

Pavlenko K. V., Nasibullin B. A., Uvarova Ye. B., Gozhenko A. I. Структурно-функциональные особенности репаративного остеогенеза под влиянием природных лечебных факторов = Structural and functional features of reparative osteogenesis under the influence of natural healing factors. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(3):279-288. ISSN 2391-8306. DOI: [10.5281/zenodo.16453](https://doi.org/10.5281/zenodo.16453)
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%283%29%3A279-288>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/551960>
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.16453>
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011 – 2014
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 20.01.2014. Revised 27.02.2015. Accepted: 12.03.2015.

УДК 616.718.6-001.5-085.814.5

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА ПОД ВЛИЯНИЕМ ПРИРОДНЫХ ЛЕЧЕБНЫХ ФАКТОРОВ

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF REPARATIVE OSTEOGENESIS UNDER THE INFLUENCE OF NATURAL HEALING FACTORS

К.В. Павленко, Б.А. Насибуллин, Е.Б. Уварова, А.И. Гоженко
K.V. Pavlenko, B.A. Nasibullin, Ye.B. Uvarova, A.I. Gozhenko

Городская клиническая больница № 11, Одесса
Украинский НИИ медицины транспорта, Одесса
Городская клиническая больница № 1, Одесса

City Clinical Hospital № 11, Odessa
Ukrainian Research Institute for Medicine of Transport, Odessa
City Clinical Hospital № 1, Odessa

Article

On 92 white rats - male outbred breeding studied the effect on the healing process of fracture of fibula, as well as ion exchange Ca^{2+} , phosphorus, and alkaline phosphatase activity in blood plasma. The process of fracture healing was similar to the interim indices in rats groups II and III, which was introduced at the fracture site platelet-rich plasma and performed phonophoresis with a fixed dose of poison. By the nature of the formation of callus, they differed. Therefore, in groups I and III process occurred on osteogenic type, and in group II on chondrogenic.

In applying the platelet-rich plasma activated alkaline phosphatase decreased plasma calcium and phosphorus content in it. Under the influence of the activation proceeds phonophoresis Ca^{2+} in the fracture, but unlike the II-group, this process is punctuated character. Suggested that the enriched plasma and phonophoresis with "Apizartron" promotes greater

intake of calcium in the fracture, and promotes the activation of repair processes in the population of osteocytes.

Keywords: fracture of the fibula; platelet-rich plasma; calcium metabolism; alkaline phosphatase; phonophoresis.

Реферат

На 92 белых крысах – самцах аутобредного разведения изучали влияние на процесс заживления перелома малой берцовой кости, а также обмен ионов Ca^{2+} , фосфора и активность щелочной фосфатазы в плазме крови. Процесс заживления перелома был одинаков по временным показателям у крыс II и III групп, которым в месте перелома вводилась плазма обогащенная тромбоцитами и проводился фонофорез с фиксированной дозой яда. По характеру процесса образования костной мозоли они отличались. Так в I и III группах процесс происходил по остеогенному типу, а во II группе по хондрогенному. При применении плазмы обогащенной тромбоцитами активируется щелочная фосфатаза плазмы и снижается содержание фосфора и кальция в ней. Под влиянием фонофареза происходит активация поступления Ca^{2+} в область перелома, но в отличие от II-группы этот процесс носит перемежающийся характер. Высказано предположение, что обогащенная плазма и фонофарез с «Апизартномом» способствует более активному поступлению кальция в область перелома, а также способствует активации процессов репарации в популяции остеоцитов.

Ключевые слова: перелом малоберцовой кости; плазма обогащенная тромбоцитами; обмен кальция; щелочная фосфатаза; фонофарез.

Наше время справедливо определяют как «эпидемия травматизма». В последние десятилетия продолжается неуклонный рост травматизма во всех регионах земного шара. По данным ВОЗ, в мире насчитывается 45 млн инвалидов в результате травм, в том числе 30 млн — вследствие дорожно-транспортных происшествий и 15 млн — производственных травм, а также каждая страна теряет 5 % общего количества рабочих дней из-за несчастных случаев на производстве или профессиональных заболеваний. В общей структуре первичной инвалидности травма занимает 3-е место. Интенсивный показатель первичной инвалидности вследствие травм составляет 6—7 на 10 000 рабочих и служащих. Лечение больных с множественной и сочетанной травмой представляет значительные трудности. Более 20 % пострадавших становятся инвалидами [5,6]. По данным различных авторов, в наше время, нарушение репаративного остеогенеза наблюдается в 10 – 20% случаев травм костей [2,4,8]. По данным исследования

проведенного в 2008-2009 гг. «Институтом патологии позвоночника и суставов ми. проф. М.И. Ситенко АМН Украины» и «Институтом травматологии и ортопедии АМН Украины» замедленная консолидация отмечалась у 32,7% травмированных [3]. Приведенные данные констатируют тот факт, что данная проблема имеет и социально-экономическую актуальность, которая связана с длительным лечением и реабилитацией этих больных [7]. В то же время средства используемые для активации репаративного остеогенеза обладают неодинаковой эффективностью.

Исходя из вышесказанного целью работы было сравнение структурно-функциональных особенностей репаративного процесса при переломе малоберцовой кости у крысы в случае применения, в качестве регуляторного фактора аутогенной плазмы, обогащенной тромбоцитами или апифонофореза с фиксированной дозой пчелиного яда (мазь «Апизартрон»).

Материалы и методы

Материалом настоящих исследования послужили данные полученные при исследовании 92 белых крыс – самцов линии Вистар, аутобредного разведения весом 180-200 г. В соответствии с задачами работы животных ранжировали на 3 группы. I-группу (36 крысы) составили животные, которым моделировали перелом малой берцовой кости и наблюдали за его заживлением без каких-либо вмешательств. II – группа (36 крыс), которым в 1 и 7 сутки опыта в область перелома вводили обогащенную тромбоцитами плазму в количестве 0,1 мл, содержание тромбоцитов $2500-3500 \times 10^9$ /л. III группа (20 крыс) составляли животные, которые со вторых суток перелома проводили курс апифонофореза мазью «Апизартрон». Число процедур на курс – 9 через день, длительность процедуры от 1 до 3 мин.; плотность потока мощности 2 вт/сек^2 ; доза яда – 0,3 мг. в каждой из проведенных процедур.

Моделирование перелома малоберцовой кости проводили под нембуталовым наркозом путем пересечения малоберцовой кости боковыми. После пересечения кости рану засыпали порошком стрептоцида и наглухо зашивали. В опыте отмечали состояние поврежденной конечности (отек, положение, использование). В первой группе животных выводили из опыта на 3, 7, 14, 21 сутки после перелома. Во II и III группах 3, 7, 14 сутки. Выведение из опыта осуществляли декапитацией под легким нембуталовым наркозом. Поврежденную лапу удаляли, после декальцинации в 5% азотной кислоте ее обезвоживали, заливали в целлоидин, из приготовленных блоков изготавливали микротомные срезы, толщиной 7 – 9 мкм, которые окрашивали гематоксином-эозином и по Ван-Гизон. Полученные препараты исследовали при помощи светового микроскопа

фирмы Zeiss (модель Prima Star) с оценкой состояния надкостницы, сосудов, типа регенерации, состояния плотного вещества кости.

Результаты и их обсуждения

Результаты наблюдений за крысами с нелеченым переломом малоберцовой кости показали, что через трое суток после перелома животные не пользовались поврежденной конечностью при движении. Поврежденная конечность увеличена в объеме, болезненна при пальпации, температура ее повышена. Через 7 суток после перелома животные эпизодически использовали поврежденную конечность, отечность конечности резко снизилась, температура конечности обычная, пальпация не вызывает особой болезненности. На 14 и 21 сутки опыта подопытные крысы активно используют травмированную конечность, температура этой конечности соответствует температуре противоположной, пальпация конечности безболезненна.

Гистологические исследования показали следующее. Через 3 суток ткани окружающие перелом отечно разволокнены, имеется диффузная инфильтрация лимфоцитами, довольно массивная. В области костных отломков определяются эозинофильные гомогенные включения и скопление лимфоидных и гистиоцитарных элементов, кроме того в зоне перелома определяются тонкие фиброзные, короткие волокна. Через 7 суток после перелома отечность окружающих перелом тканей присутствует, но визуально она менее выражена, чем в предыдущих срезах, инфильтрат представлен немногочисленными лимфоцитами. Пространство между отломками заполнено гомогенатом, содержащим гистиоциты и эозинофильные включения. Плотная костная ткань формирует языки входящие в пространство между отломками. В языках гнезда, содержащие 1-2 остеокита, вокруг языков небольшие пучки грубых, коротких фиброзных волокон. Гистологические исследования проведенные на 14 сутки после перелома не выявили отечности окружающих тканей, в тканях вокруг области перелома отличаются единичные круглоядерные элементы. Плотное вещество кости в области перелома представлено многочисленными соединяющимися «языками», формирующие пористую структуру. В толще «языков» определяются гнезда остеокитов, содержащие 2-4 остеокита с увеличенными ядрами умеренной интенсивности окраски. В полостях между «языками» скопление остеокитов, к моменту окончания эксперимента (21 день после перелома) вокруг области перелома имеется неширокая муфта из соединительно-тканых волокон. Плотное вещество кости сплошное однородное. Гнезда остеокитов распределяются довольно равномерно не очень часто, в них содержится 2-4 клетки с хорошо прокрашенными ядрами. В плотом веществе кости ближе к просвету костного

канала встречаются короткие тяжи из грубых фиброзных волокон. Просвет костного канала, в области перелома сужен.

Развитие репаративного процесса при переломе малоберцовой кости сопровождается изменениями в обмене кальция и фосфора. Согласно данным таблицы 1, в динамике репаративного процесса содержание Ca^{2+} в плазме крови сохраняется близким к контролю, однако уровень фосфора резко снижается. Поскольку транспорт кальция в мягкие ткани и костях тесно коррелирует с содержанием фосфора [1,9,10,11], можно полагать, что снижение уровня последнего отражает интенсификацию процесса транспорта Ca^{2+} в области перелома. В первой половине опыта активность щелочной фосфатазы несколько возрастает, но в момент окончания эксперимента, практически возвращается к уровню интактных животных. Поскольку фосфатазы обеспечивают гидролиз фосфорных эфиров с освобождением ионов фосфора, можно полагать, что активация этого фермента обусловлена необходимостью компенсации потребностей организма в этих ионах, необходимых для транспорта Ca^{2+} в область перелома.

В случаях когда подопытным животным вводили обогащенную тромбоцитами плазму крови течение процесса репарации было иным. Если через 3 суток после перелома животные, как и в предыдущей группе, не использовали поврежденную конечность при передвижении, сама конечность увеличена в диаметре и пальпаторно болезненна, то через 7 дней после перелома животные активно, хотя и не долго, используют конечность при ходьбе. Лапа обычного вида, пальпаторно практически безболезненна, t° ее соответствует противоположной конечности. На 14 сутки после перелома животные используют обе конечности в полном объеме, внешний вид конечности не отличается, однако пальпаторно в области перелома пальпируется некоторая бугристость кости.

Гистологические исследования через 3 суток опыта показали, что массивной отечности окружающих перелом тканей не наблюдается, имеет место отечное расширение межпучковых перегородок мышц и негрубая их инфильтрация лимфоцитами. Надкостница в области перелома уширена за счет многорядности расположения клеток, клетки с увеличенными ядрами, хроматин собран под оболочкой. В зоне перелома, вокруг него и в канале кости вблизи перелома массивное скопление эпителиоидных клеток с округлыми большими хорошо прокрашенными ядрами. Плотное вещество кости в области отломков однородное, но с большим числом гнезд остецитов, в гнезде 2-3 остеocyта, а оболочка гнезда утолщена ярко базофильной окраски.

Через 7 суток после перелома у животных получавших плазму обогащенную тромбоцитами, окружающие перелом ткани обычного вида. Непосредственно вокруг области перелома скопление клеток с палочковидными ядрами сходными с хондрацитами.

Плотное вещество клетки в области бывшего перелома сплошное, однако ширина его меньше, чем в других частях кости. Много гнезд остеоцитов, содержащих 2-3 клетки. Капсула гнезд ярко базофильна. Внутри плотного вещества, а также вблизи его снаружи короткие пучки из грубых фиброзных волокон. Отдельные костные «язычки» выходят наружу плотного вещества кости. Канал кости резко сужен в нем определяются клетки сходные с хондроцитами по своей структуре и волокна соединительной ткани.

Через 14 дней опыта гистологическое исследование области перелома показало, что ткани окружающие эту область обычного вида, определяются единичные лимфоидные элементы. В надкостнице сохраняется многорядное расположение клеток, у большинства из них ядра небольшие овальные хорошо прокрашены. Вокруг области перелома скопление гистиоцитов и волокон фиброзной ткани. Плотное вещество кости представляет собой сплошную пластину, хотя и несколько суженную, по сравнению с таковой над областью перелома, имеются выступы с внешней стороны. В ней много гнезд с 1-2 остеоцитами, капсула гнезда утолщена ярко базофильная. Внутри от пластины костной ткани скопление из гистиоцитов, клеток похожих на хондроциты, островков плотного костного вещества. Костный канал над областью перелома заполнен такой же смесью, но имеются еще и переплетающиеся балки плотного вещества.

Поскольку на 14 сутки опыта можно говорить о восстановлении кости в области перелома, гистологические исследования на 21 сутки не проводились.

Как в первой группе подопытных животных проводилось биохимическое исследование состояния кальциевого обмена. Согласно данным табл. 1. Концентрация кальция в плазме крови на протяжении опыта было ниже, чем в контроле, хотя на 21 день опыта это снижение недостоверно. Аналогично изменилось содержание фосфора. Что касается активности щелочной фосфатазы, то она значительно превышала данные контроля и первой группы опыта. При этом на 21 день она была ниже, чем на 14. Можно полагать, что более раннее восстановление кости связано с интенсификацией усвоения кальция, обусловленной действием плазмы обогащенной тромбоцитами.

При наблюдении за животными, которым осуществлялся фонофорез с фиксированной и неизменной дозой яда («Апизартрон»), на 7 сутки опыта, пальпаторно кость неподвижна, рана визуально затянута, сухой струп прикрывает остатки раны. Через 14 суток после начала опыта (6 сеансов фонофореза с фиксированной дозой яда) кость пальпаторно целая.

Гистологическое исследование малоберцовой кости этих животных в динамике сращения перелома показали следующее. Через 7 суток после перелома окружающие его мышцы с негрубым отечным разволокнением, присутствуют отдельные лимфоциты,

инфильтрирующие ткани. Надкостница уширена за счет фиброзных волокон и неупорядочено расположенных клеток надкостницы с увеличенными, умеренно окрашенными ядрами. Между отломками, сливаясь с ними располагается однородная эозинофильная масса в костном канале с обеих сторон вокруг нее остеоциты, лимфоидные элементы, гистециты (рис. 1). Внутри вышеуказанного массива, балки состоящие из плотных волокон, остеоцитов собранных в группы по 2-3 клетки. Кроме того, обычно от одного из отломков, вглубь массива отходит мощный вырост связанный с плотной частью кости, состоящей из переплетающихся остеонов, гнезд остеоцитов, грубых фиброзных волокон (рис. 2).

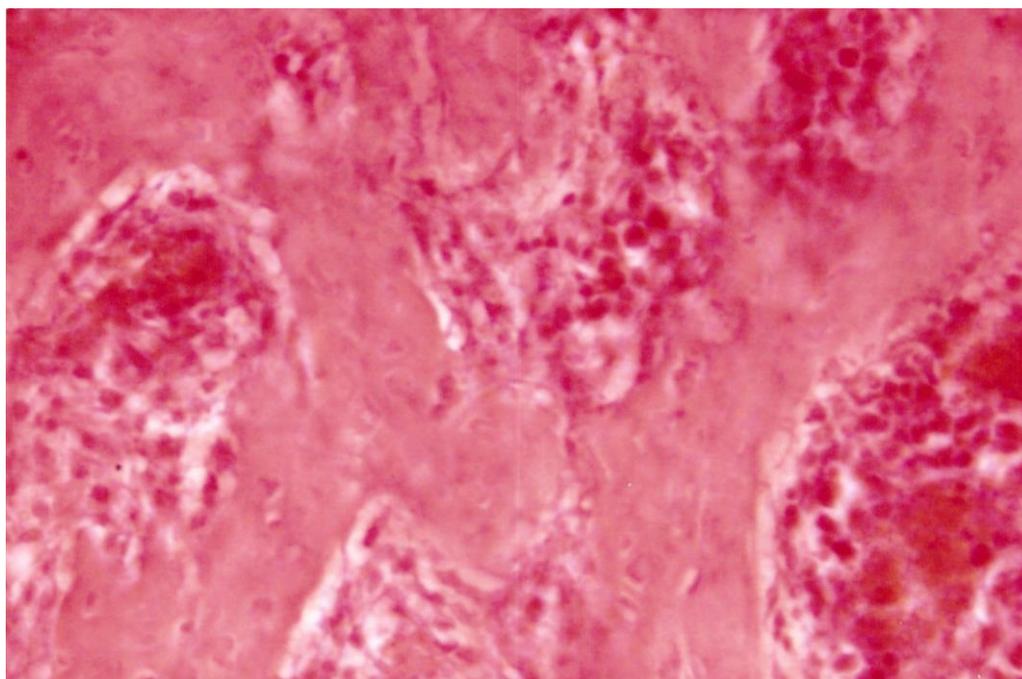


Рис. 1. Область перелома малоберцовой кости крысы. Фонофарез «Апизартроном». Сливающиеся языки плотной остеодной ткани.

Окраска: Ван-Гизон.

Увеличение.: X200

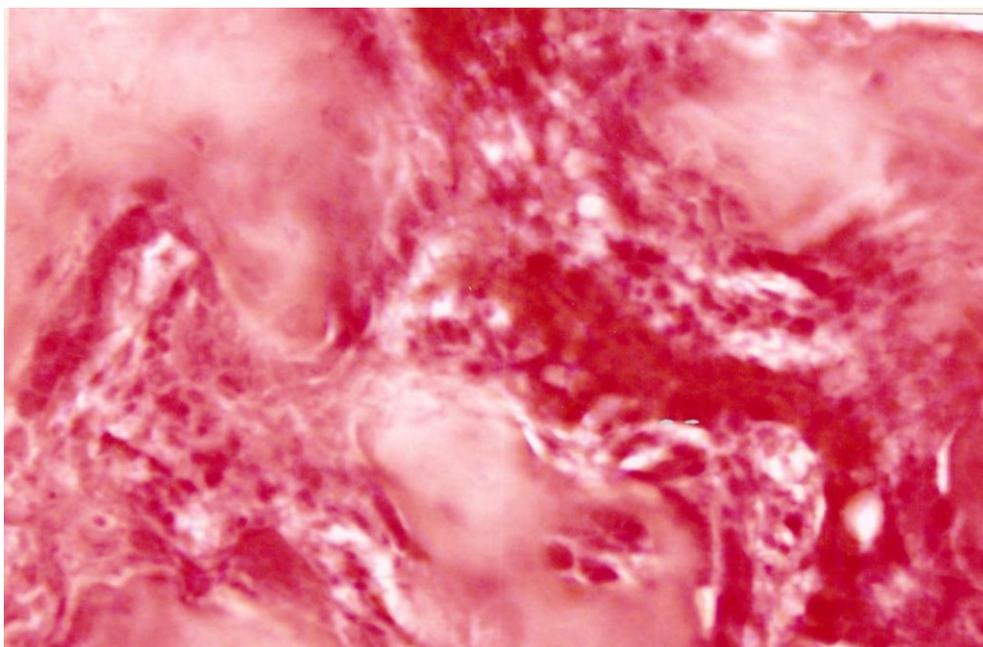


Рис. 2. Малоберцовая кость крысы. Область перелома, курс обогащенной тромбоцитами плазмы. Очаги хондрогенного остеогенеза в массиве гистеоцитов.

Окраска: Ван-Гизон.

Увеличение.: X200

Через 14 суток опыта (6 сеансов фонофореза с «апизпртроном») – окружающие область перелома мышцы обычного вида, инфильтрация или отек не определяется. Надкостница сплошная, утолщена за счет фиброзных волокон, клетки надкостницы располагаются в несколько рядов, но их визуально меньше чем в предыдущем сроке наблюдений. Плотная часть кости сплошная, но в области бывшего перелома в ней несколько больше базофильных грубых волокон. Внутри, в костный канал отходят хаотично сливающиеся балки, состоящие из фиброзных грубых волокон, плотного костного вещества и гнезд остеоцитов с плотной фиброзной капсулой. Сами остеоциты частью с бледными ядрами, частью с нормохромными ядрами. Лимфоидной инфильтрации в костном канале не наблюдается.

Таким образом проведенные исследования показали, что курс фонофореза ускоряет процессы регенерации кости в случае ее перелома. Связано это с повышением митотической активности периостеоцитов, остеоцитов и усилением белоксинтетической активности этих клеток, что приводит к закрытию перелома уже через 7 суток и восстановлению целостности и структурной организации ее уже через 14 суток после начала опыта.

В данной группе подопытных животных также проводилось биохимическое исследование состояния кальциевого обмена. Согласно данным табл. 1, содержание

кальция в плазме крови на 3 сутки опыты было в два раза выше, чем в контрольной и первой группах. К 14 суткам происходило резкое снижения содержания ионов Ca^{2+} до величины вдвое меньшей по сравнению с контрольной и первой группой. На 21 сутки снова происходило двукратное увеличение концентрации Ca^{2+} по отношению контрольной, а также I-ой группам. Содержание ионов фосфора в начале опыта не отличалось от контроля, но на 14 и 21 сутки наблюдалось незначительное снижение. Что касается активности щелочной фосфатазы, то картина схожа с I-группой – на 3 сутки отмечалось существенное снижение относительно контроля, и далее до конца опыта отмечалось незначительная динамика в сторону понижения активности. Можно полагать, что под влиянием пчелиного яда происходит активация поступления Ca^{2+} в область перелома, но в отличие от II-группы этот процесс носит перемежающийся характер.

Поскольку на 14 сутки опыта во II и III группах можно говорить о восстановлении кости в области перелома, гистологические исследования на 21 сутки не проводились.

При этом особо следует подчеркнуть, что процесс заживления перелома был одинаков по временным показателям у крыс II и III групп, которым в месте перелома вводилась плазма обогащенная тромбоцитами и проводился фонофорез с фиксированной дозой яда. Но также следует отметить, что по характеру процесса образования костной мозоли они отличались. Так в I и III группах процесс происходил по остеогенному типу, а во II группе по хондрогенному.

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови у крыс с переломом малоберцовой кости в зависимости от метода лечения. ($M \pm m$)

	Крысы с нелеченым переломом			Фонофорез с «Апизартроном»			Инъекция плазмой обогащенной тромбоцитами		
	7 дней	14 дней	21 день	7 дней	14 дней	21 день	7 дней	14 дней	21 день
ЩФ Ед/л	221.18± 28.32	263.06± 30.06	206.19± 28.25	244.84± 14.79	242.84± 4.56	213.68± 4.32	298± 23,6	456± 46,9	326± 36,3
Ca^{2+} ммоль/л	2.45± 0.022	2.70± 0.039	2.82± 1.333	5.50± 0.067	1.39± 0.052	5.60± 0.035	2,23± 0,121	2,42± 0,317	2,03± 0,181
P ммоль/л	1,72± 0,35	1,60± 0,21	1,28± 0,11	1,82± 0,219	1,54± 0,046	1,41± 0,335	1,8± 0,233	4,45± 0,469	1,92± 0,161

Литература

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С.; АМН СССР. – М.: Медицина, 1991, 496с.
2. Берченко Г.Н., Кесян Г.А., Микелаишвили Д.С. применение биокомпозитного наноструктурного препарата коллапан и обогащенной тромбоцитами аутоплазмы в инжиниринге костной ткани// Травма. – 2010. – том 11, №1. С.7-14.
3. Климовицкий В.Г., Черныш В.Ю. Частота замедленной консолидации переломов у пострадавших разных возрастных групп и влияние на нее остеотропной терапии. // Травма. – 2011. – том 12, №3. С.93-97.
4. Корж Н.А., Романенко К.К., Горидова Л.Д. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Локальные факторы, влияющие на заживление перелома (сообщение 2) // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – № 1. – С. 84-89.
5. Основні показники інвалідності та діяльності медико-соціальних експертних комісій України за 2011 рік: аналітико-інформаційний довідник / [В.В. Маруніч, А.В. Іпатов, Ю.І. Коробкін та ін.]; за ред. Р.В. Богатирьової. – Д.: Пороги, 2012. – 150 с.
6. Фрейдлин С.Я. Профилактика травматизма и организация травматологической помощи. - Л.: Мир, 1993.
7. Шевченко Ю.Л., Шанин В.Ю. Реабилитация после травм и ранений // Общая патология и медицинская реабилитация. – С-Пб., 1994. – 18 с.
8. Connolly J. Tibial nonunion: Diagnosis and Treatment /Ed. by Am Acad. of Orthopaedic Surgeons. – Illinois, 1991. – 71p.
9. Frost H.M. The Biology of Fracture Healing. An. Overview for Clinicians. Part I // Clin. Orthop. And Rel. Res. – 1989. – Vol. 248. – P. 283-293.
10. Simmons D.J. Fracture Healing Perspectives // Clin. Orthop. And Rel. Res. – 1995. – Vol. 200. – P.100-113.
11. Vichnick D. Fracture healing / A basic science primer in Orthopaedics / Ed. by F. Bronner, R. Worrel. – Williams & Wilkins, 1991. – 253 p.