

creased, the heart mass index increased due to the increase in the nuclei of apoptotic and destructively altered cardiomyocytes. There was also a drop in protein content in the cytoplasm and mitochondria of cardiomyocytes. Angiolin has shown more marked potential compared with mildronate in restoring integrative indicators of the body resistance to chronic heart failure, protein content and morphometric markers in the myocardium of rats.

УДК 617.3:577.121-57.084.1

**Павлов О.Д.**

## **БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ СИРОВАТКИ КРОВІ КРОЛИКІВ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ НА ДІАФІЗ СТЕГНОВОЇ КІСТКИ ПЛАСТИН НА ОСНОВІ ПОЛІЛАКТИДУ, ГІДРОКСИПАТИТУ ТА ТРИКАЛЬЦІЙФОСФАТУ**

Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків

*Стаття присвячена визначенню біохімічних маркерів крові кроликів після імплантації на діяфіз стегнової кістки пластин на основі полілактиду, гідроксиапатиту та трикальційфосфату, виготовлених за допомогою 3-D друку для оцінки впливу імплантату на організм тварин. На 30 добу після імплантації вміст глікопротеїнів у крові кроликів був збільшений на 87,5 %, хондроїтинсульфатів – у 2,5 рази, лужна фосфатаза – на 31,7 % порівняно з контрольною групою. Через 90 діб вміст хондроїтинсульфатів і лужної фосфатази на 22,5 % і 9,2 % відповідно нижче за показники на 30 добу. У другій групі кроликів в сироватці крові на 30 добу був збільшений вміст глікопротеїнів – на 30,4 %, хондроїтинсульфатів – на 72,1 %, активність лужної фосфатази – на 15,9 % порівняно з контрольною групою. На 90 добу після імплантації вміст глікопротеїнів був на рівні контрольної групи. Вміст хондроїтинсульфатів був збільшений на 26,2 %, а активність лужної фосфатази не змінювалась. Вміст глікопротеїнів у I групі тварин на 30 добу спостереження був на 43,8 %, хондроїтинсульфатів – на 47,6 %, активність лужної фосфатази – на 13,7 % вище за аналогічні показники у II групі. На 90 добу вміст глікопротеїнів не відрізнявся у I та II групах, проте вміст хондроїтинсульфатів був вище у I групі – на 55,8 %, активність лужної фосфатази – на 15,9 % порівняно з II групою кроликів. Біохімічні маркери стану печінки та нирок в обох групах не були змінені. Динаміка біохімічних маркерів вказує на більш швидке відновлення пошкодженої кісткової тканини за місцем імплантації пластини з L-полімолочної кислоти, гідроксиапатиту та трикальційфосфату.*

Ключові слова: кролики, імпланти, полілактид, трикальційфосфат, гідроксиапатит, глікопротеїни, хондроїтинсульфати, лужна фосфатаза, токсичність.

*Дослідження проводилося у рамках теми науково-дослідної роботи Харківської медичної академії післядипломної освіти «Клітинно-молекулярні механізми запалення, асоційованого із хронічними захворюваннями», № державної реєстрації 015U001186.*

Вивчення реакцій організму на різні штучні матеріали має велике значення в зв'язку зі створенням імплантів в травматології та ортопедії, відновлювальній медицині і стоматології. Дослідження останніх років показали, що тканини біологічних систем, в тому числі і тканини людського організму, мають властивості реагувати на введення в організм металевих імплантатів [1]. Відомо, що імпланти на основі полілактиду при застосуванні тваринам в експерименті забезпечують вирівнювання кісткових сегментів на ділянці переломів і покращення відновлення пошкоджених тканин [2;3;4]. Крім того, 3D кісткові імпланти мають декілька переваг, а саме, відносна малоінвазивність (зокрема за рахунок відсутності необхідності повторного оперативного втручання для видалення імплантів), специфічність конструкцій для конкретного пацієнта, механічна стабільність та висока біосумісність [5]. Таким чином, можна вважати актуальним напрям досліджень щодо розробки та застосування біодеградуєчих матеріалів на основі полілактиду в травматології та ортопедії.

### **Мета дослідження**

Визначити біохімічні маркери сироватки крові кроликів після імплантації на діяфіз стегнової кістки надрукованих на 3-D принтері пластин на основі полілактиду, гідроксиапатиту та трикальційфосфату для оцінки впливу імплантату на функціональний стан печінки і нирок у тварин.

### **Матеріали і методи досліджень**

Дослідження проводились з 2014 по 2017 рр. на базі кафедри травматології, анестезіології та військової хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти та відділу лабораторної діагностики та імунології ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (свідоцтво про атестацію № 100–287/2015 від 20.11.2015 р). Експерименти на кроликах були виконані у віварії Харківської медичної академії післядипломної освіти з додержанням правил гуманного відношення до експериментальних тварин та асептики згідно «Європейської конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». У першій

групі тварин (n=20) в якості імплантату була використана пластина з L-полімолочної кислоти, у другій групі (n=20) – пластина з композитного матеріалу на основі L-полімолочної кислоти, гідроксиапатиту та трикальційфосфату у співвідношенні 70:10:20. Експеримент було проведено на 15 кроликах, вік тварин – 4 місяці, маса тіла – 3100 – 3700 г. У тварин відбирали кров через 30, 90, 180 та 360 днів після імплантації. Контрольну групу тварин складали інтактні кролики (n=5). В сироватці крові тварин на 30, 90, 180 та 360 добу після імплантації досліджували наступні біохімічні показники: глікопротеїни, сіалові кислоти, хондроїтинсульфати, активність АлАТ і АсАТ, лужної фосфатази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази (ГГТП), білірубін, сечовина та креатинін [6;7;8;9]. Статистичний аналіз даних був здійснений за допомогою програмних пакетів Microsoft Excel XP та Statsoft Statistica 6.0. Порівняння груп тварин у динаміці проводилося за непараметричним критерієм Вілкоксона із визначенням медіани (Me) та процентилів (%25 – %75) [10].

**Результати досліджень та їх обговорення**

На 30 добу після імплантації вміст глікопротеїнів у сироватці крові кроликів був збільшений на 87,5 %, хондроїтинсульфатів – у 2,5 рази, активність лужної фосфатази – на 31,7 % порівняно з показниками контрольної групи. Через 90 днів вміст глікопротеїнів не відрізнявся від контрольної групи, хондроїтинсульфатів і активність лужної фосфатази на 22,5 % і 9,2 % відповідно нижче за показники на 30 добу. На 180 та 360 добу вміст глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів та активність лужної фосфатази не відрізнялись від контрольної групи. Показники функціонального

стану печінки та нирок не змінювались після імплантації (табл. 1).

У другій групі кроликів в сироватці крові на 30 добу був збільшений вміст глікопротеїнів – на 30,4 %, хондроїтинсульфатів – на 72,1 %, активність лужної фосфатази – на 15,9 % порівняно з контрольною групою. На 90 добу після імплантації вміст глікопротеїнів був на рівні контрольної групи. Вміст хондроїтинсульфатів був збільшений лише на 26,2 %, а активність лужної фосфатази не відрізнялась від показника у контрольній групі. Біохімічні маркери стану печінки та нирок не були змінені на жодному терміні спостереження (табл. 2).

Вміст глікопротеїнів у I групі тварин на 30 добу спостереження був на 43,8 %, хондроїтинсульфатів – на 47,6 %, активність лужної фосфатази – на 13,7 % вище за аналогічні показники у II групі. На 90 добу спостереження вміст глікопротеїнів не відрізнявся у I та II групах, проте вміст хондроїтинсульфатів був вище у I групі – на 55,8 %, активність лужної фосфатази – на 15,9 % порівняно з II групою кроликів. Така динаміка біохімічних маркерів вказує більш швидке відновлення пошкодженої кісткової тканини за місцем імплантації у II групі тварин порівняно з першою, що, очевидно, зумовлено складом композитного матеріалу, з якого виготовлені пластини – L-полімолочної кислоти, гідроксиапатиту та трикальційфосфату. Таким чином, саме цей матеріал дозволяє більш ефективно проводити фіксацію, тим самим покращуючи регенераторну здатність пошкоджених тканин.

*Таблиця 1  
Біохімічні маркери сироватки крові кроликів після імплантації пластин з композиту на основі полілактиду – I група (Me, 25% – 75%)*

Біохімічні маркери	Контрольна група, n=5	Доба після імплантації			
		30	90	180	360
Глікопротеїни, г/л	0,56 0,51 – 0,65	1,05 * 0,94–1,11	0,60 $\diamond$ 0,57–0,63	0,61 0,51–0,65	0,55 0,52–0,61
Сіалові кислоти, ммоль/л	2,25 2,13 – 2,50	2,14 2,10–2,25	2,20 2,08–2,27	2,15 2,12–2,27	2,18 2,11–2,21
Хондроїтин-сульфати, г/л	0,122 0,120–0,132	0,310 * 0,281–0,324	0,240 $\diamond$ 0,231–0,258	0,127 0,122–0,131	0,128 0,125–0,131
Активність АлАТ, U/L	54,0 32,7 – 58,5	50,6 45,2 – 56,6	52,0 47,5 – 56,8	53,0 50,5 – 55,6	57,3 50,7 – 58,0
Активність АсАТ, U/L	31,0 29,1 – 36,2	32,2 30,1 – 34,8	33,0 30,8 – 35,0	34,0 30,9 – 34,9	34,4 30,1 – 35,5
Лужна фосфатаза, U/L	397,0 343,5–436,5	523,0 * 503,5–560,0	475,0 $\diamond$ 471,0–484,0	380,0 351,5–427,5	410,0 364,5–425,5
Активність ГГТП, U/L	5,2 2,5 – 6,5	4,4 4,2 – 5,6	5,5 4,6 – 6,3	5,3 5,1 – 5,5	5,5 4,8 – 6,1
Білірубін, мкмоль/л	5,30 3,90 – 7,20	6,90 5,40 – 7,10	5,30 4,70 – 7,00	6,60 5,30 – 7,10	6,80 5,10 – 7,10
Сечовина, ммоль/л	4,20 3,60 – 4,70	4,50 4,00 – 4,70	4,40 3,80 – 4,60	4,30 3,90 – 4,60	4,20 3,90 – 4,40
Креатинін, мкмоль/л	56,4 49,6 – 86,8	67,0 60,0 – 79,0	61,0 56,5 – 69,5	77,0 65,0 – 82,5	68,0 59,0 – 79,5

Примітки: \* – вірогідно за Вілкоксоном порівняно з контрольною групою,  $p < 0,05$   
 $\diamond$  – вірогідно за Вілкоксоном порівняно з показником на 30 добу,  $p < 0,05$

Таблиця 2

Біохімічні маркери сироватки крові кроликів після імплантації пластин з композиту на основі полілактиду, гідроксиапатиту і трикальційфосфату – II група (Me, 25% – 75%)

Біохімічні маркери	Контрольна група, n=5	Доба після імплантації			
		30	90	180	360
Глікопротеїни, г/л	0,56 0,51 – 0,65	0,73 * 0,68–0,78	0,57 ◊ 0,54–0,61	0,60 0,54–0,64	0,57 0,54–0,62
Сіалові кислоти, ммоль/л	2,25 2,13 – 2,50	2,20 2,13–2,27	2,24 2,15–2,26	2,34 2,22–2,47	2,28 2,18–2,40
Хондроїтин-сульфати, г/л	0,122 0,120–0,132	0,210 * 0,179–0,222	0,154 ◊ 0,148–0,165	0,124 0,121–0,128	0,126 0,121–0,128
Активність АлАТ, U/L	54,0 32,7 – 58,5	49,5 46,6 – 56,5	55,3 45,3 – 57,8	50,5 46,3 – 52,9	54,8 48,7 – 56,5
Активність АсАТ, U/L	31,0 29,1 – 36,2	33,7 31,2 – 35,5	33,5 32,2 – 34,6	32,1 31,1 – 33,4	34,7 34,0 – 35,6
Лужна фосфатаза, U/L	397,0 343,5–436,5	460,0 * 452,0–478,5	410,0 386,5–428,5	405,0 375,5–417,0	390,0 373,0–407,0
Активність ГГТП, U/L	5,20 2,50 – 6,50	5,50 5,00 – 6,30	5,80 4,90 – 6,20	5,90 5,10 – 6,20	6,20 5,20 – 6,30
Білірубін, мкмоль/л	5,30 3,90 – 7,20	5,70 4,60 – 6,50	6,40 5,00 – 7,00	6,30 4,80 – 6,90	5,70 5,40 – 6,80
Сечовина, ммоль/л	4,20 3,60 – 4,70	4,30 3,80 – 4,60	4,00 3,90 – 4,50	4,20 4,10 – 4,60	4,40 4,00 – 4,60
Креатинін, мкмоль/л	56,4 49,6 – 86,8	71,0 62,0 – 76,5	60,0 53,5 – 77,5	63,0 60,5 – 69,0	77,0 64,5 – 81,5

Примітки: \* – вірогідно за Вілкоксоном порівняно з контрольною групою,  $p < 0,05$

◊ – вірогідно за Вілкоксоном порівняно з показником на 30 добу,  $p < 0,05$

### Висновки

1. Вміст глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів та активність лужної фосфатази як маркерів регенерації вказував на більш інтенсивне відновлення пошкодженої кісткової тканин у тварин II групи, яким в якості імплантів використовували пластини з композитного матеріалу на основі полілактиду, гідроксиапатиту та трикальційфосфату.

2. Показники функціонального стану печінки (АлАТ, АсАТ, ГГТП, білірубін) та нирок (сечовина, креатинін) на 30, 90, 180 та 360 добу після проведення імплантації вказують на відсутність гепато- і нефротоксичності компонентів біодеградуємих пластин.

### Перспективи подальших досліджень у цьому напрямку

Планується дослідження застосування імплантів на основі полілактиду, гідроксиапатиту та трикальційфосфату в клінічній ортопедичній та травматологічній практиці для лікування переломів та захворювань кісток людини.

### Література

1. Майбородин И.В. Гистологические результаты имплантации металлических изделий с шероховатой и гладкой поверхностью в костную ткань в эксперименте / И.В. Майбородин, М.С.

Тодер, А.И. Шевела [и др.]. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 7–1. – С. 114 – 118

2. Luo X. Strontium-containing apatite/poly lactide composites enhance bone formation in osteopenic rabbits / X. Luo, D. Barbieri, R. Duan [et al.] // Acta Biomater. – 2015. – Oct; 26. – P. 331 – 337

3. Zhao M.D. Polypyrrole coating on poly-(lactide/glycolide)- $\beta$ -tricalcium phosphate screws enhances new bone formation in rabbits / M.D. Zhao, M. Björninen, L. Cao [et al.] / Biomed Mater. – 2015. – V. 10(6). – P. 501-516.

4. Zeng R.C. In vitro corrosion and cytocompatibility of a microarc oxidation coating and poly(L-lactic acid) composite coating on Mg-1Li-1Ca alloy for orthopedic implants / R.C. Zeng, L.Y. Cui, K. Jiang [et al.] // ACS Appl. Mater Interfaces. – 2016. – V.8(15). – P. 10014-10028

5. Chou Y.C. Development of a three-dimensional (3D) printed bio-degradable cage to convert morselized corticocancellous bone chips into a structured cortical bone graft. / Y.C. Chou, D. Lee, T.M. Chang [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2016. – V.17(4). – P. 595-599

6. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / За ред. В.В. Влізла. – Львів, СГОЛОМ, 2012. – 764 С.

7. Клінічна біохімія: навчальний посібник / [О.П. Тимошенко, Л.М. Вороніна, В.М. Кравченко та ін.]. – Харків, Золоті Сторінки, 2003. – 239 с.

8. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник в 2-х т. Т.1 / В.С. Камышников. – Минск: Интерсервис. – 2003. – 495 с.

9. Морозенко Д.В. Методи дослідження маркерів метаболізму сполучної тканини у сучасній клінічній та експериментальній медицині / Д.В. Морозенко, Ф.С. Леонтьєва // Молодий вчений: науковий журнал. – 2016. – № 2(29). – С. 168 – 172.

10. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

### Реферат

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ НА ДИАФИЗ БЕДРЕННОЙ КОСТИ ПЛАСТИН НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА, ГИДРОКСИАПАТИТА И ТРИКАЛЬЦИЙФОСФАТА

Павлов А.Д.

Ключевые слова: кролики, импланты, полилактид, трикальцийфосфат, гидроксиапатит, гликопротеины, хондроитинсульфаты, щелочная фосфатаза, токсичность.

Статья посвящена определению биохимических маркеров крови кроликов после имплантации на диафиз бедренной кости пластин на основе полилактиду, гидроксиапатита и трикальцийфосфата для оценки влияния имплантата на организм животных. На 30 сутки после имплантации содержание гликопротеинов в крови кроликов было увеличено на 87,5 %, хондроитинсульфатов – в 2,5 раза, щелочная фосфатаза – на 31,7 % по сравнению с контрольной группой. Через 90 суток содержание хонд-

роитинсульфатов и щелочной фосфатазы на 22,5 % и 9,2 % соответственно ниже показателей на 30 сутки. Во второй группе кроликов в сыворотке крови на 30 сутки был увеличен содержание гликопротеинов – на 30,4 %, хондроитинсульфатов – на 72,1 %, активность щелочной фосфатазы – на 15,9 % по сравнению с контрольной группой. На 90 сутки после имплантации содержание гликопротеинов было на уровне контрольной группы. Содержание хондроитинсульфатов было увеличено на 26,2 %, а активность щелочной фосфатазы без изменений. Содержание гликопротеинов во второй группе животных на 30 сутки наблюдения было на 43,8 %, хондроитинсульфатов – на 47,6 %, активность щелочной фосфатазы – на 13,7 % выше аналогичных показателей во второй группе. На 90 сутки содержание гликопротеинов не отличалось в первой и второй группах, однако содержание хондроитинсульфатов было выше в первой группе – на 55,8 %, активность щелочной фосфатазы – на 15,9 % по сравнению со второй группой кроликов. Биохимические маркеры состояния печени и почек в обеих группах не были изменены. Динамика биохимических маркеров указывает на более быстрое восстановление поврежденной костной ткани по месту имплантации пластины из полилактида, гидроксиапатита и трикальцийфосфата.

### Summary

BIOCHEMICAL MARKERS OF BLOOD SERUM IN RABBITS AFTER IMPLANTATION OF PLATES BASED ON POLYLACTIDE, HYDROXYAPATITE AND TRICALCIUMPHOSPHATE ONTO FEMUR DIAPHYSIS

Pavlov O.D.

Key words: rabbits, implants, polylactide, tricalcium phosphate, hydroxyapatite, glycoproteins, chondroitinsulfates, alkaline phosphatase, toxicity.

The article is devoted to the analysis of the blood biochemical markers in rabbits after the placement of the plates based on polylactide, hydroxyapatite and tricalciumphosphate onto femur diaphysis of the femur to evaluate the implant's impact on the organism of animals. In 30 days following the implantation, the glycoproteins content in the blood of rabbits was increased by 30.4 %, chondroitin sulphates nearly doubled (in 2.5 times), alkaline phosphatase grew up by 15.9 % compared with the control group. In 90 days, the content of chondroitin sulphates and alkaline phosphatase was found to be by 22.5 % and 9.2 % lower than in 30 days. In the second group of rabbits in 30 days, the serum glycoprotein content increased by 30.4 %, chondroitin sulphates increased by 72.1 %, alkaline phosphatase activity increased by 15.9 % compared with the control group. In 90 days after the implantation, the content of glycoproteins was identical to that of the control group level. The content of chondroitin sulphates increased by 26.2 %, and the alkaline phosphatase activity did not change. The content of glycoproteins in I group of animals on the 30th day of observation was higher by 43.8 % compared with II group, chondroitin sulphates were higher by 47.6 % and alkaline phosphatase activity was higher by 13.7 % than that in the second group. On 90th day, the content of glycoproteins did not differ from those in I and II group, but the content of chondroitin sulphates was higher in I group by 55.8 %, alkaline phosphatase activity – by 15.9 % compared to the II group of the rabbits. The biochemical markers of liver and kidney in both groups have not been changed. The dynamics of biochemical markers indicates a faster recovery of damaged bone tissue at the site of implantation of the plates made of polylactide, hydroxyapatite and tricalcium phosphate.