

and substantiate the efficacy of antioxidants in this condition. Statistically significant hyperproduction of reactive oxygen leukocytes within 1 day of the experiment, which causes disruption of mitochondrial membrane by bioelectrical activity, characterized by dynamic growth in the percentage of leukocyte cell suspensions with low transmembrane potential of a maximum of 7 days (2.6 times higher than control rate,  $p \leq 0.001$ ) in posttraumatic period after undergoing combined trauma of the chest and both thighs. It was also dynamic, statistically significant increase in the percentage of white blood cells with signs of apoptosis since day 1 of the experiment with the highest values in the period of 7-14 days. Statistically significant average relationship between reactive oxygen and severity of apoptosis in the first 7 days and 28 days ( $r \leq 0.05$ ) and true interdependence between the level of the transmembrane potential and apoptosis through 3 ( $r_{xy} = 0.63$ ) and 7 days ( $r_{xy} = 0.70$ ). The usage of antioxidants in posttraumatic period of combined trauma of the chest and both thighs have the positive effect of decreased percentage of free oxygen radicals (Emoxipin action is evident after 7 and 28 days, Mexicor - starting from 3 days with a maximum action after 7 days). The percentage of cells with low leukocyte suspension transmembrane potential and FITC Annexin V-positive cells leukocyte reduced suspension of the application of the two adjustment factors, but a positive impact Mexicor respect Emoxipin is significantly higher.

**Key words:** combined trauma, free oxygen radicals, transmembrane potential, apoptosis, correction.

Рецензент - д.мед.н., Криницька І.Я.

Стаття надійшла до редакції 29.11.2016 р.

Марущак Марія Іванівна - д.мед.н., доц., зав. кафедри функціональної діагностики та клінічної патофізіології ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського"; +38(097)9981202; marushchak@tdmu.edu.ua

© Мішалов В.Д., Петрошак О.Ю., Хохолева Т.В., Попов В.А.

УДК: 612.12-001.45:340.624

**Мішалов В.Д., Петрошак О.Ю., Хохолева Т.В., Попов В.А.**

Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, Україна, 04112)

## **ОСОБЛИВОСТІ ДОВГОЇ ТРУБЧАСТОЇ КІСТКИ, СТВОРЕНОЇ ІЗ КОМПОЗИТНИХ МАТЕРІАЛІВ, ДЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ**

**Резюме.** З метою проведення експериментальних досліджень в судовій медицині пропонується створення моделі довгої трубчастої кістки із композитних матеріалів та порівняльний аналіз біофізичних властивостей моделі і нативної трубчастої кістки.

**Ключові слова:** судова медицина, імітатори біологічних об'єктів, композитні матеріали.

### **Вступ**

Серед літературних джерел відомі дослідження, що були присвячені кістковій тканині як об'єкту судово-медичної експертизи. Так, В.Г. Донцов [1] проводив дослідження вікових особливостей мікроскопічної будови і мінералізації кісткової тканини плечової кістки, а А.А. Желтиков [2] об'єктом особливостей вікових змін в судово-медичному відношенні обирав ліктьову і плечову кістки.

Н.А. Михеев [3] і І.А. Толмачев [6] за результатами рентгенологічної картини склали судово-медичну характеристику особливостям вогнепальних ушкоджень діафізів довгих трубчастих кісток в аспекті визначення швидкості вогнепального снаряду.

На моделі ізольованої довгої трубчастої кістки В.П. Петров [5] досліджував особливості механізму утворення вогнепальних ушкоджень кінцівок з переломами довгих трубчастих кісток, а Г.А. Пашинян [4] запропонував математичну модель рельєфу твердого піднебіння і її використання при судово-медичній ідентифікації особистості.

За останні 10 років у судовій медицині також відомі роботи, що були присвячені кістковій тканині як об'єкту ідентифікації особи. Так, В.В. Юрасовим [8] вперше запропонований алгоритм дій для встановлення

загальних ознак особи (статевої приналежності, віку і довжини тіла) і на основі результатів аналізу елементного складу кісткової тканини за допомогою лазерного мас-спектрометричного методу встановлений статистично достовірний взаємозв'язок між кількісним елементним складом кісткової тканини конкретної людини і загальними ознаками особи (статевою приналежністю, віком і довжиною тіла). Федулова М.В. [7] у своїй докторській дисертації, на підставі гістологічного і мікроометричного досліджень детально описала вікову динаміку кісткової тканини ребра, епіфізу і діафізу великогомілкової кістки. Автором були знайдені якісні вікові ознаки кісткової тканини, за допомогою яких весь період життя людини можна розділити на інтервали: до 18 років, від 18 до 30 років, від 30 до 50 років і більше 50 років. Можливі шляхи створення моделі довгої трубчастої кістки із композитних матеріалів запропонував О.Ю. Петрошак [9]. Тому актуальним залишається на сьогоднішній день розробка довгої трубчастої кістки із композитних матеріалів для проведення експериментальних досліджень у судовій медицині.

**Мета** дослідження - створити модель довгої трубчастої кістки із композитних (неорганічних компонентів кісткової тканини і штучних полімерних) матеріалів для

експериментальних досліджень

### Матеріали та методи

Матеріалом дослідження слугувала компактна кісткова тканина стегнової кістки людини від 24 до 52 років, а також створений експериментальний матеріал кісткової тканини. Зразки для досліджень виготовляли з середньої третини діафізу кістки. Для локалізації і орієнтації зразків поперечний розріз кістки розділили на п'ять зон - дві передні, дві бічні та задню.

Зразки компактної кісткової тканини у вигляді пластинок прямокутного поперечного січення з розмірами 100x6x1 мм вирізали вздовж повздовжньої вісі кістки x1 з зовнішнього та внутрішнього шарів п'яти зон січення, а в трансверсальному напрямку вздовж вісі x2 - з розмірами 24x6x2 мм з бічних і задніх зон.

Надалі їх досліджували резонансним та ультразвуковим методами. Частоту власних коливань зразка визначали на пристрої "ИЧЗ-9", а швидкість розповсюдження ультразвуку в зразку - на пристрої "ИСС-1" методом торцевого і бічного прозвучування при частоті коливань 150 кГц. Визначення модуля пружності зразків кісткової тканини при розтягуванні проводили на спеціальному стенді, виготовленому в ДУ "Інститут прикладної фізики НАН України", на підставі договору про творчу співпрацю з НМАПО імені П.Л. Шупика (2010 р.). При навантажуванні до рівня напруження 0,1-0,15 від руйнуючого значення з постійною швидкістю 0,13 МПа/с.

Органічну складову отримували шляхом виділення з кісткової тканини мінеральних речовин за допомогою електролітичної демінералізації у 10%-му розчині азотної кислоти із застосування платинових електродів. Мінеральну складову отримували шляхом виділення із кісткової тканини органічних речовин обробкою зразків в екстракторі Сокслета 70%-м розчином етилендіаміну.

Проводили кількісний біохімічний аналіз основних речовин кісткової тканини (кальцій, оксипролін, гексоза мін, аргінін, тирозин, гексуранові кислоти і гексози). Геометричні характеристики остенів, гаверсових каналців і проміжних намел, а також характер їх розподілення по величині дослідження на гістологічних зрізах органічної компоненти кісткової тканини в прохідному та поляризованому світлі на мікроскопі МПСУ-1.

Умовний модуль пружності створеного модельного матеріалу кісткової тканини був визначений ультразвуковим методом вздовж трьох осей анізотропії на зразках у вигляді прямокутних призм розмірами 5x5x5 мм, вирізаних з кутових зон. Термін зберігання експериментального матеріалу в поліетиленових пакетах при температурі від -4° до -6° не перевищував 12 діб. Дослідження проводились при кімнатній температурі. Всього було виготовлено і досліджено різними методами 60 зразків.

Математична обробка отриманих даних була проведена стандартними методами варіаційної статистики, а також з використанням дисперсійного аналізу. В якості

критерію достовірності застосовувався результат з рівнем значимості  $p < 0,05$ .

### Результати. Обговорення

Спосіб створення замітника кісткової тканини полягав у використанні найбільш природного біокомпозиту - кісткової тканини. Отримана з кісткової тканини мінеральна складова модифікувалась (просочувалась у вакуумі) біоінертними полімерами, які заміщали в кістковій тканині органічні речовини. Проведені дослідження по модифікуванню мінеральної матриці різними складами полімерів групи акрилатів показали, що відповідність модулів пружності замітника кісткової тканини було отримано при використанні суміші бутілметакрилата (БМА), метилметакрилата (ММА) та метакрилової кислоти (МАК) у наступному співвідношенні їх мас 7:2:1 (табл. 1).

Важливою умовою при вирішенні досліджуваного нами питання є передбачення механічної поведінки аналога кістки за властивостями його компонентів. Прийнята ідеалізована модель композитної будови компактної кісткової тканини, в якій матрицею береться мінеральна складова кістки, а армуючим елементом - органічна складова, яка представляє собою колагенові волокна. Ці волокна діаметром 0,2 мкм укладені в матриці, утворюючи остеоци - багатошарові циліндричні оболонки (ламели) навколо гаверсового каналу. В них волокна розміщені по спіралі паралельно між собою. В сусідніх ламелах вони орієнтовані під різними кутами відносно один одного. В розрахунковій моделі кількість шарів приймалася від 3 до 5. Гаверсові і фолкманівські канали в прийнятій моделі розглядаються як арматура відповідно у поздовжньому і трансверсальному напрямках кістки з "нульовими" властивостями матеріалу, тобто  $E=0$ . В моделі замітника кісткової тканини приймалося, що місце колагенових волокон займає відповідний полімерний склад. Для визначення пружних властивостей в матеріалі виділяли деякий об'єм - елемент, який повторюється, механічні властивості якого розраховують та порівнюють до властивостей всього композиту. В кістковій тканині таким елементом було обрано остеон з визначеною довжиною, яка залежить від

**Таблиця 1.** Експериментально встановлені значення модулів пружності для замітника кісткової тканини в залежності від складу модифікатора та для компактної кісткової тканини.

Склад модифікатора	Модулі пружності, ГПа		
	$E_1$	$E_2$	$E_3$
Стірол	14,8±0,7	5,8±0,3	4,6±0,3
БМА	12,3±0,6	4,8±0,4	3,8±0,2
БМА і ММА 8:2*	10,8±0,6	7,5±0,4	5,8±0,4
БМА і ММА 7:3*	6,9±0,3	5,4±0,2	2,6±0,1
БМА і ММА 5:5*	13,2±0,8	10,2±0,7	4,5±0,2
БМА, ММА і МАК 7:2:1*	18,3±1,1	10,3±0,6	3,7±0,3
Кісткова тканина	18,5	8,51	6,91

**Примітки:** \* - полімеризація і стерилізація в інертній атмосфері (аргон) при гамма випромінюванні 2,5 Мрад.

**Таблиця 2.** Експериментальні та розраховані значення модулів пружності та зсуву (ГПа) кісткової тканини і її модельного матеріалу.

Характеристика	Кісткова тканина		Модельний матеріал	
	експеримент <sup>xx</sup>	розрахунок	експеримент	розрахунок
$E_1$	18,35	13,6	18,26	41,1
$E_2$	8,51	10,5	10,33	12,8
$E_3$	6,91	9,7	3,74	11,3
$G_{12}$	4,91	4,4	-	3,0
$G_{13}$	3,56	4,4	-	3,0
$G_{23}$	2,41	3,7	-	4,1

геометрії криволінійних колагенових волокон в шарах остеона. Загальний об'єм матриці розподілявся по розрахованим елементам пропорціонально об'єму армуючих волокон відповідного напрямлення армування. Тобто - коефіцієнти армування по об'єму всіх розрахованих елементів були рівні між собою та відповідали коефіцієнту армування композита в цілому. Спіральність армуючого волокна враховувалась таким чином, що її траєкторію спочатку розділяли на чисельні умовно прямолінійні ділянки. Кожна ділянка представляла собою однонаправлений армований розрахований елемент, складової тензора жорсткості якого визначалась так:  $A_{\alpha\beta\gamma\delta} = f_1(E_m, \mu_m, E_o, \mu_o, \varphi, D, h)$ , а складова тензора податливості -  $a_{\alpha\beta\gamma\delta} = f_2(E_m, \mu_m, E_o, \mu_o, \varphi, D, h)$ . Де  $\alpha, \beta, \gamma, \delta = x, y, z$  - головні осі симетрії пружних властивостей розрахованих елементів;  $E$  і  $\mu$  відповідно модель пружності і коефіцієнт Пуассона; індекси "м" і "о" означають матрицю та волокно;  $\varphi$  - коефіцієнт армування;  $D, h$  - геометричні параметри колагенових волокон, тобто їх діаметр та крок спіралей. У подальшому проводили сумування компонентів тензорів жорсткості (або податливості) однонаправлених розрахованих елементів по всій довжині всіх різних траєкторій волокон в межах повторюваного елемента та їх усереднення по об'єму композита, який досліджувався. На основі отриманих компонентів тензора

жорсткості (або податливості) визначалися технічні константи матеріалів - модулі пружності, зсуву і коефіцієнти Пуассона.

Правомірність такого підходу перевірялась співставленням розрахованих характеристик пружних властивостей компактної кісткової тканини і її модельного матеріалу з експериментально отриманими результатами. Експериментально встановлені значення модулів пружності і зсуву задовільно узгоджувались з розрахованими значеннями у випадку усереднення компонентів тензорів жорсткостей розрахованих елементів (табл. 2).

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Органічна складова кісткової тканини є простим, фізично не лінійним матеріалом і руйнується в'язко, а мінеральна складова являє собою пористий матеріал, який підлягає закону деформації і має крихкий характер руйнування.

2. Неоднорідність розподілу за поперечним січенням кістки характеристик механічних властивостей її органічної складової при розтягненні є результатом неоднорідності кількісного складу біохімічних речовин та геометричних параметрів елементів структури кістки. Зміни з віком руйнуючої деформації і модуля пружності стегнової кістки неоднорідні і залежать від властивостей органічної складової кісткової тканини, яка змінюється лінійно від 24 до 52 років за рахунок зменшення кількісного вмісту кальцію і збільшення оксипроліну в зовнішньому шарі, у порівнянні з внутрішнім шаром кістки.

3. У відповідності до модулів пружності заміниці кісткової тканини стегнової кістки була запропонована її модель шляхом застосування суміші бутілметакрилата (БМА), метилметакрилата (ММА) та метакрилової кислоти (МАК) у співвідношенні їх мас 7:2:1.

### Список літератури

- Донцов В. Г. Возрастные особенности микроскопического строения и минерализации костной ткани плечевой кости человека в судебно-медицинском отношении: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. н. / В.Г. Донцов. - М., 1977. - 25 с.
- Желтиков А. А. Исследование возрастного развития локтевой и лучевой костей человека в судебно-медицинском отношении (гистологическое и микрорентгенографическое исследование): автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. н. / Желтиков А.А. - Воронеж, 1975. - 19 с.
- Михеев Н. А. Рентгенодиагностика направления пулевого канала при повреждении трубчатых костей: дис. ... канд. мед. наук. - Л., 1956. - 236 с.
- Пашинян Г. А. Математическая модель рельефа твердого неба и ее использование при идентификации личности / Г.А. Пашинян, Е.В. Беляева, П.О. Ромодановский // Судебно-медицинская экспертиза. - 1993. - № 3. - С. 17-21.
- Петров В. П. Некоторые общие положения моделирования и эксперимента при судебно-медицинских экспериментах в связи с огнестрельными повреждениями / В.П. Петров // Методология и методика судебно-медицинской экспертизы огнестрельных повреждений. - Л., 1991. - С. 17-18.
- Толмачев И. А. Об определении скорости огнестрельного снаряда по рентгенологической картине огнестрельного перелома / И.А. Толмачев // Актуальные вопросы теории и практики судебной медицины: материалы науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов - судебно-медицинских экспертов. - СПб., 1993. - С. 13-14.
- Федулова М. В. Возрастные изменения костной ткани и их судебно-медицинское значение: автореф. дис. на соискание уч. степени к. мед. н. : спец. 14.00.24 "Судебная медицина" / М.В. Федулова. - М., 2004. - 32 с.
- Юрасов В. В. Экспертные возможности решения идентификационных задач на основе элементного состава костной ткани (экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. н. : спец. 14.00.24 " Судебная медицина" / В.В. Юрасов: - Санкт-Петербург, 2006. - 22 с.
- Петрошак О. Ю. Можливі шляхи створення моделі довгої трубчастої кістки із композитних матеріалів / О.Ю. Петрошак // Зб. наук. праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. - Київ, 2010. - Вип. 19, Кн. 2. - С. 399-403.

*Мишалов В.Д., Петрошак А.Ю., Хохолева Т.В., Попов В.А.*

### ОСОБЕННОСТИ ДЛИННОЙ ТРУБЧАТОЙ КОСТИ, СОЗДАННОЙ ИЗ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ, ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Резюме.** В статье изложены методологические подходы относительно создания модели длинной трубчатой кости из композитных материалов и сравнительный анализ биофизических свойств модели и самой трубчатой кости.

**Ключевые слова:** судебная медицина, имитаторы биологических объектов, модель длинной трубчатой кости, композитные материалы.

*Mishalov V., Petroshak O., Hoholeva T., Popov V.*

### FEATURES OF LONG BONE TRUBCHASTOY CREATED FROM COMPOSITE MATERIALS FOR EXPERIMENTAL RESEARCH

**Summary.** For the purpose of conducting experimental research in forensic medicine proposes the creation of a model of a long bone made of composite materials and a comparative analysis of the biophysical properties of model and native bone.

**Key words:** forensic medicine, simulators of biological objects, composit materials.

*Рецензент - д.мед.н., проф. Гунас І.В.*

*Стаття надійшла до редакції 30.11.2016р.*

*Мишалов Володимир Дем'янович* - д.мед.н., проф., зав. кафедри судової медицини НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771; k-sme@nmapo.edu.ua

*Петрошак Олександр Юрійович* - к.мед.н., доц., доц. кафедри судової медицини НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771

*Хохолева Тамара Володимирівна* - к.мед.н., доц., доц. кафедри судової медицини НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771

*Попов Василь Антонович* - д.мед.н., проф., проф. кафедри ортопедії і травматології №2 НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771

© Konkov D.G.

UDC: 618.39-021.3: 612.133: 612.118.24

*Konkov D.G.*

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Department obstetrics and gynecology №1 (Pyrogov Str., 56, Vinnytsya, 21018, Ukraine)

## PLACENTAL EXPRESSION OF PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR-1 AND TISSUE- TYPE PLASMINOGEN ACTIVATORS IN GESTATIONAL ENDOTHELIOPATHY

**Summary.** The fibrinolytic imbalance might have a pivotal role in hypercoagulability seen in gestational endotheliopathy. Our objective was to determine the novel fibrinolytic markers of blood coagulation related factors in placental tissue in preeclamptic and normal pregnancies. 61 specimens of the placental tissues were obtained after delivery at physiological pregnancy, gestational endotheliopathy and preeclampsia. There were investigated placental expressions of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and tissue- type plasminogen activators (t-PA). It was found that preeclampsia was accompanied by the significant decrease of the placental expression of t-PA and increase placental levels of PAI-1.

**Key words:** gestational endotheliopathy, preeclampsia, placenta, PAI-1, t-PA.

### Introduction

Preeclampsia (PE) complicates 2-3% of all pregnancies (5-7% in nulliparous women) and remains a leading cause of maternal and perinatal mortality and morbidity in Ukraine and internationally. PE is a disorder of pregnancy associated with widespread vascular malfunction and vasospasm. There is evolving evidence that both the degree of impaired placentation and the incidence of adverse fetal and maternal short- and long-term consequences of preeclampsia are inversely related to the gestational age at onset of the disease. Attention has been focused on the link between endothelial damage and PE. Endothelial cell damage or activation is believed to play a central role in preeclampsia and may underlie the haemostatic changes observed in this syndrome [2, 4]. While normal endothelial cells participate in the regulation of haemostasis, perturbed vascular cells may express prothrombotic properties promoting pathologic events [3].

Tissue-type plasminogen activator (t-PA) produced by endothelial cells plays an important role in fibrinolysis by promoting the conversion of plasminogen to plasmin. The protease plasmin cleaves fibrin to produce fibrin degradation products, usually assayed as cross-linked fibrin fragments (D-dimer). The evaluation of D-dimer can be used as a measure of the formation (via thrombin) and lysis (via plasmin) of fibrin. The activity of plasminogen activators is controlled by PAI. The endothelial cell-type PAI (PAI-1) is believed to be the main inhibitor of t-PA, both being produced by the endothelial cell. PAI-2 also plays an important role in pregnancy, being produced by the placenta.

The objective of this study was to examine the relationship between placental expression of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue- type plasminogen activators and gestational endotheliopathy in a population of pregnant women.