



М. Л. Головаха, І. Ф. Беленічев, Г. А. Жернова, В. М. Чорний, Є. В. Яцун

## ВПЛИВ ПРОДУКТІВ БІОДЕГРАДАЦІЇ ІМПЛАНТІВ ЗІ СПЛАВУ НА ОСНОВІ МАГНІЮ НА ОРГАНІЗМ ЛАБОРАТОРНИХ ЩУРІВ

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** магній, імплантат, токсичність.

Дослідили токсичний вплив продуктів біодеградації імплантатів зі сплаву на основі магнію на організм лабораторних щурів (до дослідної групи включили 14 тварин, до контрольної – шість). В основі дослідження – вивчення показників рівня білка і нітритів у сечі, а також поведінкових реакцій. У результаті роботи не виявили суттєвих відмінностей у показниках основної та контрольної груп лабораторних тварин.

### Влияние продуктов биодegradации имплантов из сплава на основе магния на организм лабораторных крыс

М. Л. Головаха, И. Ф. Беленичев, Г. А. Жерновая, В. Н. Черный, Е. В. Яцун

Исследовали воздействие продуктов биодegradации имплантов из сплава на основе магния на организм лабораторных крыс (в подопытную группу включили 14 животных, в контрольную – 6). Исследование основано на изучении показателей уровня белка и нитритов в моче, а также поведенческих реакций. В результате работы не обнаружили существенных отличий в показателях основной и контрольной групп лабораторных животных.

**Ключевые слова:** магний, имплантат, токсичность.

### Influence of biodegradation products of the implants with magnesium based alloy on the rat's organism

М. Л. Golovakha, I. F. Belenichev, G. A. Zhernovaya, V. N. Chorny, E. V. Yatsun

The effect of degradation of the implant with magnesium based alloy on the body of rats (the test group consists of 14 animals, control group – 6). The study was based on a study of the protein level indicators and detection of the nitrite level in urine, and behavioral responses. It was found no significant differences in results of the test between the control group and in the laboratory animals.

**Key words:** magnesium, implant, toxicity.

Магній в організмі міститься в основному у вигляді солей (у сироватці крові, еритроцитах, скелеті). Вміст магнію в клітинах суттєво перевищує його кількість у позаклітинній рідині, що бере участь в обмінних процесах, тісно взаємодіючи з калієм, натрієм і кальцієм, та є активатором безлічі ферментативних реакцій. Магній також бере участь у синтезі жирних кислот, активації амінокислот, синтезі білка, фосфолованні гліколітичним шляхом глюкози і її похідних, окислювальному декарбоксилюванні цитрату. Нормальний рівень магнію в організмі необхідний для забезпечення «енергетики» життєво важливих процесів: регуляції нервово-м'язової провідності, тону м'язової мускулатури (судин, кишечника, жовчного і сечового міхурів тощо). Магній потрібний для формування циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ), який відіграє есенційну роль у багатьох фундаментальних клітинних реакціях, тому його дефіцит може призводити до серйозних біохімічних і клінічних змін. Біологічна дія магнію пов'язана з секрецією і дією гормону парашитовидної залози, метаболізмом вітаміну D і функцією кісткової тканини. Магній відомий також як антистресовий біоелемент, здатний створювати позитивний психологічний настрій. Цей елемент також зміцнює імунну систему, має антиаритмічну дію, сприяє відновленню сил після фізичних навантажень. Комплексні сполуки магнію надходять у печінку, де використовуються для синтезу біологічно активних сполук [3,4,8].

В організмі дорослої людини міститься близько 140 г магнію (0,2% від маси тіла), 2/3 від цієї кількості припадає на кісткову тканину. Головне «депо» магнію знаходиться в

кістках і м'язах. Магній нетоксичний. Летальна доза для людини не визначена. При концентраціях магнію в крові, що дорівнює 15–18 мг%, настає сон. З організму магній виводиться в основному із сечею і потом. Нирки відіграють ключову роль у гомеостазі магнію. Приблизно 75% магнію сироватки фільтрується в ниркових клубочках. Порушення фільтрації зменшує кількість магнію, що надходить у канальці. Серйозне зниження функції клубочків спричиняє підвищення концентрації магнію в сироватці і може стати причиною порушення біохімічних процесів.

#### МЕТА РОБОТИ

Встановлення біологічної безпеки продуктів біодеградації імплантатів, виготовлених із магнієвого сплаву.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Раніше шляхом легування сріблом стандартного магнієвого сплаву МЛ-10 ми розробили модифікований сплав на основі магнію. Матеріал винайдений для виготовлення конструкцій для остеосинтезу переломів кісток [1]. Виконали також морфологічне дослідження впливу імплантату з такого ж сплаву на остеогенез [5].

У роботі використовували білих безпородних щурів-самців масою 220–270 г (n=20). Тваринам дослідної групи (n=14) у м'язовий масив стегна імплантували фіксатор із модифікованого магнієвого сплаву. Для контролю використали білих безпородних щурів-самців масою 230–250 г (n=6), яким оперативне втручання не виконували (інтактна група). Усі маніпуляції виконали згідно з «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках». Надалі щурів обох груп утримували у стандартних умовах віварію.

Спостереження за щурами, котрі перенесли маніпуляцію з імплантації фіксатора, тривало шість місяців. Для виявлення можливих ознак інтоксикації тварин регулярно (двічі на місяць) зважували, стежили за їхньою руховою і дослідною активністю. Також постійно стежили за характером вживання ними води та їжі, станом волосяного покриву і слизових оболонок [7].

При оцінюванні змін, які відбувались у тварин під час хронічного токсикологічного експерименту, необхідно було виключити можливість впливу всіх побічних чинників, не пов'язаних із предметом вивчення (захворювання тварин, їхнє харчування, утримання тощо), тому умови утримання та характер харчування лабораторних щурів відповідали існуючим стандартам [6].

Для виявлення порушень сечовидільної системи досліджували сечу тварин на вміст білка і нітритів. Білок визначали стандартним біохімічним методом, використовуючи біуретовий реактив. Вміст нітритів вивчали із застосуванням реактиву Грісса. Для вивчення поведінкових реакцій в аспекті токсикології виконували тест «відкрите поле» [2,9], що полягає в дослідженні рухового компонента орієнтовної реакції та емоційної реактивності тварин, які перенесли операцію з імплантації магнієвих фіксаторів. Тест дозволяє оцінити вираженість і динаміку окремих поведінкових елементів, рівень емоційно-поведінкової реактивності тварини («седацію-ажитацію»), звикання, симптоми неврологічного дефіциту, локомоторну стереотипію, рухову активність, дослідну активність та емоційний стан. «Відкрите поле» (ВП) часто використовують як скринінговий тест. У токсикологічних дослідженнях метод застосовують для виявлення мінімальних відхилень, викликаних токсичними агентами, в організмі тварини. Зазвичай у тесті ВП реєструють горизонтальну і вертикальну рухову активність, грумінг (чистку шерсті), обнюхування отворів, дефекацію. Крім того, у ВП зручно спостерігати за такими відхиленнями в моторній сфері, як хиткість ходи, тремор тощо. Горизонтальна рухова активність (ГРА) тварин у ВП включає пробіжки різними траєкторіями, аж до кружляння навколо одного місця. Основним критерієм для ідентифікації такої форми поведінки є участь усіх чотирьох лап у переміщенні тварини. Вертикальна рухова активність (ВРА) тварин у ВП представлена двома видами стійок: задні лапи тварини залишаються на підлозі арили, а передні впираються у стінку поля (climbing) або залишаються у вільному положенні (tearing). Рівень дефекації вважається індексом «емоційності» тварини.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Реєстрація динаміки ваги (рис. 1) засвідчила, що протягом перших двох тижнів після операції у щурів дослідної групи відзначали певне зниження цього показника (на 7%), що, на нашу думку, пов'язано з післяопераційною травмою і болем у місці втручання, а не токсичним впливом продуктів біодеградації імплантатів.

Необхідно зазначити, що обидві групи тварин мали вільний доступ до води та їжі й отримували стандартний раціон харчування. Подальші спостереження за щурами

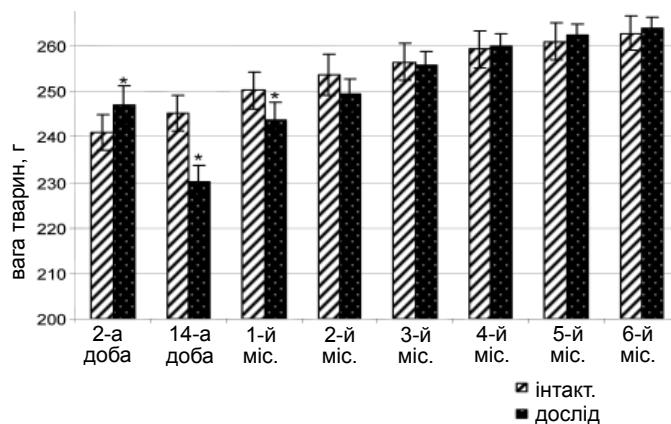


Рис. 1. Динаміка ваги тварин дослідної та контрольної груп після операції.

Примітка: \* – зміни достовірні щодо групи інтактних щурів (p < 0,05).

дослідної групи засвідчили суттєве поліпшення апетиту щурів і значний приріст у вазі (рис. 1) щодо первинних показників. Крім того, систематичне спостереження за станом волосяного покриву і слизових оболонок не виявило жодних відхилень від норми.

На підтвердження відсутності ознак токсичного впливу на сечовидільну систему продуктів біодеградації імплантатів свідчить факт, що в сечі тварин, зібраної за допомогою метаболічної камери, виявили лише сліди білка, а кількість нітритів достовірно не відрізнялась від аналогічної у щурів інтактної групи (табл. 1).

Таблиця 1

### Вміст білка і нітритів у добовій сечі щурів

Група тварин	Добовий діурез, мл	Вміст загального білка, г/л	Вміст нітритів, мкмоль/л
Дослідна, (n=14)	4,77 ± 0,298	0,035 ± 0,004	11,445 ± 0,904
Інтактна, (n=6)	4,536 ± 0,453	0,029 ± 0,008	9,123 ± 0,994

Протеїнурія – одна з важливих лабораторних ознак патології нирок. Через мембрану ниркових клубочків у нормі більша частина білків не проходить, що пояснюється великим розміром білкових молекул, а також їхнім зарядом і будовою. При мінімальних ушкодженнях у клубочках нирок відбувається втрата низькомолекулярних білків (переважно альбуміну), тому при великій втраті білка часто розвивається гіпоальбумінемія. При більш виражених патологічних змінах у сечу потрапляють і більші білкові молекули. У наших токсикологічних дослідженнях достовірних відмінностей за цим критерієм між інтактними і прооперованими щурами не виявили. Також не відбулось достовірних змін в обсязі добового діурезу тварин після операції у порівнянні з інтактними щурами.

Вивчення орієнтовно-дослідної поведінки в умовах «відкритого поля» (рис. 2) засвідчило, що на другу добу після операції у щурів з імплантатами відбувалось зниження сумарного показника рухової активності та дослідної поведінки на 60,6%. На 14-й день після операції активність тварин дослідної групи трохи підвищилась, але

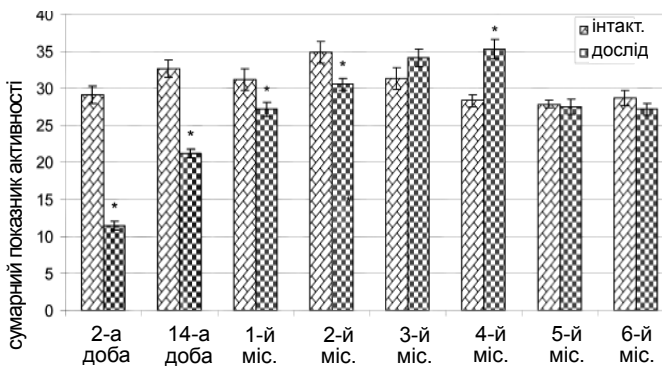


Рис. 2. Динаміка сумарної рухової і дослідної активності щурів.  
Примітка: \* – зміни щодо групи інтактних щурів ( $p < 0,05$ ).

була достовірно нижчою (на 35,3%), ніж у групі інтактних щурів (рис. 2). Це явище можна пояснити післяопераційною травмою. Надалі показники рухової активності дослідної та інтактної груп істотно не відрізнялись. Особливо це показово у терміні з другого до шостого місяця після операції, коли можна очікувати на максимальний токсичний ефект біодеградації сплаву на основі магнію.

Аналіз окремо взятих показників рухової активності у «відкритому полі» виявив найменшу горизонтальну і вертикальну активність у щурів з імплантатами на другий день після операції (табл. 2). Так, їхня ГРА була достовірно ( $p < 0,05$ ) в 3,5 раза нижчою, ніж у тварин інтактної групи, а

ВРА – в 2,5 раза. Дослідна активність (обстеження отворів) також істотно знизилась на другу добу після операції (в 3,9 раза). Схожа тенденція збереглась і на 14-й день експерименту (табл. 2), незважаючи на те, що досліджувані показники дещо зросли.

Аналізуючи горизонтальну рухову активність, слід відзначити, що протягом перших двох місяців експерименту прооперовані тварини уникали центру арени і переміщувались в основному по периферії. Щури інтактної групи в процесі обстеження простору достовірно частіше перетинали квадрати центральної частини арени. Вихід тварини до центру арени в тесті ВП вважається показником відносно низького рівня мотивації страху і тривоги. Виявлений на початкових етапах спостереження страх відкритого простору у щурів із магнієвими імплантатами, який змушував їх утримуватись від виходу до центру поля, істотно знизився з другого місяця спостережень. На четвертому місяці горизонтальна рухова активність у щурів із магнієвими імплантатами вже достовірно перевищувала аналогічний показник інтактної групи на 31,8%. При цьому суттєво збільшилася кількість виходів оперованих щурів до центру арени, що, найімовірніше, свідчить про деякий седативний ефект продуктів біодеградації імплантатів.

Подібну тенденцію визначили і щодо емоційного рівня, який виявляється за кількістю актів дефекації (табл. 2). Найбільші значення показника емоційності відзначали

Таблиця 2

#### Орієнтовно-дослідна поведінка і рухова активність тварин в умовах «відкритого поля»

Група тварин	Горизонтальна рухова активність	Вертикальна рухова активність	Грумінг	Обстеження отворів	Кількість актів дефекації
2-га доба після операції					
Дослідна (n=14)	4,07 ± 0,32*	1,86 ± 0,25*	2,43 ± 0,33	1,14 ± 0,23*	2 ± 0,21
Інтактна (n=6)	14,33 ± 0,71	4,67 ± 0,49	3,33 ± 0,33	4,5 ± 0,43	2,33 ± 0,33
14-та доба після операції					
Дослідна (n=14)	6,21 ± 0,41*	4,64 ± 0,36*	4,36 ± 0,37	3 ± 0,26*	2,93 ± 0,19
Інтактна (n=6)	14,17 ± 0,94	6,33 ± 0,49	5,33 ± 0,49	4 ± 0,37	2,83 ± 0,31
1-й місяць після операції					
Дослідна (n=14)	10,43 ± 0,57	5,57 ± 0,39	5 ± 0,28	3,64 ± 0,25*	2,5 ± 0,14
Інтактна (n=6)	12 ± 0,58	5,83 ± 0,48	6,17 ± 0,54	5 ± 0,37	2,17 ± 0,31
2-й місяць після операції					
Дослідна (n=14)	12,5 ± 0,5	5,93 ± 0,37	5,5 ± 0,39	4,21 ± 0,26*	2,43 ± 0,20
Інтактна (n=6)	13,33 ± 0,80	6,5 ± 0,43	5,83 ± 0,54	6,33 ± 0,49	2,33 ± 0,33
3-й місяць після операції					
Дослідна (n=14)	13,86 ± 0,58*	6,64 ± 0,37	5,86 ± 0,39	5,5 ± 0,25	2,21 ± 0,21
Інтактна (n=6)	11,67 ± 0,84	7 ± 0,58	6 ± 0,45	4,67 ± 0,61	2 ± 0,26
4-й місяць після операції					
Дослідна (n=14)	14,5 ± 0,51*	7 ± 0,42	5,71 ± 0,37	6,14 ± 0,33*	1,93 ± 0,22
Інтактна (n=6)	11 ± 0,52	6,33 ± 0,42	5,33 ± 0,33	4,33 ± 0,49	1,33 ± 0,21
5-й місяць після операції					
Дослідна (n=14)	11,21 ± 0,63	5,43 ± 0,37	4,86 ± 0,21	3,71 ± 0,32	2,28 ± 0,22
Інтактна (n=6)	12 ± 0,58	5,17 ± 0,31	4,83 ± 0,31	4 ± 0,58	1,83 ± 0,31
6-й місяць після операції					
Дослідна (n=14)	10,78 ± 0,48	5,5 ± 0,31	5 ± 0,26	3,93 ± 0,32	1,93 ± 0,22
Інтактна (n=6)	11,67 ± 0,56	5,83 ± 0,48	5,33 ± 0,42	4,17 ± 0,48	1,67 ± 0,21

Примітка: \* – достовірність відмінностей у порівнянні з групою інтактних щурів ( $p < 0,05$ ).



на 14-й день після операції, і достовірних відмінностей між контрольною та дослідною групами в цьому часовому відрізку не встановили. Надалі рівень емоційності як у контрольній, так і в дослідній групах поступово знижувався, що, можливо, пов'язано зі звиканням тварин до умов тестування.

Ще одним показником прояву мотивації страху і тривоги у гризунів є кількість епізодів «завмирання», коли тварина зберігає повну нерухомість протягом більше чи менше тривалих проміжків часу. За нашими спостереженнями, до третього-четвертого місяця експерименту істотно зменшилась кількість «завмирань» у щурів дослідної групи. Статистична обробка засвідчила відсутність достовірних відмінностей у дослідній та інтактній групах ще за одним із найважливіших критеріїв емоційності тварин – грумінгу (чищення шерсті) на всіх етапах спостереження (табл. 2).

Чищення шерсті – важливий компонент поведінки щура загалом й у тесті «відкритого поля» зокрема. Грумінг як елемент вродженої поведінки гризунів має біологічне значення для підтримки чистоти волосяного покриву. Однак уже давно доведено, що у гризунів епізоди грумінгу частішають в обстановці, що викликає у тварини переляк і тривогу. Згідно з поглядами Н. Тінбергена, висловлене припущення, що грумінг, особливо в умовах розміщення тварини в нову обстановку, є проявом конфлікту між дослідною мотивацією і мотивацією страху і тривоги. Вважається, що у щурів грумінг у помірковано «лякливій» обстановці відображає рівень тривоги тварини, точніше певний баланс між тривогою і дослідною активністю, що є, по суті, «зміщеною реакцією» (за термінологією етологів).

Подальші спостереження за виразністю і динамікою окремих елементів поведінки засвідчили поступове збільшення всіх видів рухової і дослідної активності у щурів із магнієвими імплантатами, й уже з другого місяця після операції майже за всіма досліджуваними критеріями активності не було достовірних відмінностей між дослідною та інтактною групами. Реєстрація ГРА у дослідній групі засвідчила достовірне ( $p < 0,05$ ) її збільшення на третьому і четвертому місяці експерименту (в 1,2 і 1,3 раза відповідно) у порівнянні з інтактною групою. В 1,4 раза підвищилась активність обстеження отворів у групі оперованих тварин на четвертому місяці експерименту у порівнянні

з інтактною групою. Відсутність нейротоксичності продуктів біодеградації імплантатів підтверджується загальним неврологічним статусом тварин (високим рівнем емоційно-поведінкової реактивності, відсутністю симптомів неврологічного дефіциту, високою руховою і дослідною активністю, локомоторною стереотипією й емоційним станом).

## ВИСНОВКИ

Реєстрація специфічних і неспецифічних симптомів інтоксикації з метою вивчення біологічної безпеки продуктів біодеградації магнієвих імплантатів засвідчила відсутність несприятливого впливу на загальний фізичний стан (не було патологічних змін очей, шерсті, слизових оболонок, ваги), змін поведінки (висока рухова і дослідна активність), не виявлено також неврологічного дефіциту і відхилень емоційного стану.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Пат. № 66702 Україна. Біодеградуєчий ливарний сплав на основі магнію для остеосинтезу / В.О. Богуслаєв, С.Б. Беліков, Ю.М. Колесник, В.І. Великий та ін.; заявник та патентовласник Публічне акціонерне товариство «МОТОР СІЧ»; Бюлетень № 1 від 10.01.2012.
2. Буреш Я. Методики та основні експерименти з вивчення мозку і поведінки / Я. Буреш, О. Бурешова, Д.П. Х'юстон – М.: Высшая школа, 1991. – С. 119–122.
3. Верткін А.Л. Застосування магнію в кардіології / А.Л. Верткін, В.В. Городецький // Кардіологія. – 1997. – Т. 37, №11. – С. 96–99.
4. Городецький В.В. Препарати магнію в медичній практиці. Мала енциклопедія магнію / В.В. Городецький, О.Б. Талібов – М.: Медпрактика, 2004. – 46 с.
5. Морфогенез репаративної регенерації кісткової тканини в умовах застосування магній-резорбуючих імплантатів / С.І. Тертишний, К.Л. Дикий, М.Л. Головаха, В.М. Чорний, С.В. Яцун // Патологія. – 2012. – №1 (24). – С. 85–88.
6. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. реком. / О.В. Стефанов. – К., 2001. – 528 с.
7. Тишкін С.М. Доклінічні дослідження фармакології безпеки лікарських засобів. Методичні рекомендації / С.М. Тишкін, Л.Б. Бондаренко, В.М. Коваленко. – К., 2011. – 22 с.
8. Школьнікова М.А. Метаболізм магнію і терапевтичне значення його препаратів: Посібник для лікарів / М.А. Школьнікова. – М.: Медпрактика, 2002. – 32 с.
9. Hall C.S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity / C.S. Hall // J. comp. physiol. Psychol. – 1936. – Vol. 22. – P. 345–352.

### Відомості про авторів:

Головаха М.Л., д. мед. н., професор, зав. каф. травматології та ортопедії ЗДМУ.  
Беленічев І.Ф., д. б. н., професор, зав. каф. фармакології та медичної рецептури ЗДМУ.  
Жернова Г.О., асистент каф. фармакології, фармакогнозії та ботаніки ЗДМУ.  
Чорний В.М., к. мед. н., доцент каф. травматології та ортопедії ЗДМУ.  
Яцун С.В., асистент каф. травматології та ортопедії ЗДМУ.

Поступила в редакцію 06.06.2013 г.