

УДК 616.71-003.93: 57.084.1-121.9

Макаров В.Б., Морозенко Д.В., Леонтьєва Ф.С.

БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ БІОПОЛІМЕРУ НА ОСНОВІ ПОЛІЛАКТИДУ

ДЗ «Спеціалізована багатопрофільна лікарня №1 МОЗ України», м. Дніпро

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква

ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України», м. Харків

У статті розглядається визначення в експерименті змін біохімічних маркерів сироватки крові щурів для оцінки перебігу регенерації кісткової тканини після імплантації біополімеру на основі полілактиду. Тваринам проводили імплантацію штафтів з L-полімолочної кислоти у стегнову кістку. Експеримент було проведено на 38 щурах-самцях, вік тварин – 4,5 місяці. На кожному терміні спостереження у щурів (n=7) відбирали кров для дослідження – на 15, 30, 90, 180 та 270 добу після імплантації. Контрольну групу тварин складала інтактні щури (n=3). Вміст глікопротеїнів у сироватці крові щурів на 15 добу після імплантації був збільшений на 23,0 %, на 30 добу – на 15,9 %, на 90 добу – на 14,3 % порівняно з показником контрольної групи. Вміст хондроїтинсульфатів був збільшений на 53,8 % порівняно з показником контрольної групи лише на 15 добу після імплантації, на більш пізніх термінах спостереження показник не відрізнявся від контрольної групи. Активність лужної фосфатази була підвищеною порівняно з контрольною групою на 15 та 30 добу на 53,9 % та 25,2 % відповідно. Підвищена активність лужної фосфатази на 15 та 30 добу також пов'язана із підвищенням активності остеобластів на початкових стадіях регенерації. Вміст хондроїтинсульфатів збільшувався внаслідок запально-регенеративних процесів у кістковій тканині після імплантації, проте вже на 30 добу був вже у межах норми, що вказує на нормальний перебіг відновлення кісткової тканини після імплантації біополімеру на основі полілактиду. Таким чином, зміни біохімічних маркерів сполучної тканини у сироватці крові щурів після імплантації біополімеру на основі полілактиду відповідають процесу післяопераційного відновлення і регенерації пошкодженої кісткової тканини.

Ключові слова: полілактид, щури, імплантація, біополімери, глікопротеїни, хондроїтинсульфати, лужна фосфатаза.

Дослідження проводилося у рамках науково-дослідної роботи «Вивчити в експерименті біологічну реакцію кісткової, м'язової та сполучної тканин на біодеградуєючий полімер на основі полілактиду» згідно договору про науково-практичне співробітництво між ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (м. Харків) та Спеціалізованою багатопрофільною лікарнею № 1 МОЗ України (м. Дніпро) від 01.11.2016 р.

Полімолочна кислота (полілактид) – це біологічний полімер з унікальними властивостями, який був дуже широко вивчений за останні 25 років. Можливість використання пристроїв в організмі людини з мінімальною запальною реакцією та інфікуванням для відновлення змусила дослідників шукати біосумісні матеріали [1;2]. Властивості біополімерів, такі як біосумісність та можливість розкладатися, збільшують їх потенційне використання у якості імплантів. Ці нові матеріали мають велике значення у медицині, оскільки синтетичні матеріали не відповідають потребам живих систем [3]. Полілактид є одним з найбільш перспективних біополімерів, який використовується у медицині, зокрема, у стоматології та ортопедії як компонент кісткових імплантів [4;5].

Особливо актуальним питанням сучасної ортопедії і травматології є вплив полімолочної кислоти на кісткову регенерацію, зокрема, про її роль у відновленні пошкодженої кістки як у людини, так і у моделях на тваринах [6;7]. Відомо, що виповнення кісткового дефекту резорбуючим композитом на основі гідроксиапатиту та полілактиду зменшує деструктивні процеси та пришвидшує формування первинної та вторинної кісткової мозолі [8]. Існують також дані, що присутність полімолочної кислоти у тканинах збільшує життєздатність клітин [9].

В свою чергу, травматизація кістки призво-

дить до активації як процесів синтезу, так і резорбції кісткової тканини, які дозволяють звільнити місце травми від "старої" кістки і відновити дефект за рахунок новосформованої, функціонально повноцінної кісткової тканини. Всі ці процеси регулюються як на рівні організму, так і на локальному рівні за рахунок гормонів і цілої низки речовин білкової природи, велика частина яких відносяться до неколагенових протеїнів кісткового матриксу. Порушення синтезу, чутливості до них клітин-мішеней, уповільнення або прискорення утилізації даних речовин призводить до порушень остеогенезу, які можуть проявлятися у вигляді широкого діапазону клінічних синдромів і хвороб [10]. Таким чином, можна вважати актуальним напрям досліджень щодо визначення в експерименті змін біохімічних маркерів сироватки крові щурів для оцінки перебігу регенерації кісткової тканини після імплантації біополімеру на основі полілактиду.

Мета дослідження

Визначити динаміку біохімічних маркерів сироватки крові щурів після імплантації в стегнову кістку біополімеру на основі полілактиду та встановити вплив імплантів на метаболізм сполучної тканини у тварин.

Матеріали і методи досліджень

Експеримент проводився у 2017 році на базі відділу експериментального моделювання і тра-

нсплантології з експериментально-біологічною клінікою, біохімічні дослідження сироватки крові – на базі відділу лабораторної діагностики та імунології ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України». Експерименти на щурах були виконані з дотриманням правил асептики і антисептики, а також гуманного відношення до експериментальних тварин згідно «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження». Тваринам проводили імплантацію штифтів з L-полімолочної кислоти у стегнову кістку. Експеримент було проведено на 38 щурах-самцях, вік тварин – 4,5 місяці. На кожному терміні спостереження у щурів (n=7) відбирали кров для дослідження – на 15, 30, 90, 180 та 270 добу після імплантації. Контрольну групу тварин складали інтактні щури (n=3). В сироватці крові

щурів досліджували вміст глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів, активність лужної фосфатази та загальний кальцій [11;12]. 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 [13].

Результати досліджень та їх обговорення

Вміст глікопротеїнів у сироватці крові щурів на 15 добу після імплантації був збільшений на 23,0 %, на 30 добу – на 15,9 %, на 90 добу – на 14,3 % порівняно з показником контрольної групи. Вміст хондроїтинсульфатів був збільшений на 53,8 % порівняно з показником контрольної групи лише на 15 добу після імплантації, на більш пізніх термінах спостереження показник не відрізнявся від контрольної групи (табл. 1).

Таблиця 1

Біохімічні маркери сполучної тканини у сироватці крові щурів після імплантації полілактиду (Me, 25% – 75%)

Доба після імплантації	Глікопротеїни, г/л	Хондроїтин-сульфати, г/л	Лужна фосфатаза, U/L	Загальний кальцій, ммоль/л
15	1,55 * 1,51 – 1,58	0,500 * 0,425 – 0,590	671,0 * 604,5 – 720,0	2,32 2,29 – 2,38
30	1,46 * 1,39 – 1,54	0,338 0,280 – 0,459	564,0 * 553,0 – 771,5	2,37 2,34 – 2,39
90	1,44 * 1,42 – 1,59	0,392 0,309 – 0,513	392,0 312,5 – 501,5	2,42 2,40 – 2,55
180	1,34 1,26 – 1,35	0,337 0,316 – 0,505	476,0 296,5 – 531,0	2,39 2,35 – 2,44
270	1,34 1,22 – 1,42	0,370 0,300 – 0,521	380,0 266,0 – 452,5	2,38 2,36 – 2,40
Контрольна група, n=3	1,26 1,25 – 1,29	0,325 0,318 – 0,338	436,0 407,0 – 541,0	2,38 2,33 – 2,39

Примітка: * – вірогідно за Вілкоксоном порівняно з контрольною групою, p<0,05

Активність лужної фосфатази була підвищеною порівняно з контрольною групою на 15 та 30 добу на 53,9 % та 25,2 % відповідно. Вміст загального кальцію на всіх термінах спостереження не змінювався. Така динаміка вмісту глікопротеїнів із поступовим зниженням до нормальних значень у сироватці крові щурів свідчить про присутність після імплантації запального процесу, який властивий регенеративним змінам у кістковій тканині після імплантації полілактиду. Підвищена активність лужної фосфатази на 15 та 30 добу також пов'язана із підвищенням активності остеобластів на початкових стадіях регенерації. Вміст хондроїтинсульфатів збільшувався внаслідок запально-регенеративних процесів у кістковій тканині після імплантації, проте вже на 30 добу був вже у межах норми, що вказує на нормальний перебіг відновлення кісткової тканини після імплантації біополімеру на основі полілактиду.

Висновки

1. У сироватці крові щурів відбувалося збільшення вмісту глікопротеїнів – на 15, 30 та 90 добу, лужної фосфатази – на 15 та 30 добу, хондроїтинсульфатів – на 15 добу після імплантації в стегнову кістку біополімеру на основі полілактиду.

2. Зміни біохімічних маркерів сполучної тканини у сироватці крові щурів після імплантації біополімеру на основі полілактиду відповідають процесу післяопераційного відновлення і регенерації пошкодженої кісткової тканини.

Перспективи подальших досліджень у цьому напрямку

Планується вивчення токсичності полілактиду після імплантації у кісткову тканину на різних термінах спостереження.

Література

1. Davashi S.M. Polylactic acid in medicine / S.M. Davashi, B. Kafashi // Polymer-Plastics Technology and Engineering. – 2015. – V. 54, Issue 9. – P. 944 – 967.
2. Хвісюк О.М. Динаміка лабораторних показників крові у щурів після підшкірної імплантації композиту на основі полілактиду, гідроксиапатиту і трикальційфосфату / О.М. Хвісюк, О.Д. Павлов, В.В. Пастух // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2018. – Т. 3, № 1(10). – С. 71 – 75.
3. Rebelo Rita Biopolymers in medical implants: a brief review / Rita Rebelo, Margarida Fernandes, Raul Figueiro // Procedia Engineering. – 2017. – Vol. 200. – P. 236 – 243.
4. Arunjarosuk S. The stability of augmented bone between two different membranes used for guided bone regeneration simultaneous with dental implant placement in the esthetic zone / S. Arunjarosuk, S. Panmekiate, A. Pimkhaokham // Int. J Oral Maxillofacial Implants. – 2018. – V.33(1). – P. 206–216.
5. Jeong J.H. The effect of biocomposite screws on bone regeneration in a rat osteoporosis model / J.H. Jeong, E.S. Jin, J.Y. Kim [et al.] // World Neurosurgery. – 2017. – Oct; 106. – P. 964–972.

6. Rajendran TAMILANBU Role of polylactic acid in bone regeneration – a systematic review / TAMILANBU Rajendran, Suresh Venugopalan // J. Pharm. Sci. & Res. – 2015. – Vol. 7(11). – P. 960–966.
7. Wang Z. Enhanced in vitro mineralization and in vivo osteogenesis of composite scaffolds through controlled surface grafting of l-lactic acid oligomer on nanohydroxyapatite / Z. Wang, Y. Xu, Y. Wang [et al.] // Biomacromolecules. – 2016. – Mar 14; 17(3). – P. 818–829.
8. Hamad K. Properties and medical applications of polylactic acid: A review / K. Hamad, M. Kaseem, H.W. Yang [et al.] // Express Polymer Letters. – 2015. – Vol. 9, № 5. – P. 435–455.
9. Скочило О.В. Особливості морфологічних змін у кістковій тканині при застосуванні матеріалу на основі гідроксиапатиту та полілактиду / О.В. Скочило, І.Р. Мисула // Вісник наукових досліджень. – 2017. – № 3. – С. 137–143.
10. Сикора В.З. Неколлагеновые белки костного матрикса как маркеры ремоделирования кости / В.З. Сикора, М.В. Погорелов, Г.Ф. Ткач, В.И. Бумейстер // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 28–35.
11. Морозенко Д.В. Методи дослідження маркерів метаболізму сполучної тканини у сучасній клінічній та експериментальній медицині / Д.В. Морозенко, Ф.С. Леонтєва // Молодий вчений: науковий журнал. – 2016. – № 2(29). – С. 168–172.
12. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / За ред. В.В. Влізла. – Львів, СПОЛОМ, 2012. – 764 С.
13. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. / С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

Реферат

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ БИОПОЛИМЕРА НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА

Макаров В.Б., Морозенко Д.В., Леонтєва Ф.С.

Ключевые слова: полилактид, крысы, имплантация, биополимеры, гликопротеины, хондроитинсульфаты, щелочная фосфатаза.

В статье рассматривается определение в эксперименте изменений биохимических маркеров сыворотки крови крыс для оценки течения регенерации костной ткани после имплантации биополимера на основе полилактида. Животным проводили имплантацию штифтов с L-полимолочной кислоты в бедренную кость. Эксперимент был проведен на 38 крысах-самцах, возраст животных – 4,5 месяца. На каждом сроке наблюдения у крыс (n=7) отбирали кровь для исследования – на 15, 30, 90, 180 и 270 сутки после имплантации. Контрольную группу животных составляли интактные крысы (n=3). Содержание гликопротеинов в сыворотке крови крыс на 15 сутки после имплантации было увеличено на 23,0 %, на 30 сутки – на 15,9%, на 90 сутки – на 14,3% по сравнению с показателем контрольной группы. Содержание хондроитинсульфатов было увеличено на 53,8 % по сравнению с показателем контрольной группы только на 15 сутки после имплантации, на более поздних сроках наблюдения показатель не отличался от контрольной группы. Активность щелочной фосфатазы была повышенной по сравнению с контрольной группой на 15 и 30 сутки на 53,9 % и 25,2 % соответственно. Повышенная активность щелочной фосфатазы на 15 и 30 сутки также связана с повышением активности остеобластов на начальных стадиях регенерации. Содержание хондроитинсульфатов увеличивалось вследствие воспалительно-регенеративных процессов в костной ткани после имплантации, однако уже на 30 сутки был уже в пределах нормы, указывал на нормальное восстановление костной ткани после имплантации биополимера на основе полилактида. Таким образом, изменения биохимических маркеров соединительной ткани в сыворотке крови крыс после имплантации биополимера на основе полилактида соответствуют процессу послеоперационного восстановления и регенерации поврежденной костной ткани.

Summary

Makarov V.B., Morozenko D.V., Leontieva F.S.

Key words: polylactide, rats, implantation, biopolymers, glycoproteins, chondroitinsulfates, alkaline phosphatase.

This article highlights the changes in biochemical markers of blood serum in rats to evaluate the peculiarities through the course of bone tissue regeneration following the implantation of polylactide-based biopolymer. The experiment was conducted on 38 male rats, aged 4.5 months. The animals were implanted with L-polylactic acid pins in the femoral bone. During each observation period, rats (n=7) were taken blood for examination, i.e. in the 15, 30, 90, 180, and 270 days after the implantation. The control group of animals included intact rats (n=3). The content of glycoproteins in blood serum of rats on the 15th day following the implantation was bound out to be increased by 23.0 %, on the 30th day – by 15.9%, and on the 90th day – by 14.3 % compared with the control group. The chondroitin sulfates content went up by 53.8% compared with the control group only on the 15th day after the implantation; the findings obtained at later periods of the observation did not differ from the control group. The alkaline phosphatase activity elevated compared with the control group in 15 and in 30 days by 53.9 % and 25.2 % respectively. Increased activity of alkaline phosphatase in 15 and 30 days was also associated with increased osteoblast activity in the initial stages of regeneration. The chondroitin sulphates content increased due to inflammatory and regenerative processes in the bone tissue after implantation, but on the 30th day it was found within the normal range, indicating the normal course of bone regeneration after the polylactide-based biopolymer implantation. Thus, changes in biochemical markers of connective tissue in blood serum of rats after the polylactide-based biopolymer implantation correspond to the process of postoperative recovery and regeneration of damaged bone tissue.