

ВОЗМОЖНОСТИ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В КОНТРОЛЕ ДИНАМИКИ ЛЕЧЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННОГО ОСТЕОАРТРОЗА КОЛЕННОГО СУСТАВА У ЖИВОТНЫХ, АУТОЛОГИЧНОЙ ПЛАЗМОЙ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ

Карев Д.Б.¹, Игнатовский М.И.², Карев Б.Д.³

*Гродненский государственный медицинский университет¹,
УО "Гродненский государственный университет имени Янки Купалы"²,
УЗ "Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г.Гродно"³*

Актуальность. В последние годы сформировалась концепция «болезнь-модифицирующей терапии» суставов, предусматривающая применение хондропротекторов, препаратов, позволяющих контролировать симптомы остеоартроза [1-3]. В основе своей – это биологические и синтетические аналоги естественных компонентов хряща, которые после инъекции ненадолго задерживаются в полости сустава и не могут самостоятельно поддерживать реологические параметры суставной жидкости в течение длительного времени. Огромным недостатком препаратов этой группы является высокая цена, ограничивающая возможность их широкого и методичного применения. Наиболее прогрессивными в настоящее время являются исследования, изучающие возможности естественных биологических сред человеческого организма, в частности плазмы, обогащенной тромбоцитами, в лечении остеоартроза [4-5].

Основополагающим в оценке эффективности препарата (метода) является экспериментальное исследование, проводимое на животных с оценкой морфологии и физико-механических свойств хряща, подтверждающих регенераторные возможности средства. Анализ литературных данных свидетельствует о широкой возможности атомно-силовой микроскопии (АСМ) в объективной оценке субмикро- и наноструктур биологической ткани [6-9].

Цель. Оценить регенераторную возможность аутологичной плазмы, обогащенной тромбоцитами в консервативном лечении остеоартроза коленного сустава кроликов, полученного в эксперименте путем исследования его с помощью атомно-силовой микроскопии.

Методы исследования. Исследования проведены на двадцати кроликах обоего пола породы шиншилла массой 2400-3500 г. Экспериментальную индукцию диффузного поверхностного остеоартроза получали при введении 0,5 мл 10% взвеси хирургического талька на физиологическом растворе в коленный сустав. С целью получения аутологичной плазмы, у каждого животного под анестезией, непосредственно перед началом эксперимента осуществляли забор 9 мл крови из краевой вены уха в пробирку Plasmolifting, затем центрифугировали при факторе разделения 1000 g 5 минут (рисунок 1). После центрифугирования при помощи шприца и инъекционной иглы осуществляли

забор до 0,6-0,7 мл плазмы. У десяти животных проводили интраартикулярную терапию аутологичной плазмой. Десяти животным лечение не проводили, оценивали естественный процесс регенерации.



Рисунок 1. – Забор крови из краевой вены уха кролика

Изображения поверхности препарата получали при помощи оптического микроскопа «Micro 200T-01», оснащенного цифровой видеокамерой, в отраженном свете. Изучение морфологии и физико-механических свойств поверхности препарата выполняли с использованием АСМ NT-206 в статическом режиме сканирования кремниевым кантилевером CSC 38. Для обработки и визуализации экспериментальных использовали программное обеспечение © SurfaceExplorer (ОДО «Микротестмашины») и nanoImages (НИЦПР ИТМО НАН Беларуси).

Результаты и их обсуждение. Препараты хрящевой ткани из мышечков бедренной кости кролика для исследования при помощи атомно-силового микроскопа готовили по методике, отработанной нами в процессе исследований биологической ткани человека. На АСМ-изображениях поверхности хрящевой ткани с искусственной вызванным остеоартрозом обнаруживаются повреждения, разрывы целостности, расположенные непосредственно на ровных участках поверхности. На участках хряща, подвергнутых лечению, также обнаруживаются участки деструкции, однако их размер значительно меньше.

Выявлены количественные закономерности изменения размера нанощероховатости поверхности гиалинового хряща в результате моделирования остеоартроза и примененного лечения плазмой обогащенной тромбоцитами

(таблица). Значение среднего арифметического отклонения высот профиля при индуцированном остеоартрозе растет незначительно. При этом, значительно увеличиваются наибольшие высоты неровностей поверхности, видимо, за счет появившихся повреждений, расположенных непосредственно на ровных участках поверхности.

Выполнены измерения модуля упругости поверхности гиалинового хряща кролика при помощи АСМ. На рисунке 2 представлен график зависимости модуля упругости от глубины внедрения индентора в поверхности хряща кролика. Для здорового хряща диапазон значений модуля упругости от 1,95 до 0,64 МПа на глубине 150 нм; для деструктурированного – от 1,6 до 0,7 МПа и для подвергнутого терапии – от 1,7 до 0,7 МПа на глубине 150 нм.

Параметры наношероховатости участков поверхности гиалинового хряща при апертуре окна сканирования от 9x9 до 3x3 мкм²: MEAN ± STD

| | R_a , нм | R_m , нм | S_m , нм | S , нм |
|---|------------|------------|------------|----------|
| не деструктурированный хрящ | 63,6±2,5 | 485±27 | 2501±87 | 2005±104 |
| после индуцированного остеоартроза | 78,2±7,3 | 1134±87 | 3059±53 | 2536±76 |
| после проведенного лечение аутологичной плазмой, обогащенной тромбоцитами | 72,1±4,4 | 546±46 | 1734±25 | 1054±28 |

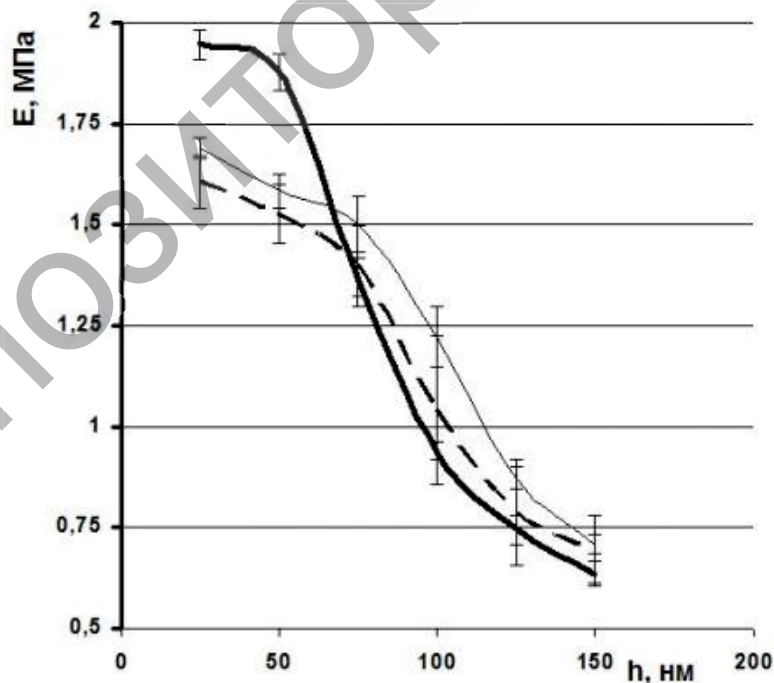


Рисунок 2. – Зависимость модуля упругости от глубины индентирования хряща: здорового (жирная линия); деструктурированного (штриховая) и подвергнутого терапии аутологичной плазмой (тонкая)

Выводы. На АСМ – изображениях поверхности хрящевой ткани с искусственно вызванным остеоартрозом обнаруживаются повреждения, разрывы целостности, расположенные непосредственно на ровных участках поверхности. На участках хряща, подвергнутых лечению аутологичной плазмой, обогащенной тромбоцитами размер деструкции значительно меньше. В случае моделирования болезни среднее арифметическое отклонение высот профиля незначительно растёт, но значительно увеличиваются наибольшие высоты неровностей поверхности, видимо, за счет появившихся повреждений, расположенных непосредственно на гладких участках поверхности. Изменения упругих свойств поверхности гиалинового хряща под воздействие моделированного остеоартроза приводит к падению значения модуля упругости в приповерхностных слоях на 18 % с 1,95 до 1,6 МПа.

Применение обогащенной тромбоцитами плазмы для лечения индуцированного остеоартроза показало уменьшение числа повреждений гиалинового хряща, снижение среднего арифметического отклонения высот профиля и размеров наибольших высоты неровностей на наноуровне, увеличения модуля упругости на 5% до 1,7 МПа, что подтверждает ее регенераторные возможности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева, Л.И. Перспективы хондропротективной терапии остеоартроза / Л.И. Алексеева // Научно-практическая ревматология. - 2003. - № 4. - с. 83-86.
2. Clegg, D.O. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis / D.O. Clegg [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2006. - №354. – p.795-808.
3. Grimaud, E. Recent advances in tgf-beta effects on chondrocyte metabolism. Potential therapeutic roles of tgf-beta in cartilage disorders / E. Grimaud, D. Heymann, F. Redini // Cytokine growth factor rev. – 2002. - №13. – p.241-257.
4. Schmidt, M.B. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair / M.B. Schmidt, E.H. Chen, S.E. Lynch // Osteoarthr Cartil. – 2006. - №14. – p.403-412.
5. Song, SU Regeneration of hyaline articular cartilage with irradiated transforming growth factor beta1-producing fibroblasts / SU Song [et al.] // Tissue Eng. – 2004. - №10. – P. 665-672.
6. Кузнецова, Т.Г. Определение механических свойств клеточных поверхностей / Т.Г. Кузнецова, М.Н. Стародубцева, Н.И. Егоренков // Методологические аспекты сканирующей зондовой микроскопии. VII Междунар. семинар. Сборник докладов. – Минск: ИТМО НАН Беларуси, 2006. – С. 153–157
7. Чижик С.А. Структура и упругие свойства хряща на микро- и нано уровне / С.А. Чижик, А.В. Трушко, К. Вежхольский // Российский журнал биомеханики. – 2008. – № 2 (40). – С. 13-22.
8. Wilusz, R.E. Immunofluorescence-guided atomic force microscopy to measure the micromechanical properties of the pericellular matrix of porcine articular cartilage /

R.E. Wilusz, L.E. DeFrate, F. Guilak // J. R. Soc. Interface. – 2012. – Vol 9. – P. 2997–3007.

9. Оценка дегенеративно-дистрофических изменений поверхности гиалинового хряща на субмикронном и нано уровне / Д.Б. Карев, М.И. Игнатовский, В.В. Лашковский, Б.Д. Карев // Хирургия. Восточная Европа. – 2014. № 4 (12). – С. 388-395.

СВЯЗЬ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО СТРЕССА И СОВЛАДАЮЩЕГО ПОВЕДЕНИЯ У МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ

Карнелович М.М.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы

Актуальность. Профессиональный стресс – сложный феномен, выражающийся в психических и физических реакциях на напряженные ситуации в трудовой деятельности человека [2]. По мнению ученых, к профессиональному стрессу приводит перегрузка субъекта трудом, недостаточно четкая регламентация его должностных обязанностей, не соответствующая усилиям и затратам физических и психических ресурсов субъекта оплата труда, однообразие деятельности или отсутствие карьерных перспектив. Профессиональный стресс также выше у сотрудников, недостаточно загруженных работой, а также у тех людей, которые полагают, что не реализуют в полной мере свой профессиональный потенциал и способны на большее. К факторам, прямо или косвенно способствующим профессиональным стрессам, можно также отнести санитарно-гигиенические факторы условия труда, низкую информированность персонала о текущих и будущих задачах, а также ограничение времени на анализ ситуации и принятие решений. Как полагают специалисты по профессиональным стрессам, последние два фактора являются фоном, на котором стрессом может стать любое дополнительное раздражение [1].

Уровень стресса в профессиональной деятельности возрастает за счет тяжести психологического прессинга и отсутствия свободы в принятии решений. К ним можно с достаточным основанием добавить уровень моральной и материальной удовлетворенности своим трудом. Факторы, вызывающие производственный стресс, можно достаточно условно разделить на объективные (мало зависящие от личности работника) и субъективные (развитие которых больше зависит от самого человека) [1]. К первой группе относятся вредные характеристики производственной среды, тяжелые условия работы и чрезвычайные (форсмажорные) обстоятельства.

К неблагоприятным условиям работы, провоцирующим развитие производственного стресса медработника, можно отнести высокий темп