

УДК 611.13.018.74:616.3-004.6.092.9

DOI

©А. А. Лихицкий

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Влияние криоконсервированной плацентарной ткани на остеогенез в эксперименте при переломе нижней челюсти

Резюме. Морфологически исследован процесс остеогенеза при лечении перелома нижней челюсти на фоне остеопороза в экспериментальных животных. Выявлено, что в сравнении с контрольной группой (перелом), применение комплексного лечения в виде подкожного введения криоконсервированной плаценты и цитрата кальция определялась меньшая степень развития некроза и секвестрирования в области травмы, что создавало условия для сращения фрагментов к 30-м суткам за счет мелкопетлистой сети новообразованных костных балочек. При этом наблюдалось преобладание активности остеогенного компонента за счет сети мелкопетлистых костных балочек. Препарат криоплаценты в сочетании с введением цитрата кальция оказывал стимулирующее влияние на формирование провизорных тканей регенерата в ранние сроки – с 14 по 21 сутки.

Ключевые слова: остеопороз, перелом, криоконсервированная плацента, морфология.

О. О. Ліхницький

Институт проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Вплив кріоконсервованої плацентарної тканини на остеогенез в експерименті при переломі нижньої щелепи

Резюме. Морфологічно досліджено процес остеогенезу при лікуванні перелому нижньої щелепи на тлі остеопорозу в експериментальних тварин. Виявлено, що порівняно з контрольною групою (перелом), застосування комплексного лікування у вигляді підшкірного введення кріоконсервованої плаценти і цитрату кальцію визначали менший ступінь розвитку некрозу і секвестрування у ділянці травми, що створювало умови для зрощення фрагментів до 30-ї доби за рахунок дрібнопетлистої сітки новоутворених кісткових балочок. При цьому спостерігали переважання активності остеогенного компонента за рахунок сітки дрібнопетлистих кісткових балочок. Препарат кріоплаценти разом із введенням цитрату кальцію мав стимулювальний вплив на формування провизорних тканин регенерату в ранні терміни – з 14 до 21 доби.

Ключові слова: остеопороз, перелом, кріоконсервована плацента, морфологія.

O. O. Lykhytskyi

Institute of Cryobiology and Cryomedicine of Ukraine, Kharkiv

The impact of cryopreserved placental tissue on osteogenesis in the experiment in the conditions of the mandible fracture

Summary. The process of osteogenesis was morphologically studied in the treatment of bone fracture of the lower jaw against the background of osteoporosis in experimental animals. It was found that compared with the control group (fracture), an integrated treatment in a subcutaneous administration of cryopreserved placenta and calcium citrate determined a lower degree of necrosis

and sequestration at the site of injury, which created conditions for irrigation fragments to the 30th day to small grid of newly bone beams. Thus there was observed the prevalence osteogenic activity of components due to the grid small bone beams. The drug of cryoplacenta together with the introduction of calcium citrate had a stimulating effect on the formation provisionally regenerate tissues in the early stages – from 14 to 21 days.

Key words: osteoporosis, fracture, cryopreserved placenta, morphology.

Вступление. Лечение костных нарушений, таких, как остеопороз в сочетании с переломами, направлено в основном на иммобилизацию и реабилитационные мероприятия в послеоперационном периоде. Используемые при этом кальций-миметики, эстрогены, анаболические стероиды, статины требуют длительного применения и зачастую вызывают нежелательные побочные эффекты. В связи с этим, большие надежды возлагаются на использование в качестве активаторов репаративных процессов биогенных стимуляторов. Имеются сведения, что использование клеточной и тканевой терапии оптимизирует сроки заживления травматических повреждений, способствует ускоренному восстановлению функций. Большое значение приобретает возможность использования в качестве тканевой терапии плацентарной ткани и ее производных, т. к. проведенными исследованиями доказано, что плацента содержит широкий спектр гормонов, цитокинов и других биологически активных веществ, которые сохраняются в ее ткани после низкотемпературного хранения. При этом метод криоконсервации обеспечивает постоянный и безопасный для пациента запас этих тканей в низкотемпературном банке.

Материалы и методы. Животные были разделены на 2 группы: группа 1 – контроль, животным на фоне моделированного остеопороза (ОП) производили перелом нижней челюсти (ПНЧ); группа 2 – животным с моделью остеопороза и переломом челюсти вводили криоконсервированный фрагмент плаценты в сочетании с цитратом кальция в дозе 26 мг/г (ОП + ПНЧ +Ca). Через 18–24 часа после произведенного перелома на спине в зоне ло-

патки под местным обезболиванием 0,5 % раствором новокаина производили небольшой разрез (1,0–1,5 см) и формировали подкожный карман, в который помещали фрагмент плаценты массой (55±15) мг, разрез зашивали и обрабатывали антисептиком.

На 7, 14, 21, 30 и 45 сутки животных обеих групп выводили из эксперимента. Крыс подвергали эвтаназии в соответствии Хельсинской декларации и Закона Украины «Про захист тварин від жорстокого відношення» (N 1759-VI від 15.12.2009), рекомендацій В. Д. Мишалова и соавт. «Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових морфологічних досліджень», а также «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами», утвержденных I национальным конгрессом з биоэтики (20.09. 2001, г. Киев, Украина).

Фрагменты плаценты человека были получены с соблюдением правил асептики и антисептики, сохранялись при температуре 196 °С в стерильных контейнерах фирмы «Nunc» для низкотемпературного консервирования по технологии, разработанной в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины. Для гистологического исследования фрагменты костной ткани из зоны операции выделяли, фиксировали в 10 % растворе формалина, декальцинировали, обезвоживали и заключали в целлоидин, срезы изготавливали на санном микротоме Reichert и окрашивали гематоксилином и эозином.

Исследования гистологических препаратов и микрофотографирование произведены на микроскопе «AxioStar Plus».

Результаты исследований и их обсуждение. Группа 1. На 7 сутки выявлены обширные участки некроза и секвестры, которые находились на значительном протяжении от линии повреждения, но были отграничены хорошо сформированной грануляционной тканью с узкими участками лейкоцитарной инфильтрации. На отдельных участках определялись фрагменты компактной костной ткани, в которых наряду с четко окрашенными остеócитами обнаруживались «пустоты» или камеры с асимметрично расположенными или частично фрагментированными остеócитами. Поверхность костных фрагментов с большим количеством лакун резорбции во многих участках была сращена с новообразованными костными балочками, которые местами формировали поля либо переходили в участки остеогенной грануляционной ткани, в которой выявлено значительное количество клеток с асимметрично расположенным ядром, интенсивно оксифильной гомогенной цитоплазмой, что позволило их отнести к преостеобластам. Часто между этими клетками обнаруживались тонкие разветвленные участки новообразованного костного матрикса.

На 14 сутки в составе компонентов регенерата обнаруживалось преобладание полей грануляционной и новообразованной костной ткани, которые четко отграничивали участки некроза и секвестры и только в отдельных участках инфильтрированы лейкоцитами в виде узких зон. В отдельных зонах определялось отграничение участков некроза грануляционной тканью, содержащей большое количество капилляров. На фоне большого числа новообразованных костных балочек, преимущественно спаянных с поверхностью фрагментов, располагались участки компактной костной ткани с отдельными безостеócитными зонами и местами лакунами резорбции.

Через 21 сутки обнаруживались участки некроза и секвестры. Они занимали центральные области регенерата и были отграничены хорошо сформированной тканью, которая в местах контакта с зона-

ми некроза была инфильтрирована лейкоцитами. В тесной связи с поврежденными отделами фрагментов определялись поля мелко- и крупнопетливой сети костных балочек. На отдельных участках наблюдался переход грануляционной ткани в сетевидные поля новообразованных костных балочек, которые перестраивались в компактные зоны. На других участках обнаружено формирование кортикальной структуры из утолщенных костных балочек, отграниченной фиброзным слоем от грануляционной ткани.

На 30 сутки сохранялось описанное выше расположение компонентов регенерата: участки некроза и мелкие секвестры в центре, сравнительно узкая зона грануляционной ткани, окружающая эти участки и лишь в отдельных участках ее лейкоцитарная инфильтрация. Основным компонентом регенерата являлась новообразованная костная ткань, в которую «впаяны» сохранившиеся фрагменты костной ткани. В отдельных местах определялась остеокластическая резорбция компактной кости на концах фрагментов и сращения новообразованной костной ткани с поверхностью этих же фрагментов. Поля новообразованных костных балочек переходили в грануляционную ткань, которая в слоях, прилегающих к участку некроза, инфильтрирована лейкоцитами. За счет полей костных балочек концы фрагментов сращены, но местами их разделяет грануляционная ткань с выраженной фиброзной основой.

На 45 сутки продолжает сохраняться картина, описанная выше. Расположение основных компонентов регенерата не отличалось существенными особенностями. Большая часть полей состояла из утолщенных новообразованных костных балочек, которые формируют крупнопетливую сеть, которая местами перестраивалась в компактную костную ткань. На некоторых участках четко обнаруживалось отграничение полей новообразованных костных балочек от грануляционной ткани, которая узкой зоной отделяла область некроза. Сохранившиеся фрагменты компактной кости

спаяны с новообразованной костной тканью. В области концов фрагментов обнаруживается лакунарная резорбция.

Группа 2. Микроскопически через 7 суток определялись отдельные зоны некроза и секвестры, отграниченные грануляционной тканью и инфильтрированные лейкоцитами. За грануляционным валом на сохранившихся участках компактной костной ткани обнаруживались распространенные поля новообразованной костной ткани. Местами были отчетливо видны фрагменты из компактной костной ткани частично с безостеоцитными зонами, с поверхностью которых сращена мелкопетлистая сеть новообразованных костных балочек. За счет сети новообразованных костных балочек заполнена щель между фрагментами, при этом и отмечалось отграничение полей новообразованной ткани.

На 14 сутки обнаруживались весьма ограниченные участки некроза и секвестров, которые отделены узкими зонами грануляционной ткани от значительных по протяженности полей из сети новообразованных костных балочек. На отдельных участках выявлены выраженные проявления остеогенеза с трансформацией мелкопетлистой сети в крупнопетлистую и отграничение участков инфильтрации тонкими зонами грануляционной ткани. Сохранившиеся фрагменты из компактной костной ткани местами подвергались выраженному разрежению и срастались с полями новообразованных костных балочек.

Через 21 сутки наблюдалось преобладание полей новообразованной костной ткани, за счет которой формировался компактный слой, хотя между этими полями и определялись отграниченные небольшие участки некроза, а также подвергающиеся резорбции секвестры. Местами концы фрагментов соединялись полями из крупнопетлистой сети костных балочек, четко отграниченных от прилегающей грануляционной ткани, богатой пучками коллагеновых волокон. Наряду с выраженным остеогенезом, обнаруживалась резорбция фрагментов кост-

ной ткани с образованием массивных фрагментарных полостей.

На 30 сутки наблюдалось восстановление целостности нижней челюсти за счет перестраивающегося регенерата, состоящего из мелко- и крупнопетлистой сети новообразованных балочек, между ними обнаруживались участки хондрогенной ткани, подвергающейся перестройке в костные структуры. Поля новообразованных балочек включали в себя подвергшиеся резорбции и rarefикации фрагменты из компактной костной ткани.

На 45 сутки выявлены сращения концов фрагментов за счет новообразованной компактной костной ткани. На некоторых участках новообразованный кортикальный слой состоял из плотной костной ткани с беспорядочным расположением системостеонов и безостеоцитных зон. Относительно беспорядочное расположение различной величины остеонов наблюдалось почти на всем протяжении кортикального слоя.

Выводы. В контрольной группе грануляционная ткань являлась наиболее активным компонентом регенерата во все сроки его формирования, и отграничивала поля лейкоцитарной инфильтрации и секвестры, но остеогенный компонент не получил преобладающего развития и, следовательно, до конечного срока наблюдения восстановления целостности нижней челюсти не происходило, т. к. в морфогенезе регенерата отсутствовала закономерная смена структуры, что замедляло процесс перестройки.

При переломе с введением криоконсервированной плаценты и раствора цитрата Са определялась значительно меньшая, чем в группе 1, интенсивность некротических изменений, быстрое отграничение участков некроза и секвестров и более интенсивное развитие грануляционной ткани. Это создавало условия для сращения фрагментов к 30-м суткам за счет мелкопетлистой сети новообразованных костных балочек.

Приведенные данные отчетливо отражают стимулирующее действие введенного препарата криоплаценты, выраженное

в большей степени на поздних стадиях регенерации. Преобладание активности остеогенного компонента при сращении фрагментов поврежденной кости за счет сети мелкопетлистых костных балочек, что заключается в увеличении площади новообразованной костной ткани в зоне повреждения по сравнению с контрольной группой. Кроме того, препарат криоплаценты оказывал стимулирующее влияние на формирование провизорных тканей на отдельных участках регенерата в ранние сроки – с 14 по 21 сутки.

При этом следует отметить, что во все сроки наблюдения остеогенный компонент преобладал над фиброгенными компонентами, что свидетельствует о более интенсивно протекающих процессах остеогенеза и сращения фрагментов уже к 30 суткам. Таким образом, действие комплекса примененных нами препара-

тов криоплаценты и препарата Са существенно изменяют морфогенез регенерата кости нижней челюсти. Сочетанное применение препаратов приводит к значительному уменьшению площади некротических изменений в зоне повреждения и интенсификации остеогенеза. Все это обуславливает быстрое отграничение участков некроза и формированию к 21 суткам полей новообразованной костной ткани в виде мелкопетливой сети костных трабекул, за счет чего происходит сращение краев перелома. Отмечается также формирование компактной кости.

Таким образом, анализ морфологических изменений позволил выявить фазы восстановительного процесса и установить особенности стимулирующего эффекта сочетанного применения препаратов криоплаценты и Са.

Список литературы

1. Юрченко Т. Н. Плацента: криоконсервирование, клиническое применение / под ред. Гольцева А. Н., Юрченко Т. Н. – Харьков : ФОР Бровин А. В., 2013. – 318 с.
2. Юрченко Т. Н. Лечение подагрического артрита у больных с ожирением с использованием криоконсервированного экстракта плаценты / Т. Н. Юрченко, А. А. Капустянская, В. И. Шепитько // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2013. – Т. 23, № 4. – С. 326–338.
3. Плацента: криоконсервирование, структура, свойства, перспективы клинического применения / под ред. В. И. Грищенко, Т. Н. Юрченко. – Х. : СПД ФЛ Бровин А. В., 2011. – 292 с.
4. Обоснование применения препаратов криоконсервированной плаценты для коррекции почечной недостаточности / И. И. Кондаков, Т. Н. Юрченко, Л. Н. Марченко, [и др.] // Проблемы криобиологии. – 2012. – Т. 22, № 3. – С. 259.
5. Вплив фетальної кісткової тканини на репаративний остеогенез при діафізарних переломах кісток гомілки / О. В. Мірошниченко, В. О. Литовченко, Фахд Ель Абдаллах, В. Г. Власенко // Таврический медико-биологический вестник. – 2004. – Т. 7, № 4. – С. 265–266.

Отримано 08.12.15