

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

УДК 616.718.6-001.5-085.814.5

©А. І. Гоженко, К. В. Павленко, Б. А. Насібуллін
ДП “Український НДІ медицини транспорту”, м. Одеса

СТРУКТУРНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕСУ В КІСТЦІ ЩУРА ПРИ ВВЕДЕННІ ПЛАЗМИ, ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ

СТРУКТУРНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕСУ В КІСТЦІ ЩУРА ПРИ ВВЕДЕННІ ПЛАЗМИ, ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ – Автори на 72 білих щурах-самцях аутбредного розведення досліджували вплив на процес загоєння перелому малої гомілкової кістки. Встановлено, що введення плазми, збагаченої тромбоцитами, на 30 % прискорює загоєння перелому. При цьому, на відміну від нелікованого, загоєння перелому при використанні плазми, збагаченої тромбоцитами, перебігає за типом хондрогенного процесу. Оскільки при цьому активується лужна фосфатаза плазми та знижується вміст фосфору і кальцію у ній. Автори вважають, що збагачена плазма сприяє більш активному надходженню кальцію в ділянку перелому, а також сприяє активації процесів репарації у популяції остеоцитів.

СТРУКТУРНЫЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕССА В КОСТИ КРЫСЫ ПРИ ВВЕДЕНИИ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ – Авторы на 72 белых крысах-самцах аутбредного разведения изучали влияние на процесс заживления перелома малой берцовой кости. Установлено, что введение плазмы, обогащенной тромбоцитами, на 30 % ускоряет процесс заживления перелома. При этом, в отличие от нелеченого, заживление перелома при использовании плазмы, обогащенной тромбоцитами, происходит по типу хондрогенного процесса. Поскольку при этом активируется щелочная фосфатаза плазмы и снижается содержание фосфора и кальция в ней. Авторы полагают, что обогащенная плазма способствует более активному поступлению кальция в область перелома, а также способствует активации процессов репарации в популяции остеоцитов.

STRUCTURAL AND METABOLIC FEATURES OF REPARATIVE PROCESS IN RAT'S BONE WHEN INJECTED PLATELET RICH PLASMA – Authors studied on 72 outbred white rats male the effect of the healing process of fracture of fibula. Found that the injection of platelet rich plasma accelerates the healing of the fracture by 30 %. Herewithin contrast to untreated, fracture healing by using platelet rich plasma occurs by chondrogenic process. Since this alkaline phosphatase is activated plasma and decreases the content of calcium and phosphorus therein. The authors suggest that the enrichment of plasma promotes greater intake of calcium in the fracture, and promotes the activation of repair processes in the population of osteocytes.

Ключові слова: перелом маломілкової кістки, плазма, збагачена тромбоцитами, обмін кальцію.

Ключевые слова: перелом малоберцовой кости, плазма, обогащенная тромбоцитами, обмен кальция.

Key words: fracture of the fibula, platelet rich plasma, calcium metabolism.

ВСТУП Наш час називають “епідемією травматизму”, оскільки кожний рік в Україні травми отримують до 2 млн дорослих та до 300 тис. дітей [1, 3]. Оскільки травми, у тому числі й переломи кісток, стають причиною 11 % усіх випадків інвалідності [4], проблема перебігу травматичного процесу та його закінчення набуває не тільки медичного, але й соціального значення. Відновлення перелому взагалі та трубчастих кісток зокрема, процес тривалий та багатofазний,

з високим ступенем ймовірності розвитком ускладнень. Завдяки цьому, в останні роки значний інтерес дослідники виявляють до технологій, що дозволяють керувати цим процесом. Високоєфективним методом впливу на перебіг процесу репарації переломаної кістки вважається використання природних ресурсів [3].

Одним і природних чинників, який в останні роки продемонстрував високу ефективність регулюючого впливу, є аутогенна плазма крові, яка збагачена тромбоцитами.

Виходячи з вищевказаного, метою роботи було оцінити структурно-функціональні особливості репаративного процесу при переломі маломілкової кістки в щура у випадку застосування регуляторного фактору аутогенної плазми, збагаченої тромбоцитами.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Матеріалом даної роботи були дані, отримані при дослідженні 72 білих щурів-самців лінії Вістар аутбредного розведення масою 180–200 г. Відповідно до мети роботи, тварин ранжували на дві групи: перша група – 36 щурів, у яких перелом маломілкової кістки зрощувався самостійно без зовнішніх впливів. Друга група – 36 щурів, котрим у 1 добу дослідження в ділянку перелому вводили плазму, збагачену тромбоцитами, в кількості 0,1 мл, вміст тромбоцитів $2500\text{--}3500 \times 10^9/\text{л}$. Перелом маломілкової кістки здійснювали під небуталовим знеболюванням перетинанням її при допомозі бокорізів в операційній рані, що оголює кістку. Операційну рану після перелому щільно зашивали та обробляли порошком стрептоциду. Тривалість дослідження – 3, 7, 14 та 21 доби. Після цього тварин декапітували під легким небуталовим знеболюванням. Збирали 5 мм крові для проведення біохімічних досліджень вмісту Ca^{2+} ; P та активності лужної фосфатази у плазмі. Визначали ці показники за методикою фотометрії.

Видаляли зону перелому пошкодженої кінцівки та після декальцинації у 5 % азотній кислоті заливали в целоїдин; 7–9 мкм зрізи виготовлені з блоків декальцинованої кістки, забарвлювали гематоксиліном та еозином, за Ван-Гізон.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Результати спостереження за щурами з самостійним переломом маломілкової кістки показали, що через три доби після перелому тварини не використовували пошкоджену кінцівку при пересуванні. Пошкоджена кінцівка збільшена в обсязі, болюча при пальпації, температура її підвищена. Через 7 днів після перелому епізодично використовували пошкоджену кінцівку, набряк її зменшений, температура нормальна, пальпація не викликає особливої болючості. На

14 та 21 доби дослідження піддослідні щури активно використовують пошкоджену кінцівку, температура її відповідає здоровій, пальпація безболісна.

Гістологічні дослідження вказали на наступне. Через 3 доби тканини навколо перелому набрякло розволонені, має місце досить масивна дифузна інфільтрація лімфоцитами. У ділянці кісткових відламків виявляють еозинофільні гомогенні вclusions та скупчення лімфоїдних та гістеоцитарних елементів, окрім того у зоні перелому простежуються тонкі фібринозні, короткі волокна. Через 7 діб після перелому набряк навколишніх тканин наявний, але візуально виглядає менш вираженим, ніж у попередніх зрізах, інфільтрат представлений малочисельними лімфоцитами. Простір між відламками заповнений гомогенатом, що містить гістеоцити та еозинофільні округлі вclusions. Щільна кісткова тканина формує язички, що наявні у просторі між відламками (рис. 1). В язиках спостерігаються гнізда, які містять 1–2 остеоцити, навколо язиків невеликі пучки грубих, коротких фіброзних волокон. Гістологічні дослідження, проведені на 14 добу після перелому, не встановили набряку навколишніх тканин, у них виявлено поодинокі круглоядерні елементи. Щільну речовину кістки у ділянці перелому представлено багаточисельними з'єднувальними "язиками", які формують пористу структуру. В товщі "язиків" визначаються гнізда остеоцитів, які містять 2–4 остеоцити з побільшеними ядрами помірної інтенсивності забарвлення. У порожнинах поміж "язиків" наявні скупчення остеоцитів. Під час завершення дослідження (21 доба після перелому) навколо ділянки перелому має місце вузька муфта із сполучнотканинних волокон. Щільна речовина кістки однорідна. Гнізда остеоцитів розміщені досить рівномірно, вони мають 2–4 клітини з добре забарвленими ядрами. В щільній речовині кістки, ближче до просвіту кісткового каналу, зустрічаються короткі тяжі з грубих фіброзних волокон. Просвіт кісткового каналу в місці перелому звужений.

Розвиток репаративного процесу при переломі маломілкової кістки супроводжується зміною в обміні кальцію та фосфору. Згідно з даними таблиці 1, у динаміці репаративного процесу вміст Ca^{2+} у плазмі крові зберігається близьким до контролю, однак рівень фосфору різко знижується. Оскільки транспорт кальцію у м'яких тканинах та кістках тісно корелює з вмістом фосфору (Авцин, 1991), можна допустити, що зниження вмісту фосфору відображає підвищення його застосування для переміщення Ca^{2+} у ділянку перелому. В першій половині експеримен-

ту активність лужної фосфатази трохи підвищується, але у момент закінчення експерименту практично повертається до рівня інтактних тварин. Оскільки фосфатаза здійснює гідроліз фосфорних ефірів із звільненням іонів фосфору, можна допустити, що активація цього ферменту зумовлена компенсацією потреби організму в іонах P^{3+} , необхідних для репарації перелому.

У випадках, коли піддослідним тваринам вводили плазму крові, збагачену тромбоцитами, перебіг процесу репарації був дещо іншим. Через 3 доби після перелому, тварини, як і в попередній групі, не використовували пошкоджену кінцівку при пересуванні, сама кінцівка збільшена в діаметрі та пальпаторно болюча. Через 7 діб після перелому тварини активно, хоча й не довгий час, використовують кінцівку при пересуванні. Лапа звичайна на вигляд, пальпаторно практично безболісна, температура така ж як і в іншій кінцівці. На 14 добу після перелому тварини використовують обидві кінцівки у повному обсязі, зовнішній вигляд кінцівки не відрізняється від контролю, однак пальпаторно в ділянці перелому пальпується деяка горбистість кістки.

З результатів гістологічних досліджень через 3 доби досліді встановлено, що масивного набряку навколо перелому не спостерігається, має місце набрякле розширення міжпучкових прошарків м'язів та негруба їх інфільтрація лімфоцитами. Окістя в ділянці перелому розширено завдяки багаторядності розташованих

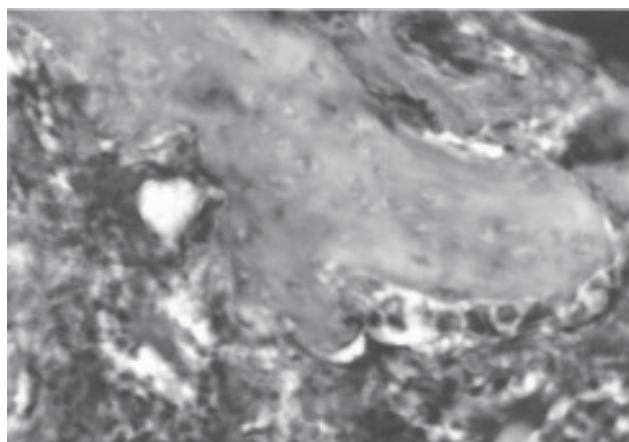


Рис. 1. Ділянка нелікваного перелому малої голілкової кістки щура, 7 доба експерименту. Остеоїдні "язики" належать ділянці перелому. Наявні у них гнізда остеоцитів. Забарвлення за Ван Гізон. $\times 200$.

Таблиця 1. Особливості кальцієвого обміну в щурів з переламом малої голілкової кістки при введенні плазми, збагаченої тромбоцитами

Група, показник	Контроль	Самостійний перелом			Перелом + тромбоцитарна маса		
		7 добу	14 добу	21 добу	7 добу	14 добу	21 добу
Ca^{2+} мкм/л	2,66 \pm 0,41	2,45 \pm 0,022	2,70 \pm 0,04	2,82 \pm 1,33	2,23 \pm 0,12	2,24 \pm 0,31 2,03 \pm 0,18	2,03 \pm 0,18 2,42 \pm 0,31
P мкм/л	3,0 \pm 0,74	1,72 \pm 0,35*	1,60 \pm 0,21*	1,28 \pm 0,11*	1,8 \pm 0,23	4,45 \pm 0,45 1,92 \pm 0,16	1,92 \pm 0,16 4,45 \pm 0,45
Лужна фосфатаза Од/л	204,0 \pm 28,06	221,18 \pm 28,32	263,06 \pm 30,06	206,19 \pm 28,25*	298,0 \pm 23,6	456,0 \pm 46,8	326,0 \pm 31,07

Примітка. * $p < 0,05$ відносно контролю.

клітин із збільшеними ядрами, хроматин зібраний під оболонкою. У зоні перелому в каналі кістки масивне скупчення епітеліоїдних клітин з округлими, великими, добре пофарбованими ядрами (остеоподібні) (рис. 2). Щільна кісткова речовина в ділянці відламків однорідна, але з великою кількістю гнізд остеоцитів (у гнізді 2–3 остеоцити), а оболонка їх стовщена та має яскраво базофільне забарвлення.

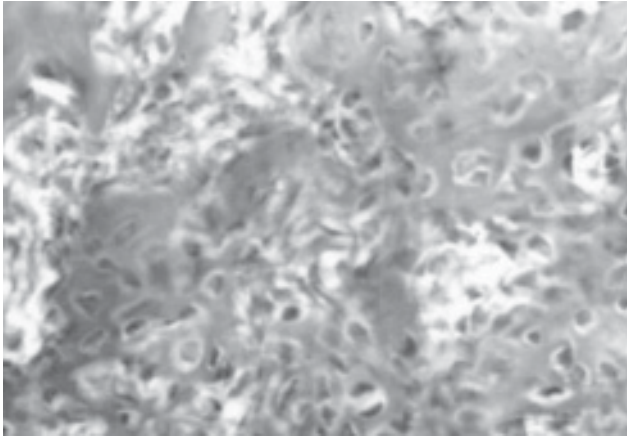


Рис. 2. Перелом малою кісткою щура, який отримав плазму, збагачену тромбоцитами. 3 доба експерименту. Ділянка перелому заповнена остеоподібними клітинами, в їх масиві формуються балки. Забарвлення за Ван-Гізон. х200.

Через 7 днів після перелому в тварин, які отримували плазму, збагачену тромбоцитами, тканини навколо перелому звичайного вигляду. Безпосередньо, навколо перелому скупчення клітин із подовженими ядрами, схожими до ядер хондроцитів. Щільна речовина кістки в ділянці перелому суцільна, однак ширина її менша, ніж в інших частинах кістки. Багато гнізд остеоцитів містить 2–3 клітини. Капсула гнізда яскраво-синя. Всередині щільна речовина, а ззовні короткі пучки з грубих фіброзних волокон. Окремі кісткові "язики" виходять ззовні щільної кісткової речовини. Кістковий канал різко звужений, у нього визначаються клітини, подібні до хондроцитів за своєю структурою та волокнами сполучної тканини.

Через 14 днів результати гістологічних досліджень ділянки перелому показали, що тканини навколо цієї зони мають звичайний вигляд, визначаються поодинокі лимфоїдні елементи. В окісті зберігається багаторядне розміщення клітин, у більшій кількості з них ядра невеликі, овальні, добре пофарбовані. Навколо перелому – скупчення гістеоцитів та волокон фіброзної тканини. Щільна кісткова речовина є суцільною пластиною, хоча трохи звужена порівняно з такою над переломом. У ній багато гнізд з 1–2 остеоцитами, капсула кожного гнізда потовщена, яскра-

во-базофільна. Всередині від кісткової пластини скупчення з гістеоцитів, клітин, подібних до хондроцитів, а також осередки щільної кісткової речовини. Кістковий канал у ділянці перелому заповнений такою ж сумішшю, але є ще й балки, котрі переплітаються.

На 14 добу експерименту ми можемо говорити про відновлення кістки у ділянці перелому, гістологічні дослідження на 21 добу не проводили.

Як і в першій групі, у піддослідних тварин проводили біохімічні дослідження стану кальцієвого обміну. Згідно з даними таблиці 1, вміст кальцію в плазмі крові упродовж експерименту був нижчим, аніж у контрольній групі, хоча на 21 добу експерименту ця різниця недостовірна. Подібно до цього змінюється вміст фосфору. Щодо активності лужної фосфатази, то вона значно перевищує дані контролю та першої групи. При цьому, на 21 добу вона була нижче, ніж на 14-ту. Можна припустити, що більш раннє відновлення кістки пов'язано з підвищеною інтенсифікацією засвоєння кальцію, яка зумовлена дією плазми, збагаченої тромбоцитами.

Таким чином, підсумок наших досліджень показав, що введення щурам з переломами малою кісткою плазми, збагаченої тромбоцитами, скорочує час регенерації кістки на 30 % (7 днів). Це пов'язано з тим, що спостерігається інтенсифікація засвоєння кальцію. Окрім цього, змінюється характер репаративного процесу. У випадку самостійного зрощення, репарація остеогенного характеру, а в разі введення плазми – хондрогенний характер.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Т. М. Ортопедическая заболеваемость и организация специализированной помощи при патологии костно-мышечной системы / Т. М. Андреева, В. В. Троценко // Журн. травматология и ортопедия им. Н. И. Пирогова. – 2008. – С. 3–6.
2. Дамиян П. Р. Апитерапия сегодня / П. Р. Дамиян. – Бухарест, 1984. – С. 43–47.
3. Корж Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Локальные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 1) / Н. А. Корж, Н. В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 77–84.
4. Корж Н. А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Локальные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 2) / Н. А. Корж, К. К. Романенко, Л. Д. Горидова // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 84–89.
5. Сосин И. Н. Физическая терапия хирургических, травматологических и ортопедических заболеваний / И. Н. Сосин, А. Г. Булвочи. – Екатеринбург : Медицина, 1996. – 397 с.
6. Насибуллин Б. А. Экспериментальное обоснование использования апитерапии в восстановлении переломов трубчатых костей у крыс / Б. А. Насибуллин, Е. Б. Уварова, К. В. Павленко // Вісник морфології. – 2008. – № 14(2). – С. 289–292.

Отримано 06.01.15