms, it seemed appropriate to find out the state of growth factors and pro-inflammatory cytokines based on their quantitative content in the blood serum of rabbits.

Material and methods: Research of pro-inflammatory cytokines according to their quantitative content in the blood serum of rabbits at the research points: "0" – the baseline before the start of the experiment before the start of the experiment; "1" – 1 month after the injury without using a biocomposite; "2" – 1 month after the injury with the use of a biocomposite; "3" – after six months without using biocomposite; "4" – after six months with the use of biocomposite. Simulation of traumatic damage to the iliac bone in rabbits, as well as the treatment regimen after the injury, was carried out as previously described. Growth factors and pro-inflammatory cytokines were studied at the indicated sampling points from 0-4. Blood was obtained from the ear vein at a fixed time. The serum content of transforming growth factor (TGF-1 β), fibroblast growth factor, interleukins-6 and 1 β , immunoglobulin class G was studied. The study was conducted on two groups of rabbits, 7 in each. The animals were bled from the ear vein before modelling the iliac bone. Serum was obtained and stored in a refrigerator at - 200C for no more than 3 months. Trauma modelling was performed according to recommendations. In the control group, the treatment was carried out by fixing parts of the bone with a metal plate followed by fixing the limb. Surgical treatment with the use of BCS "Sintekost" was performed according to recommendations. All the indicated factors

of immunity were determined by the immunoenzymatic method using the Stat Fax 2100 analyzer (US) and sets of reagents from «Hema» (Ukraine), «Elabscience» (USA), «Euroimmun» (Belgium). We followed the recommendations of the statistical programs Biostat-6 and Win-Pepi.

Results and discussion: Almost all investigated immune factors underwent the same profile of changes: increased levels of both growth factors and pro-inflammatory interleukins. The so-called "normalization" of the studied factors content factors was noticeable during the observation period of six months, mainly in the group of animals where a biocomposite material of the "Syntekistka". type was applied locally in the trauma zone. As for the content of immunoglobulin class G in blood serum, no significant deviations compared to the starting level ("0") were detected (there were none).

Analyzing experimentally obtained data and facts indicated in literary sources on the problem of using biocomposite materials with a conventional designation such as "Syntekistka". for bone repair in case of different localization injuries, the following generalizing assumptions can be made:

- the use of hydroapatite-based biocomposite materials in the surgical treatment of bone injuries is more pathogenetically justified method than metal osteosynthesis;

- the use of the biocomposite is accompanied by systemic changes in the cytokine profile, in particular, TGF-1 β , fibroblast growth factor, IL-6, interleukin-1 β and the approach of these indicators to the normal level, which was noted in the group with the use of the biocomposite at the end of the observation period in more effective trauma therapy and indicates the pathogenetic nature of this approach to the treatment of bone injuries;

- a further thorough study of the state of both systemic and, especially, local (in the wound) immunity is necessary before carrying out the treatment process with the use of biocomposite materials "Syntekistka" type.

Conclusions: Considering the peculiarities of natural reparation of damaged bone tissue, the use of "Syntekost" type biocomposite is a promising method for ensuring full regeneration in case of bone injuries.

Key words: bone injuries, cytokines, growth factors, BCP "Syntekistka".