

DOI: 10.26693/jmbs03.03.030

УДК 616.718.45-57.089.67

Макаров В. Б.¹, Морозенко Д. В.^{2,3}, Леонтьєва Ф. С.³

КЛІНІКО-ЛАБОРАТОРНА ОЦІНКА ДІЇ НА ОРГАНІЗМ ЩУРІВ БІОПОЛІМЕРУ НА ОСНОВІ ПОЛІЛАКТИДУ ПІСЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ У СТЕГНОВУ КІСТКУ

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

²Білоцерківський національний аграрний університет, Біла Церква, Україна

³ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України»,
Харків, Україна

vasylmakarov2010@gmail.com

У статті розглянуто питання клініко-лабораторної оцінки дії на організм щурів біополімеру на основі полілактиду після імплантації у стегову кістку. Як відомо, біополімери на основі полілактиду вважаються одними із найкращих завдяки їх гарній біосумісності та резорбційним характеристикам. Полімолочна кислота за хімічною структурою є аліфатичним полієфіром, який найчастіше використовується у біомедичній інженерії. Ця органічна сполука має низьку алергенність, низьку токсичність, високу біосумісність та передбачувану кінетику деградації, а також не має впливу на геном. Таким чином, можна вважати актуальним напрям досліджень токсичної дії на організм експериментальних тварин біополімеру на основі полілактиду після імплантації. При проведенні експерименту щурам проводили імплантацію штифтів з L-полімолочної кислоти у стегову 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). Тваринам проводили загальний клінічний (еритроцити, гемоглобін, лейкоцити і лейкограму, ШОЕ) та біохімічний аналізи крові. В сироватці крові щурів досліджували активність АлАТ, АсАТ і ГГТП, глюкозу, загальний білок, сечовину, креатинін та загальний білірубін. В результаті дослідження гематологічних показників було встановлено відсутність змін еритроцитопоезу. Упродовж всього терміну спостереження лейкограма також не змінилась, що вказує на відсутність вже на 15 добу після імплантації системної запальної реакції організму на введення імплантатів. За результатами біохімічних досліджень сироватки крові було встановлено відсутність токсичної реакції з боку печінки та нирок на введення імплантатів: активність печінкових ферментів АлАТ і АсАТ, а також загального біліру-

біну на всіх термінах спостереження не відрізнялась від контрольної групи тварин. Нормальний вміст загального білка свідчить про відсутність загальної інтоксикації організму та деструкції тканин, а рівень глікемії вказував на відсутність стресової реакції організму щурів. Знижений вміст креатиніну в сироватці крові тварин на 15 добу спостереження свідчить про зниження локомоторної активності після оперативного втручання. Таким чином, динаміка гематологічних показників у щурів вказує на відсутність системної запальної реакції організму на введення імплантатів на основі полілактиду. Відсутність зростання активності печінкових ферментів (АлАТ і АсАТ), вмісту загального білірубину, сечовини та креатиніну свідчить про відсутність токсичного впливу імплантатів з полілактиду на функціональний стан печінки та нирок.

Ключові слова: щури, біополімери, полілактид, стегова кістка, імплантація, лейкограма, біохімічні маркери крові.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження проводилося у рамках науково-дослідної роботи «Вивчити в експерименті біологічну реакцію кісткової, м'язової та сполучної тканин на біодеградуєчий 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.

Вступ. Біодеградуєчі полімери на основі полілактиду сьогодні широко використовуються для виготовлення імплантатів [1]. Також відомо, що одним із критеріїв під час вибору імплантатів для ортопедичної хірургії є те, що імплантат не потребує видалення, тобто, повторного оперативного втручання [2, 3]. Біополімери на основі полілактиду

вважаються одними із найкращих завдяки їх гарній біосумісності та резорбційних характеристик. Полімолочна кислота за хімічною структурою є аліфатичним полієфіром, який найчастіше використовується у біомедичній інженерії. Ця органічна сполука має низьку алергенність, низьку токсичність, високу біосумісність та передбачувану кінетику деградації, а також не має впливу на геном [4, 5].

Таким чином, можна вважати актуальним напрям досліджень токсичної дії на організм експериментальних тварин біополімеру на основі полілактиду після імплантації.

Мета дослідження – провести клініко-лабораторну оцінку дії на організм щурів біополімеру на основі полілактиду після імплантації у стегнову кістку.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проводився у 2010 році на базі відділу експериментального моделювання і трансплантології 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». Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006, ст. 26), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

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 складала інтактні щури (n=3). Тваринам проводили загальний клінічний (еритроцити, гемоглобін, лейкоцити і лейкограму) та біохімічний аналізи крові. В сироватці крові щурів досліджували активність АлАТ, АсАТ і ГГТП, глюкозу, загальний білок, сечовину, креатинін та загальний білірубін [6, 7].

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 [8].

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті дослідження гематологічних показників було встановлено відсутність змін еритроцитопоезу. Упродовж всього терміну спостереження лейкограма також не змінилась, що вказує на відсутність вже на 15 добу після імплантації системної запальної реакції організму на введення імплантатів (табл. 1).

За результатами біохімічних досліджень сироватки крові було встановлено відсутність токсичної реакції з боку печінки та нирок на введення імплантатів: активність печінкових ферментів АлАТ і АсАТ, а також загального білірубину на всіх термінах спостереження не відрізнялась від контрольної групи тварин (табл. 2).

Нормальний вміст загального білка свідчить про відсутність загальної інтоксикації організму та деструкції тканин за місцем імплантації, а рівень глікемії вказував на відсутність стресової реакції організму щурів. Знижений вміст креатиніну в сироватці крові тварин на 15 добу спостереження свідчить про зниження локомоторної активності після оперативного втручання.

Таблиця 1 – Гематологічні показники у щурів після імплантації полілактиду (Me, 25% – 75%)

Доба після імплантації	Еритроцити, Т/л	Гемоглобін, г/л	Лейкоцити, Г/л	Лейкограма, у проц.				
				Еозинофіли	Паличкоядерні нейтрофіли	Сегментоядерні нейтрофіли	Лімфоцити	Моноцити
15	4,50 4,45 – 4,80	143,0 140,0 – 146,0	6,8 6,7 – 8,1	3,0 3,0 – 5,0	1,0 1,0 – 2,0	32,0 28,0 – 33,0	59,0 58,0 – 61,0	4,0 3,0 – 6,0
30	4,50 4,40 – 5,10	144,0 138,0 – 147,5	6,5 6,3 – 6,8	3,0 2,0 – 4,0	1,0 1,0 – 2,0	33,0 28,0 – 36,0	57,0 53,0 – 65,0	5,0 4,0 – 7,0
90	4,70 4,45 – 5,20	147,0 142,5 – 149,5	6,8 6,3 – 7,1	4,0 3,0 – 5,0	1,0 1,0 – 1,0	31,0 28,0 – 39,0	61,0 52,0 – 65,0	4,0 3,0 – 6,0
180	4,50 4,40 – 4,50	144,0 141,0 – 147,0	6,9 5,3 – 7,6	5,0 3,0 – 6,0	1,0 1,0 – 1,0	32,0 32,0 – 38,0	60,0 55,0 – 60,0	3,0 2,0 – 3,0
270	4,50 4,40 – 4,55	142,0 136,0 – 145,0	7,3 6,3 – 7,9	3,0 3,0 – 5,0	1,0 1,0 – 1,0	33,0 32,0 – 35,0	59,0 58,0 – 61,0	2,0 2,0 – 4,0
Контрольна група, n=3	4,50 4,50 – 4,75	142,0 140,0 – 146,0	7,6 6,9 – 7,7	3,0 3,0 – 4,0	1,0 1,0 – 1,0	32,0 32,0 – 33,0	60,0 59,0 – 61,0	4,0 4,0 – 4,0

Таблиця 2 – Біохімічні маркери сироватки крові щурів після імплантації полілактиду (Me, 25% – 75%)

Доба після імплантації	Глюкоза, ммоль/л	Загальний білок, г/л	Сечовина, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л	АлАТ, U/L	АсАТ, U/L	Загальний білірубін, мкмоль/л
15	5,00 4,90 – 5,25	66,9 65,2 – 69,7	4,50 4,00 – 5,15	46,0 * 39,5 – 49,5	63,0 60,0 – 72,5	183,0 172,5 – 210,5	3,9 3,6 – 4,4
30	4,90 4,80 – 5,00	66,4 64,7 – 70,7	4,10 3,70 – 4,95	61,0 54,0 – 63,0	61,0 58,5 – 67,5	206,0 196,0 – 214,0	3,9 3,6 – 4,2
90	5,10 4,75 – 5,20	69,9 67,7 – 72,1	4,60 4,30 – 5,05	61,0 52,0 – 76,0	64,0 56,5 – 80,5	197,0 146,5 – 203,0	3,8 3,5 – 4,2
180	4,90 4,75 – 5,15	73,3 69,2 – 77,2	4,90 4,35 – 5,13	67,0 63,5 – 70,5	59,0 50,2 – 62,0	190,0 184,0 – 198,0	4,3 4,2 – 4,4
270	4,80 4,65 – 4,90	69,8 67,5 – 72,5	4,50 4,10 – 4,95	52,0 48,0 – 58,0	65,0 63,0 – 74,0	182,0 175,5 – 189,0	4,8 3,8 – 5,3
Контрольна група, n=3	5,20 5,00 – 5,30	70,2 67,6 – 70,3	4,00 3,85 – 4,40	59,0 54,0 – 60,5	66,0 66,0 – 76,5	197,0 190,0 – 200,5	4,2 3,9 – 4,5

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

Висновки

1. Динаміка гематологічних показників у щурів вказує на відсутність системної запальної реакції організму на введення імплантатів на основі полілактиду.
2. Відсутність зростання активності печінкових ферментів (АлАТ і АсАТ), вмісту загального білірубіну, сечовини та креатиніну свідчить про відсут-

ність токсичного впливу імплантатів з полілактиду на функціональний стан печінки та нирок.

Перспективи подальших досліджень. Плануються подальші дослідження щодо застосування імплантатів на основі полілактиду в ортопедії та травматології для оперативного лікування хворих з патологією опорно-рухового апарату.

References

1. Rogovina SZ. Biorazlagaemye polimernye kompozitsii na osnove sinteticheskikh i prirodnykh polimerov razlichnykh klassov. *Vysokomolekulyarnye soedineniya*. 2016; 58 (1): 68–80. [Russian]
2. Isyar M, Yilmaz I, Nusran G, Guler O, Yalcin S, Mahirogullari M. Safety of bioabsorbable implants in vitro. *BMC Surg*. 2015 Dec 12; 15: 127. PMID: PMC4676853. doi: 10.1186/s12893-015-0111-4
3. Ebnesajjad S, Andrew W. *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics: Properties, Processing and Applications*. 2013. 462 p.
4. Goulart CO, Lopes FR, Monte ZO, Dantas SV Jr, Souto A, Oliveira JT, Almeida FM, et al. Evaluation of biodegradable polymer conduits--poly(L-lactic acid)--for guiding sciatic nerve regeneration in mice. *Methods*. 2016 Apr 15; 99: 28-36. PMID: 26361830. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.09.008
5. Göelzer JG, Avelar RL, Dolzan AN, Becker OE, Haas OL Jr, de Oliveira LY, de Oliveira RB. Evaluation of tissue response and genotoxicity of poly(L/D-lactic acid) disks implanted in rat calvarium. *Histol Histopathol*. 2012 Dec; 27 (12): 1551-7. PMID: 23059886. doi: 10.14670/HH-27.1551
6. *Laboratorni metodi doslidzhen u biologiyi, tvarinnitvi ta veterinarniy meditsini: dovidnik*. Ed. By VV Vlizlo. Lviv: SPOLOM, 2012. 764 s. [Ukrainian]
7. Goryachkovskiy AM. *Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike*. Odessa: Ekologiya, 2005. 616 s. [Russian]
8. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika: Per s angl*. M: Praktika, 1998. 459 s. [Russian]

УДК 616.718.45-57.089.67

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ КРЫС БИОПОЛИМЕРА НА ОСНОВЕ ПОЛИЛАКТИДА ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ В БЕДРЕННУЮ КОСТЬ

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

Резюме. В статье рассмотрены вопросы клинико-лабораторной оценки воздействия на организм крыс биополимера на основе полилактида после имплантации в бедренную кость. Как известно, биополимеры на основе полилактида считаются одними из лучших, благодаря их хорошей биосовместимости и резорбционных характеристик. Полимолочная кислота по химической структуре является алифатическим полиэфиром, который чаще всего используется в биомедицинской инженерии. Эта органическое соединение имеет низкую аллергенность, низкую токсичность, высокую биосовместимость и предполагаемую кинетику деградации, а также не влияет на геном. Таким образом, можно считать актуальным направление исследований токсического действия на организм экспериментальных животных биополимера на основе полилактида после имплантации. При проведении эксперимента крысам проводили имплантацию

штифтов с L-полімолочної кислоти в бедренну кість. Експеримент був проведений на 38 крысах-самцях, вік тварин – 4,5 місяця. На кожному термі спостереження у крыс (n=7) відбирали кров для дослідження – на 15, 30, 90, 180 і 270 днів після імплантації. Контрольну групу тварин складали інтактні крыси (n=3). Тваринам проводили загальний клінічний (еритроцити, гемоглобін, лейкоцити і лейкограма) і біохімічний аналізи крові. В сироватці крові крыс досліджували активність АлАТ, АсАТ і ГГТП, глюкозу, загальний білок, мочевину, креатинін і загальний білірубін. В результаті дослідження гематологічних показувачів було встановлено відсутність змін еритроцитопоеза. В період всього термі спостереження лейкограма також не змінилася, що вказує на відсутність уже на 15 днів після імплантації системної запальної реакції організму на введення імплантатів. По результатам біохімічних досліджень сироватки крові було встановлено відсутність токсичної реакції з боку печінки і нирок на введення імплантатів: активність печінкових ферментів АлАТ і АсАТ, а також загального білірубіна на всіх термінах спостереження не відрізнялася від контрольної групи тварин. Нормальне вміст загального білка свідчить про відсутність загальної інтоксикації організму і руйнування тканин, а рівень глікемії вказує на відсутність стресової реакції організму у крыс. Знижене вміст креатиніна в сироватці крові тварин на 15 днів спостереження свідчить про зниження локомоторної активності після оперативного втручання. Таким чином, динаміка гематологічних показувачів у крыс вказує на відсутність системної запальної реакції організму на введення імплантатів на основі полілактоїду. Відсутність зростання активності печінкових ферментів (АлАТ і АсАТ), вмісту загального білірубіна, мочевини і креатиніна свідчить про відсутність токсичного впливу імплантатів з полілактоїду на функціональний стан печінки і нирок.

Ключові слова: крыси, біополімери, полілактоїд, бедренна кість, імплантація, лейкограма, біохімічні маркери крові.

UDC 616.718.45-57.089.67

Clinical and Laboratory Assessment of the Effect on the Body of Rats of Biopolymer Based on Polylactide after Implantation in the Femur

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

Abstract. The article deals with the clinical and laboratory assessment of the effect on the body of rats of biopolymer based on polylactide after implantation in the femur. As is known, biopolymers based on polylactide are considered among the best due to their good biocompatibility and resorption characteristics. Polylactic acid by chemical structure is aliphatic polyester, which is most often used in biomedical engineering. This organic compound has a low allergenicity, low toxicity, high biocompatibility and the expected kinetics of degradation, and also does not affect the genome. Thus, the direction of studies of the toxic effect on the organism of experimental animal biopolymer based on polylactide after implantation can be considered relevant.

The purpose of the study was to conduct clinical and laboratory evaluation of the effect of the biopolymer based on polylactide on the body of rats after implantation in the femur.

Material and methods. During the experiment, rats were implanted with pins from L-polylactic acid to the femur. The experiment was carried out on 38 male rats, the animals' age was 4.5 months. At each observation period, rats (n=7) were sampled for 15, 30, 90, 180 and 270 days after implantation. The control group of animals was comprised of intact rats (n = 3). The animals underwent general clinical (red blood cells, hemoglobin, leukocytes and leukogram) and biochemical blood tests. In the blood serum of rats, the activity of AlAT, AsAT and GGT, glucose, total protein, urea, creatinine and total bilirubin was investigated. After studying the hematological parameters, we established the absence of changes in erythrocytogenesis.

Results and discussion. During the whole period of observation, the leukogram also did not change, which indicates the absence of the systemic inflammatory reaction of the body to implantation already on the 15th day after implantation. According to the results of biochemical studies of blood serum, there was no evidence of a toxic reaction from the liver and kidneys to implantation: the activity of liver enzymes AlAT and AsAT, as well as total bilirubin at all times of observation did not differ from the control group of animals. The normal content of total protein indicates the absence of general intoxication of the body and destruction of tissues, and the level of glycaemia indicated the absence of a stressful reaction in rats' organisms. Reduced creatinine content in the blood serum of animals on the 15th day of observation indicates a decrease in locomotor activity after surgery.

Conclusions. Thus, the dynamics of hematological indicators in rats indicated the absence of the body systemic inflammatory response to the introduction of implants based on polylactide. The absence of increased activity of hepatic enzymes (AlAT and AsAT), the content of total bilirubin, urea and creatinine indicated the absence of toxic effects of polylactide implants on the functional state of the liver and kidneys.

Keywords: rats, biopolymers, polylactide, femur, implantation, leukogram, biochemical markers of blood.

Стаття надійшла 25.02.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування