

УДК 616.717/.718-006-089.844-092.2:615.277](045)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872021442-48>

## Дослідження біохімічних маркерів остеогенезу в разі інкорпорації кісткових алоімплантатів у щурів із післяопераційним введенням цисплатину за різних умов стерилізації алоімплантата

О. Є. Вирва, Я. О. Головіна, Ф. С. Леонтєва, Р. В. Малик

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

*Bone allografts are commonly used for surgical treatment of cancer patients. However, such complications as violation of allograft fusion, its lysis and fractures, infection lead to additional research in this field of medicine. Objective. To study changes in biochemical osteogenesis markers under the action of cytostatics on the process of incorporation of bone allografts. Methods. The work was performed on 20 male white rats (age at the beginning of the experiment 5–6 months). All animals have a perforated defect in the distal metaphysis of the femur filled with bone allograft (diameter 2 mm, height 3 mm),  $\gamma$ -radiation sterilized (Control-1 and Experiment-1) or saturation of the antibiotics sterilized (Control-2 and Experiment-2). In groups «Control» 14 days after implantation intraperitoneally injected 2.0–2.4 ml of 0.9 % sodium chloride solution, in the groups «Experiment» — cisplatin at a dose of 2.5 mg/kg once. 30 days after surgery, blood glycoproteins, total protein, Ca, chondroitin sulfates, acidic and alkaline phosphatase activity were evaluated. The index of mineralization (ratio of alkaline to acid phosphatases), degree is analyzed mineralization (ratio of calcium to protein). Results. In the experimental groups, compared with the control, a significant decrease in total protein and values was determined: total calcium, which indicates the suppression of processes mineralization during remodeling of bone tissue of the recipient and allograft. The highest indicators of activity acid phosphatase were recorded in groups Experiment-1 and Experiment-2, reflecting the predominance of resorption over bone formation. The degree of mineralization in the experimental groups was higher than in the control, and the mineralization index was significantly smaller. Conclusions. The detected changes in the values of biochemical markers of bone metabolism reflect the negative effect of cisplatin on osteogenesis under the conditions of allograft implantation, which leads to the lack of their fusion with the recipient bone. Key words. Biochemical markers of bone metabolism, remodelling of bone allografts, sterilisation,  $\gamma$ -ionisation, cisplatin, rats.*

Кісткова алопластика — часто вживана методика хірургічного лікування онкологічних пацієнтів. Проте ускладнення в разі її використання (порушення зрощення алоімплантата та кістки реципієнта, його лізис і переломи, інфекція) обумовлюють проведення досліджень у цьому напрямку. Мета. Дослідити зміни біохімічних маркерів остеогенезу за умов дії цитостатиків на процес інкорпорації кісткових алоімплантатів. Методи. Роботу виконано на 20 самцях білих щурів (вік на початок експерименту 5–6 міс.). Усім тваринам дірчастий дефект у дистальному метафізі стегнової кістки заповнили алогенним кістковим матеріалом (діаметр 2 мм, висота 3 мм), стерилізованим за допомогою  $\gamma$ -випромінювання (Контроль-1 і Дослід-1) або насиченням антибіотика (Контроль-2 та Дослід-2). У групах «Контроль» через 14 днів після імплантації внутрішньоочеревинно вводили 2,0–2,4 мл розчину 0,9 % натрію хлориду, у групах «Дослід» — цисплатину у дозі 2,5 мг/кг одноразово. Через 30 днів після операції в крові оцінювали глікопротеїни, загальний білок, Ca, хондроїтинсульфати, активність кислої та лужної фосфатази. Проаналізовано індекс мінералізації (співвідношення лужної до кислої фосфатази), ступінь мінералізованості (співвідношення вмісту кальцію до білка). Результати. У дослідних групах порівняно з контрольними визначено суттєве зниження загального білка, значень загального кальцію, що свідчить про пригнічення процесів мінералізації під час ремоделювання кісткової тканини реципієнта й алоімплантата. Найбільші показники активності кислої фосфатази зафіксовано в групах Дослід-1 і Дослід-2, що відображує переважання резорбції над кісткоутворенням. Ступінь мінералізованості в дослідних групах був вищим, ніж у контрольних, а індекс мінералізації — суттєво меншим. Висновки. Виявлені зміни значень біохімічних маркерів кісткового метаболізму відображують негативний вплив цисплатину на остеогенез за умов імплантації алоімплантатів, що призводить до відсутності їхнього зрощення з кісткою реципієнта.

**Ключові слова.** Біохімічні маркери кісткового метаболізму, ремоделювання кісткових алоімплантатів, стерилізація,  $\gamma$ -випромінювання, цисплатин, щури

## Вступ

Заміщення післярезекційних дефектів довгих кісток у разі їхнього пухлинного ураження — одне з важливіших завдань онкоортопедії. Адекватне та максимально повне відновлення функції ураженої пухлиною кінцівки — запорука гарного ортопедичного результату. Уже багато десятиріч кісткова алопластика є часто вживаною методикою хірургічного лікування онкологічних пацієнтів [1–3]. Постійно вдосконалюють хірургічні методики та способи підготування алопластичного матеріалу. Це пов'язано з труднощами, які спостерігають у процесі лікування зазначеної категорії хворих. Основні ускладнення в разі кісткової алопластики: порушення зрощення алоімплантата й кістки реципієнта, лізис і переломи алоімплантата, інфекційні ускладнення [4, 5]. На процеси перебудови кісткових алоімплантатів впливають способи їхньої стерилізації та виготовлення, а також вік і захворювання донорів кісткового матеріалу. Відомо, що в разі застосування  $\gamma$ -випромінювання знижується активність остеокластів і, як наслідок, порушується ремоделювання кісткової тканини, а алоімплантати набувають підвищеної ламкості. У разі застосування свіжезаморожених алоімплантатів виявляють більший відсоток інфекційних ускладнень порівняно з матеріалом, обробленим  $\gamma$ -випромінюванням [5, 6].

Для вивчення якості остеогенезу та ремоделювання кісткової тканини, а також інкорпорації кісткових алоімплантатів застосовують морфологічні методи та дослідження біохімічних показників крові пацієнтів і піддослідних тварин.

Натепер широко вивчені біохімічні маркери кісткового ремоделювання за умов різної кісткової патології та, особливо, під час порушень процесів репарації кісткової тканини травматичного генезу та в разі остеопорозу [7].

Серед основних біохімічних маркерів остеогенезу та мінералізації кісткової тканини — кисла та лужна фосфатази, загальний кальцій, остеокальцин, кісткові морфогенетичні білки, глікопротеїни тощо. Ремодювання кісткової тканини відбувається за рахунок двох основних процесів, які постійно перебігають в організмі — резорбції та кісткоутворення. Ці процеси взаємопов'язані та забезпечуються балансом роботи остеокластів та остеобластів. Основними фазами ремоделювання кістки є ініціація, резорбція, реверсія, остеогенез і спокій. Під час фази резорбції активується діяльність остеокластів, які секретиують

кислі протеази, далі залучаються в процес остеогенні клітини, які трансформуються в остеобласти. Інкорпорація кристалів гідроксиапатиту в органічний матрикс забезпечує процес мінералізації. Цей фізіологічний процес дозволяє організму пристосовуватися до різних навантажень через оновлення мікроархітектури кісткової тканини. У результаті її ремоделювання в кров потрапляють вільні амінокислоти й високомолекулярні фрагменти білків, які в подальшому виявляють у біологічних рідинах організму. Для оцінювання якості процесу ремоделювання аналізують індекс мінералізації (співвідношення лужної та кислої фосфатаз), а також ступінь мінералізованості (співвідношення вмісту кальцію та білка) [7]. Таким чином, за допомогою виявлення цих біохімічних маркерів можна вивчати різні патологічні процеси, які відбуваються в кістковій тканині.

*Мета:* дослідити зміни біохімічних маркерів остеогенезу за умов дії цитостатиків на процес інкорпорації кісткових алоімплантатів.

## Матеріал і методи

Роботу виконано на 20 лабораторних білих щурах-самцях (вік — 5 міс., маса тіла — 300–440 г) популяції експериментально-біологічної клініки ДУ «ПХС ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України». Експеримент на щурах проведений із дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (ст. 26) [8, 9]. Усі хірургічні втручання виконували в умовах асептики й антисептики під загальним знеболюванням: аміназин (10 мг/кг живої маси, внутрішньом'язово) та кетамін (50 мг/кг живої маси, внутрішньом'язово). План експерименту затверджений на засіданні комітету з біоетики інституту (протокол № 204 від 15.06.2020).

Тварин розподілили на 4 групи по 5 щурів у кожній:

– Контроль-1 (n = 5) та Дослід-1 (n = 5) — алокісткові імплантати (діаметр 2 мм, висота 3 мм), стерилізовані за допомогою  $\gamma$ -випромінювання ( $\gamma$ -rays);

– Контроль-2 (n = 5) та Дослід-2 (n = 5) — алокісткові імплантати (діаметр 2 мм, висота 3 мм), просочені розчином антибіотика цефтріаксон.

Стерилізацію алоімплантатів проводили радіаційним  $\gamma$ -випромінюванням у дозі від 15 до 25 кГр або шляхом занурювання на 24 год за температури +4 °C у розчин антибіотика цефтріаксон,

розчинник — 0,9 % натрію хлорид, концентрація розчину 1 г/10 мл.

У групах «Контроль» через 14 днів після імплантації алокісткового матеріалу внутрішньоочеревинно вводили 2,0–2,4 мл розчину 0,9 % натрію хлориду, у групах «Дослід» — цисплатин у дозі 2,5 мг/кг одноразово.

Евтаназію щурів здійснювали через 30 днів після операції шляхом введення летальної дози анестетика (тіопентал натрію, 90 мг/кг внутрішньом'язово) та декапітації з подальшим отриманням крові для біохімічних досліджень.

Техніку хірургічних втручань на щурах ми не наводимо, оскільки вона детально описана в попередній статті [10].

Для оцінювання процесів кісткової регенерації та запальних процесів нами обрані такі біохімічні показники крові: глікопротеїни, загальний білок, Са, хондроїтинсульфати, кисла та лужна фосфатази. Також проаналізовано такі показники, як індекс мінералізації (співвідношення лужної до кислої фосфатази), ступінь мінералізованості (співвідношення вмісту кальцію до білка, яке для зручнішого подання збільшене в 1 000 разів).

У сироватці крові визначали вміст глікопротеїнів за методом Штейнберга та Доценка в реакції з молібденовокислим амонієм [11], загальних хондроїтинсульфатів за реакцією з риванолом [12]. Рівень загального білка визначали за біуретовою реакцією згідно з інструкцією до набору реактивів. Активність лужної та кислої фосфатаз досліджували за реакцією з діетаноламіном кінетичними методами згідно з інструкціями до наборів «Лужна фосфатаза – кін. Сп.Л» та «Кисла фосфатаза – кін. Сп.Л». Дослідження проводили на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі GBG Statfax 1904 plus.

Вміст загального та іонізованого кальцію в сироватці крові визначали потенціометричним методом [13] зі застосуванням аналізатора електродів АЭК-01.

Результати статистично опрацьовано з використанням методів параметричного та непараметричного аналізу. Накопичення, коригування, систематизацію вихідної інформації та візуалізацію отриманих показників здійснювали в електронних таблицях Microsoft Office Excel 2016. Статистичний аналіз проведений із використанням програми STATISTICA 10 (розробник — StatSoft, Inc).

У разі опису кількісних показників розраховували результати вимірювань і вони подані як медіана (Me), верхній і нижній квартилі (25 і 75 %).

Для порівняння незалежних сукупностей у випадках малої кількості спостережень і відсутності ознак нормального розподілу даних використано U-критерій Манна-Уїтні.

### Результати та їх обговорення

У дослідженні проаналізовано окремо кожний показник біохімічних маркерів крові щурів і проведено порівняння їх у групах «Дослід» – «Контроль» та «Контроль 1» – «Контроль 2».

Аналізуючи рівні хондроїтинсульфатів крові щурів, виявили, що їхня медіана в групах Дослід-1 і Дослід-2 склала 0,19 г/л та 0,18 г/л з інтерквартильним діапазоном від 0,17 г/л до 0,23 г/л і від 0,15 г/л до 0,20 г/л відповідно. Значення в групах Контроль-1 і Контроль-2 становили 0,18 г/л (0,17; 0,21) та 0,16 г/л (0,16; 0,17) відповідно. Рівень хондроїтинсульфатів крові у всіх групах тварин статистично не відрізнявся ( $p > 0,05$ ), що свідчить про відсутність суттєвих змін у метаболізмі глікозаміногліканів.

Аналіз рівня глікопротеїнів крові щурів показав схожі результати. А саме, медіана рівня глікопротеїнів у щурів груп Дослід-1 і Дослід-2 склала 0,74 од. та 0,77 од. з інтерквартильним діапазоном від 0,73 од. до 0,75 од. та від 0,73 од. до 0,78 од. відповідно. Аналогічні показники в контрольних групах (Контроль-1 і Контроль-2) склали 0,80 од. (0,79; 0,82) та 0,77 од. (0,63; 0,81) відповідно. Статично значущої різниці під час аналізу значень глікопротеїнів у всіх групах не визначено ( $p > 0,05$ ) (табл. 1), що вказує на відсутність процесів запалення у тварин.

Медіана рівня загального білка крові у щурів груп Дослід-1 і Дослід-2 склала 69,80 г/л та 66,00 г/л з інтерквартильним розмахом від 66,20 г/л до 72,90 г/л та від 65,50 г/л до 67,80 г/л відповідно. Показники в групах Контроль-1 і Контроль-2 дорівнювали 80,40 г/л (70,70; 83,20) та 83,30 г/л (78,80; 88,70) відповідно.

Показник загального білка крові щурів у дослідних групах щурів був меншим, ніж у контрольних. Статистично значуще зниження показника загального білка крові виявлено в дослідних групах порівняно з Контролем-2: у разі попарного порівняння груп Дослід-1 і Контроль-2 —  $U = 0$ ;  $Z = 2,51$ ;  $p = 0,012$ , Дослід-2 та Контроль-2 —  $U = 0$ ;  $Z = 2,51$ ;  $p = 0,012$ .

Медіана рівня загального кальцію крові щурів у групах Дослід-1 і Дослід-2 становила 0,0942 г/л і 0,0934 г/л з інтерквартильним діапазоном від 0,0934 г/л до 0,0954 г/л та від 0,0922 г/л до 0,0942 г/л відповідно. Показники у групах Конт-

роль-1 і Контроль-2 дорівнювали 0,0994 г/л (0,0954; 0,1006) та 0,0994 г/л (0,0982; 0,1006) відповідно.

Показник загального кальцію крові щурів у дослідних групах щурів був меншим, ніж у контрольних. Статистично значуще зниження цього показника зафіксовано в дослідних групах порівняно з групою Контролем-2: у разі попарного порівняння груп Дослід-1 і Контроль-2 —  $U = 0$ ;  $Z = -2,51$ ;  $p = 0,012$ , а для груп Дослід-2 та Контроль-2 —  $U = 0$ ;  $Z = -2,51$ ;  $p = 0,012$ .

Медіана рівня лужної фосфатази у щурів груп Дослід-1 і Дослід-2 становила 383 од. та 290 од. з інтерквартильним діапазоном від 276 од. до 446 од. та від 255 од. до 299 од. відповідно. Аналогічні показники в групах Контроль-1 і Контроль-2 склали 269 од. (256; 290) та 313 од. (262; 317) відповідно. Попарно між усіма групами тварин статистично значущої різниці рівня лужної фосфатази не виявлено ( $p > 0,05$ ) (табл. 3, рис. 1).

Медіана рівня кислої фосфатази у щурів груп Дослід-1 і Дослід-2 становила 35,30 од. та 35,00 од.

з інтерквартильним діапазоном від 33,50 од. до 40,50 од. та від 33,70 од. до 35,70 од. відповідно. Аналогічні показники в групах Контроль-1 і Контроль-2 дорівнювали 6,80 од. (6,50; 7,80) і 18,50 од. (18,20; 20,20) відповідно. Після попарного порівняння показників кислої фосфатази між дослідними та контрольними групами виявлено статистично значуще збільшення в групах Дослід-1 і Дослід-2 —  $U = 0$ ;  $Z = 2,51$ ;  $p = 0,012$  (табл. 3, рис. 1).

Медіана ступеня мінералізованості у щурів груп Дослід-1 і Дослід-2 становила 1,35 і 1,41 з інтерквартильним розмахом від 1,31 до 1,41 та від 1,39 до 1,41 відповідно. Аналогічні величини в групах Контроль-1 і Контроль-2 дорівнювали 1,24 (1,21; 1,35) та 1,21 (1,17; 1,25) відповідно. Попарне порівняння показників ступеня мінералізованості між дослідними та контрольними групами виявило статистично значуще збільшення в групах Дослід-1 і Дослід-2 порівняно з групою Контроль-2 ( $U = 0$ ;  $Z = 2,51$ ;  $p = 0,012$ ),

Таблиця 1

**Значення глікопротеїнів і хондроїтинсульфатів у крові щурів після встановлення кісткових алоімплантатів, стерилізованих різними методами, та введення цитостатичного препарату**

Група тварин	Глікопротеїни, од.			Хондроїтинсульфати, г/л		
	медіана	25 % кuartиль	75 % кuartиль	медіана	25 % кuartиль	75 % кuartиль
Дослід-1 ( $\gamma$ -гаус + цисплатин)	0,74	0,73	0,75	0,19	0,17	0,23
Дослід-2 (цефтріаксон + цисплатин)	0,77	0,73	0,78	0,18	0,15	0,20
Контроль-1 ( $\gamma$ -гаус + NaCl 0,9 %)	0,80	0,79	0,82	0,18	0,17	0,21
Контроль-2 (цефтріаксон + NaCl 0,9 %)	0,77	0,63	0,81	0,16	0,16	0,17

Таблиця 2

**Значення загального білка та загального кальцію в крові щурів після встановлення кісткових алоімплантатів, стерилізованих різними методами, та введення цитостатичного препарату**

Група тварин	Загальний білок, г/л			Загальний кальцій, г/л		
	медіана	25 % кuartиль	75 % кuartиль	медіана	25 % кuartиль	75 % кuartиль
Дослід-1 ( $\gamma$ -гаус + цисплатин)	69,80	66,20	72,90	0,0942	0,0934	0,0954
Дослід-2 (цефтріаксон + цисплатин)	66,00	65,50	67,80	0,0934	0,0922	0,0942
Контроль-1 ( $\gamma$ -гаус + NaCl 0,9 %)	80,40	70,70	83,20	0,0994	0,0954	0,1006
Контроль-2 (цефтріаксон + NaCl 0,9 %)	83,30	78,80	88,70	0,0994	0,0982	0,1006

Таблиця 3

**Значення активності лужної та кислої фосфатаз у крові щурів після встановлення кісткових алоімплантатів, стерилізованих різними методами, та введення цитостатичного препарату**

Група тварин	Лужна фосфатаза, од.			Кисла фосфатаза, од.		
	медіана	25 % кuartиль	75 % кuartиль	медіана	25 % кuartиль	75 % кuartиль
Дослід-1 ( $\gamma$ -гаус + цисплатин)	383,00	276,00	446,00	35,30	33,50	40,50
Дослід-2 (цефтріаксон + цисплатин)	290,00	255,00	299,00	35,00	33,70	35,70
Контроль-1 ( $\gamma$ -гаус + NaCl 0,9 %)	269,00	256,00	290,00	6,80	6,50	7,80
Контроль-2 (цефтріаксон + NaCl 0,9 %)	313,00	262,00	317,00	18,50	18,20	20,20



а також у групі Дослід-2 порівняно з групою Контроль-1 ( $U = 2,00$ ;  $Z = 2,089$ ;  $p = 0,037$ ).

Проведений аналіз показників індексу мінералізації (табл. 4, рис. 2): медіана у щурів груп Дослід-1 і Дослід-2 склала 9,36 та 8,54 од. з інтерквартильним діапазоном від 7,82 од. до 12,22 од. та від 7,14 од. до 8,61 од. відповідно. Аналогічні значення в групах Контроль-1 і Контроль-2 дорівнювали 41,38 од. (28,13; 42,65) та 17,14 од. (13,13; 18,91) відповідно. Парне порівняння показників індексу мінералізації між дослідними та контрольними групами показало статистично значуще зменшення в групах Дослід-1 і Дослід-2 порівняно з групою Контроль-1 ( $U = 0$ ;  $Z = 2,51$ ;  $p = 0,012$ ), а також статистично значуще збільшення в групі Дослід-2 порівняно з Контроль-2 ( $U = 1,00$ ;  $Z = -2,298$ ;  $p = 0,022$ ).

## Обговорення

Біологію приживлення кісткового транспланта вивчали багато фахівців [2, 4, 14–17], але вплив  $\gamma$ -випромінювання на цей процес нез'ясований. Відновлення та перебудова алотранспланта передбачає й остеоіндукцію, й остеокондукцію. Остеоіндукція пов'язана з адгезією мезенхімаль-

них клітин реципієнта на поверхні транспланта з подальшою їхньою диференціацією й утворенням кісткової тканини. Одну з вирішальних ролей у ремоделюванні кістки відіграють остеокласти. Під час виготовлення алотрансплантатів (знежирення, сублімаційне сушіння та  $\gamma$ -випромінювання) знижується активність остеокластів на 57 % у порівнянні зі свіжозамороженою кісткою. Тобто,  $\gamma$ -випромінювання впливає на процес ремоделювання кісткового алотранспланта. Проте рівень цього порушення відрізняється [18], що залежить від дози та методики опромінення імплантатів. Ми виявили негативний вплив  $\gamma$ -випромінювання на остеогенез у результаті гістологічних досліджень [10], проте аналіз його біохімічних маркерів не показав значущого впливу. Дію цитостатичних хіміопрепаратів на процеси перебудови алотранспланта вивчено недостатньо й аналітичного огляду з цієї теми в літературі не виявлено. Є повідомлення, що хіміотерапія спричинює імуносупресію та через це негативно впливає (уповільнює або зовсім пригнічує) на процеси зрощення алотрансплантатів із кісткою реципієнта [19].

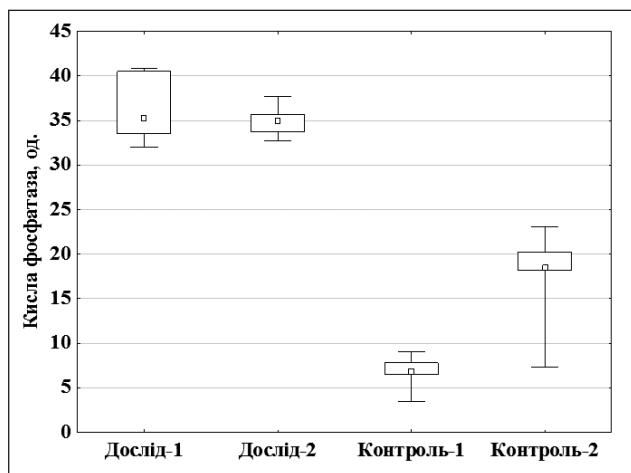


Рис. 1. Діаграма показників активності кислій фосфатази. Статистично значуще підвищення в групах Дослід-1 і Дослід-2

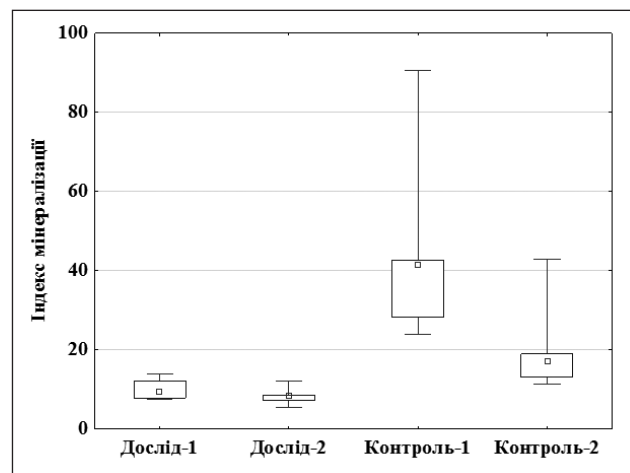


Рис. 2. Діаграма показників індексу мінералізації. Статистично значуще зменшення в групах Дослід-1 і Дослід-2

Таблиця 4  
Оцінювання ступеня мінералізованості й індексу мінералізації кісткової тканини щурів після встановлення кісткових алотрансплантатів, стерилізованих різними методами, та введення цитостатичного препарату

Група тварин	Ступінь мінералізованості			Індекс мінералізації		
	медіана	25 % квартиль	75 % квартиль	медіана	25 % квартиль	75 % квартиль
Дослід-1 ( $\gamma$ -rays + цисплатин)	1,35	1,31	1,41	9,36	7,82	12,22
Дослід-2 (цефтріаксон + цисплатин)	1,41	1,39	1,41	8,54	7,14	8,61
Контроль-1 ( $\gamma$ -rays + NaCl 0,9 %)	1,24	1,21	1,35	41,38	28,13	42,65
Контроль-2 (цефтріаксон + NaCl 0,9 %)	1,21	1,17	1,25	17,14	13,13	18,91

Визначено статистично значуще зниження загального білка в крові тварин груп Дослід-1 і Дослід-2 (де через 14 днів після імплантації вводили цисплатин) у порівнянні з контрольними групами. Це вказує на те, що обрана доза цитостатичного препарату (цисплатин) була адекватною та викликала токсичну реакцію організму. Таким чином, експериментальна модель щодо вивчення дії хіміопрепаратів на процеси ремоделювання кісткової тканини за умов кісткової алопластики відтворена максимально близькою до такої в пацієнтів зі злякисними пухлинами кісток.

Вміст хондроїтинсульфатів у досліджених групах щурів суттєво не відрізнявся, що свідчить про відсутність впливу обох чинників на обмін глікозамінгліканів.

Статистично значущої різниці рівня глікопротеїнів у крові щурів досліджуваних груп також не спостерігали, що відображає відсутність запальних процесів. Відповідно, запалення не впливало на перебіг остеогенезу, що дало нам змогу адекватно оцінити інші біохімічні маркери.

Зниження значень загального кальцію в крові тварин дослідних груп порівняно з контрольними свідчить про пригнічення процесів мінералізації під час ремоделювання кісткової тканини реципієнта і перебудови алоімплантата.

Зафіксовані найбільші показники активності кислої фосфатази у групах Дослід-1 і Дослід-2, де застосовано цисплатин, відображають порушення процесів ремоделювання та перевагу резорбції над кісткоутворенням.

Ступінь мінералізованості в дослідних групах виявився вищим, ніж у контрольних. Також встановлено значне зменшення індексу мінералізації в групах щурів, які отримали цисплатин.

Після попарного порівняння груп біохімічних маркерів остеогенезу в групах Дослід-1/Дослід-2, Контроль-1/Контроль-2 не виявлено суттєвих розбіжностей. Це дає змогу стверджувати, що спосіб стерилізації кісткових алоімплантатів не впливає на метаболізм кісткової тканини.

Таким чином, можна зробити висновок, що саме хіміотерапевтичний цитостатичний препарат (цисплатин) чинить негативну дію на перебіг остеогенезу, загальмовує його та призводить до переважання процесу резорбції кісткової тканини. Усе це сповільнює зрощення кісткового алоімплантата з кісткою реципієнта або повністю внеможливує його інкорпорацію та спричинює лізис.

## Висновки

У результаті проведеного біохімічного дослідження маркерів остеогенезу виявлено, що токсична доза цитостатичного хіміопрепарату була підібрана адекватно, ознак запальних реакцій не визначено. Тобто, на піддослідних тваринах відтворено максимально наближену ситуацію до клінічної в пацієнтів.

Виявлені зміни у значеннях біохімічних маркерів кісткового метаболізму відображають негативний вплив цисплатину на остеогенез за умов імплантації алоімплантатів, що призводить до відсутності їхнього зрощення з кісткою реципієнта.

Спосіб стерилізації кісткових алоімплантатів не впливає на метаболізм кісткової тканини.

**Конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

## Список літератури

1. Megaprosthesis versus allograft prosthesis composite for the management of massive skeletal defects: a meta-analysis of comparative studies / D. Gautam, N. Arora, S. Gupta [et al.] // *Current reviews in Musculoskeletal Medicine*. — 2021. — Vol. 14 (3). — P. 255–270. — DOI: 10.1007/s12178-021-09707-6.
2. Evaluation of clinical results and complications of structural allograft reconstruction after bone tumor surgery / M. Ghare-daghi, M. T. Peivandi, M. Mazloomi [et al.] // *The Archives of Bone and Joint Surgery*. — 2016. — Vol. 4 (3). — P. 236–242.
3. Systematic review and meta-analysis of modular endoprosthesis and allograft-prosthetic composite reconstruction results after bone tumor resection / O. Vyryva, Y. Golovina, R. Malyk, O. Golovina // *Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics*. — 2020. — No. 2. — P. 5–15. — DOI: 10.15674/0030-5987202025-15 (in Ukrainian).
4. Nguyen H. Sterilization of allograft bone: effects of gamma irradiation on allograft biology and biomechanics / H. Nguyen, D. A. Morgan, M. R. Forwood // *Cell and Tissue Banking*. — 2007. — Vol. 8 (2). — P. 93–105. — DOI: 10.1007/s10561-006-9020-1.
5. Post-operative infection with fresh frozen allograft: reported outcomes of a hospital-based bone bank over 14 years / W. Y. Man, T. Monni, R. Jenkins, P. Roberts // *Cell and Tissue Banking*. — 2016. — Vol. 17 (2). — P. 269–275. — DOI: 10.1007/s10561-016-9547-8.
6. Gamma radiation sterilization reduces the high-cycle fatigue life of allograft bone / A. Islam, R. Chapin, E. Moore [et al.] // *Clinical Orthopaedics and Related Research*. — 2016. — Vol. 474 (3). — P. 827–835. — DOI: 10.1007/s11999-015-4589-y.
7. Masheiko I. V. Biochemical markers for the evaluation of bone tissue remodeling in osteopenia and osteoporosis / I. V. Masheiko // *Journal of the Grodno State Medical University*. — 2017. — No. 2. — P. 149–153. — Available from: <http://journal-grsmu.by/index.php/ojs/article/view/2086> (in Russian).
8. European Convention for the protection of vertebrate animals used for research and other scientific purposes. Strasbourg, 18 March 1986: official translation. Verkhovna Rada of Ukraine. (In Ukrainian). URL: [http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994\\_137](http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137).
9. On protection of animals from cruel treatment: Law of Ukraine № 3447-IV of February 21, 2006. The Verkhovna Rada of Ukraine. (In Ukrainian). URL: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/>

- main.cgi?nreg=3447-15.
10. Effects of gamma radiation and post-operative cisplatin injection on the incorporation of bone allografts in rats / O. Vyrva, Y. Holovina, N. Ashukina [et al.] // Ukrainian Journal of Radiology and Oncology. — 2021. — Vol. 29 (3). — P. 51–62. — DOI: 10.46879/ukroj.3.2021.51-62.
  11. Leontieva F. S. [Biochemical markers of connective tissue metabolism in osteochondrosis of the lumbar spine] / F. S. Leontieva, D. V. Morozenko // Pivdenoukrayins'kyi medychnyy naukovyy zhurnal. — 2016. — No. 13. — С. 100–102. — Available from: [http://medfoundation.od.ua › zhurnaly › 13\\_2016](http://medfoundation.od.ua › zhurnaly › 13_2016). (in Russian).
  12. Morozenko D. V. [Research methods markers of connective tissue metabolism in modern clinical and experimental medicine] / D. V. Morozenko, F. S. Leontieva // Molodyy vchenyy. — 2016. — No. 2 (29). — P. 168–172. — Available from: <http://molodyvcheny.in.ua/files/journal/2016/2/41.pdf> (in Ukrainian).
  13. [Medical laboratory technology: A guide to clinical laboratory diagnostics, in 2 volumes] / Ed. A. I. KArpishchenko. — 3<sup>rd</sup> edition. — Vol. 2. — Moscow : Geotar-Media. — 2013. — 792 p. — Available from: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970422748.html> (in Russian).
  14. Sohn H. S.. Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries / Sohn H. S., Ю К. Oh // Biomaterials Research. — 2019. — Vol. 23. — Article ID: 9. — DOI: 10.1186/s40824-019-0157-y.
  15. Factors affecting nonunion of the allograft-host junction / F. J. Hornicek, M. C. Gebhardt, W. W. Tomford [et al.] // Clinical Orthopaedics and Related Research. — 2001. — Vol. 382. — P. 87–98. — DOI: 10.1097/00003086-200101000-00014.
  16. Russell N. The effect of sterilization methods on the osteoconductivity of allograft bone in a critical-sized bilateral tibial defect model in rabbits / N. Russell, R. A. Oliver, W. R. Walsh // Biomaterial. — 2013. — Vol. 34 (33). — P. 8185–8194. — DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.07.022.
  17. Bone regeneration during use of allo- and xenografts in combination with bioactive blood serum factors / M. Korzh, P. Vorontsov, N. Ashukina [et al.] // Ortopaedisc, Traumatology and Prosthetics. — 2019. — No. 2. — P. 5–12. — DOI: 10.15674/0030-5987201925-12 (in Ukrainian)
  18. Do massive allograft reconstructions for tumors of the femur and tibia survive 10 or more years after implantation? / L. A. Aponte-Tinao, M. A. Ayerza, J. I. Albergo, G. L. Farfalli // Clinical Orthopaedics and Related Research. — 2020. — Vol. 478 (3). — P. 517–524. — DOI: 10.1097/CORR.0000000000000806.
  19. Cisplatin inhibits bone healing during distraction osteogenesis / Stine K. C., Wahl E. C., Liu L. [et al.] // Journal of Orthopaedic Research. — 2014. — Vol. 32 (3). — P. 464–470. — DOI: <https://doi.org/10.1002/jor.22527>

Стаття надійшла до редакції 31.10.2021

---

## STUDY OF BIOCHEMICAL MARKERS OF OSTEOGENESIS IN CASE OF BONE ALLOGRAFTS INCORPORATION IN RATS WITH FOLLOWED AFTER SURGERY ADMINISTRATION OF CISPLATIN AT THE DIFFERENT METHODS OF IMPLANT STERILIZATION

O. Ye. Vyrva, Ya. O. Golovina, F. S. Leontyeva, R. V. Malyk

Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kharkiv

✉ Oleg Vyrva, MD, Prof. in Traumatology and Orthopaedics: [dr.olegvyrva@gmail.com](mailto:dr.olegvyrva@gmail.com)

✉ Yanina Golovina, PhD in Traumatology and Orthopaedics: [dr.yanina.golovina@gmail.com](mailto:dr.yanina.golovina@gmail.com)

✉ Frieda Leontyeva, PhD in Biol. Sci: [alwisia@i.ua](mailto:alwisia@i.ua)

✉ Roman Malyk, PhD in Traumatology and Orthopaedics: [malyk\\_roman@mail.ua](mailto:malyk_roman@mail.ua)