

3. Встановлена наявність тих чи інших стадій запалення у хворих є підґрунтям для призначення патогномічної, тобто протизапальної терапії з метою поліпшення ефективності лікувальних і реабілітаційних заходів та профілактики можливих ускладнень.

## Література

1. Герцен Г. И. Диагностическая и хирургическая артроскопия менисков коленного сустава / Г. И. Герцен // Вісн. ортопед., травматол. та протезув. — 2002. — № 3. — С. 9–12
2. Готовский Ю. В. Практическая электропунктура по методу Р. Фоллем / Ю. В. Готовский, А. В. Самохин. — М.: Имедис, 2001. — 896 с.
3. Мачерет Е. Л. Основы электро- и акупунктуры / Е. Л. Мачерет, А. О. Коржушко. — К.: Здоров'я, 1993. — 390 с.
4. Перфілова Л. В. Визначення стану сполучної тканини у хворих із ревматоїдним артритом та анкілозивним спондилітом за допомогою методу електропунктурної діагностики Р. Фолля / Л. В. Перфілова // Вісн. ортопед., травматол. та протезув. — 2012. — № 1. — С. 52–56.
5. Перфілова Л. В. Діагностика захворювань та ушкоджень периферичних структур печового суглоба : дис. ... канд. мед. наук : 14.01.21 / Перфілова Лідія Володимирівна. — К., 2010. — 136 с.
6. Перфілова Л. В. Застосування методу електропунктурної діагностики за Р. Фоллем у хворих на остеохондроз хребта / Л. В. Перфілова, І. В. Рой // Вісн. ортопед., травматол. та протезув. — 2003. — № 2. — С. 57–60.
7. Перфілова Л. В. Застосування методу електропунктурної діагностики за Р. Фоллем у хворих із наслідками травм верхньої кінцівки / Л. В. Перфілова, О. Г. Гайко // Літопис травматол. та ортопед. — 2011. — № 1–2. — С. 168–172.
8. Перфілова Л. В. Застосування методу електропунктурної діагностики за Р. Фоллем при анкілозивному спондиліті / Л. В. Перфілова, М. В. Полулях // Там же. — 2006. — № 1–2. — С. 114–119.
9. Подшибякин А. К. Значение активных точек кожи для эксперимента и клиники : автореф. дис. на соискание науч. степени доктора мед. наук : спец. 14.00.24 / А. К. Подшибякин. — К., 1960. — 31 с.
10. Радченко В. А. Противовоспалительная терапия в системе реабилитации при артроскопии коленного сустава у спортсменов / Радченко В. А., Болховитина Н. А., Болховитин П. В. // Ортопед., травматол. и протезир. — 2007. — № 4. — С. 89–91.
11. Результаты консервативного лечения поврежденных связочного аппарата коленного сустава / Климовицкий В. Г., Тяжелов А. А., Гончарова Л. Д. [и др.] // Травма. — 2012. — Т. 13, № 1. — С. 79–82.
12. Фізична реабілітація після артроскопічного відновлення передньої хрестоподібної зв'язки : метод. рек. / Рой І. В., Головаха М. Л., Лазарев І. А., Сергієчко Р. О., Заморський Т. В., Катюкова Л. Д. — Український центр наукової медичної інформації і патентно-ліцензійної роботи. МОЗ України. АМН України. — К., 2009. — 20 с.
13. Хвисьок А. Н. Реабилитация пациентов с травмами капсульно-связочного аппарата коленного сустава после артроскопических вмешательств / А. Н. Хвисьок, А. А. Завгородняя // Травма. — 2011. — № 12. — С. 18–20.
14. Яременко Д. А. Актуальные вопросы организации медицинской реабилитации больных с последствиями травм и заболеваний опорно-двигательной системы / Д. А. Яременко, Е. Г. Шевченко // Літопис травматол. та ортопед. — 2011. — № 1–2. — С. 312.

УДК 616.71-089.844

## ВЛИЯНИЕ БИОКОМПЗИТНОГО МАТЕРИАЛА “ОСТЕОМАТРИКС” НА ПРОЦЕССЫ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА (иммуногистохимическое исследование)

Л. Ю. Науменко, А. Ф. Панасюк, К. Ю. Кострица, А. М. Горегляд, А. А. Бондаренко, В. В. Хороших  
Днепропетровская государственная медицинская академия, Украина

### THE INFLUENCE OF BIOCOSMPOSITE MATERIAL “OSTEOMATRIX” ON REGENERATION PROCESS OF BONE TISSUE UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS (immunohistochemical investigation)

L. Yu. Naumenko, A. F. Panasiuk, K. Yu. Kostrytsia,  
A. M. Horebliad, A. A. Bondarenko, V. V. Khoroshykh

Results of experimental studies of macro- and micro-preparations of bone graft composite OsteoMatrix in replacement of defects of the femoral bone in rats with application of immunohistochemical method and light microscopy are reported. Dynamics was followed up during 3 months. Immunohistochemical and

*histomorphological signs of rebuilding of bone implants were studied, experimental model of grafting of bone implants on the laboratory animals was developed. Informative value of performed immunohistochemical research for objective evaluation of remodeling time of bone tissue and its reaction on the implant was shown. This method allows to identify accurate osteoinductive proteins as well estimate quantitatively the level of their expression.*

*Key words: immunohistochemical method, osteoinductive proteins, bone implant, rebuilding of the implant.*

**ВПЛИВ БІОКОМПОЗИТНОГО МАТЕРІАЛУ “ОСТЕОМАТРИКС”  
НА ПРОЦЕСИ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТУ  
(імуногістохімічне дослідження)**

Л. Ю. Науменко, А. Ф. Панасюк, К. Ю. Костриця,  
О. М. Горегляд, О. О. Бондаренко, В. В. Хороших

*Представлені результати експериментального дослідження на макро- і мікропрепаратах біокомпозитного кісткового матеріалу “Остеоматрикс” при заміщенні дефектів стегнової кістки у щурів, із застосуванням імуногістохімічного методу та методу світлової мікроскопії. Динаміка досліджень – 3 місяці. Вивчені імуногістохімічні та гістоморфологічні ознаки перебудови кісткових імплантатів, розроблена експериментальна модель трансплантації кісткових імплантатів на лабораторних тваринах. Показана інформативність проведення імуногістохімічного дослідження для об’єктивної оцінки швидкості ремоделювання кісткової тканини і її реакції на імплантат. Цей метод дозволяє достовірно ідентифікувати остеоіндуктивні протеїни, а також кількісно оцінити їх рівень експресії.*

*Ключові слова: імуногістохімічний метод, остеоіндуктивні протеїни, кістковий імплантат, перебудова імплантата.*

## Введение

Необходимость экспериментального исследования заключается в том, что в опыте на животных возможно использование методов, недоступных для клинического применения. К этим методам, прежде всего, относятся иммуногистохимические и гистоморфологические исследования *репарации костной ткани* в динамике.

Проблема пластического закрытия дефектов костей различной локализации до настоящего времени остается актуальной. Одной из главных задач является выбор материала для трансплантации. Поиски оптимальных материалов продолжаются и поныне.

Одним из вариантов решения задачи восстановления целостности кости может стать практика использования *демнерализованных костных имплантатов*.

Трансплантация органо-тканевых участков в пораженной области организма является одной из важных проблем современной медицины. При костной хирургии восстановление должно происходить как за счет специфической структуры и свойств трансплантата или имплантата, так и за счет активации собственных клеточных элементов и усиления регенерации костной ткани в целом [1].

Сегодня в мире существует большое количество разнообразных остеопластических материалов (костных заменителей) для остеосинтеза и остеопластики, применяемых в стоматологии, травматологии, нейрохирургии, ортопедии и челюстно-лицевой хирургии. К наиболее известным в заместительной хирургии относятся коллагены, гидроксипатиты, биокерамика, декальцинированный костный матрикс и др. Для восстановления дефектов костной ткани (остеосинтез и костная пластика),

osteoplastic biomaterials receive, as a rule, from bones and/or cartilage of various animals and humans. These implants in the first place should possess osteointegrative, osteoconductive and osteoinductive properties [A. L. Heller, 1994].

По литературным данным, *под остеоиндукцией* понимают процесс начальной активации клеток-предшественников для формирования костной ткани в процессе регенерации.

*Остеокондукция* — рост кости на поверхностях имплантата.

*Остеоинтеграция* — процесс, обеспечивающий клинически бессимптомную жесткую фиксацию биоимплантатов при функциональной нагрузке [1].

Биоимплантаты нашли применение в травматологии и ортопедии при лечении больных с посттравматическими несращениями длинных костей, ложными суставами, доброкачественными опухолями и опухолевидными заболеваниями костей. Костная алло- и ксенопластика является методом выбора при замещении дефектов костей после резекций. Алло- и ксеногенные ткани позволяют добиться положительных результатов в пластике сухожиль и связочного аппарата. Созданы и совершенствуются технологии получения имплантатов, разрабатываются клеточные технологии, изучаются возможности костных морфогенетических белков в перспективе их использования в травматологии и ортопедии [4].

Ремоделирование костной ткани и ее реакция на имплантат являются сложными процессами, в которых остеобласты и их предшественники играют весомую роль. Поскольку ответ на имплантат в значительной степени зависит от сигнальных клеток, участвующих

в регенерации, данное исследование было направлено на изучение биологического влияния исследуемого материала на секрецию остеотропных лигандов и их рецепторов в костной ткани.

В настоящее время известно множество биологически активных веществ белковой природы, которые могут усиливать или, наоборот, подавлять остеогенез и, следовательно, непосредственно участвовать в формировании костной ткани и ее ремоделировании. *Иммуногистохимический метод* позволяет не только достоверно идентифицировать такие протеины, но и давать количественную оценку их уровня экспрессии. Исходя из функциональной значимости и коммерческой доступности антител, для исследования было отобрано несколько таких маркеров: остеокальцин, остеоопонтин, BMP-2 (bone morphogenetic protein-2) и VEGFR (рецептор сосудисто-эндотелиального роста) [1–4].

**Цель** исследования — изучить эффективность, биосовместимость и динамику перестройки костно-пластического материала “Остеоматрикс” при замещении дефекта бедренной кости у крыс.

**Задачи** исследования:

1) разработать экспериментальную модель трансплантации костных имплантатов на лабораторных животных;

2) изучить результаты экспериментального исследования на макро- и микропрепаратах костного материала при замещении дефектов бедренной кости у крыс, применив иммуногистохимический метод и метод световой микроскопии.

## Материалы и методы

Экспериментальной моделью изучения свойств биокomпозиционного материала “Остеоматрикс” является имплантация его в костный дефект бедренной кости крысы инъекционным путем и гистоморфологическое исследование полученного материала в различные сроки после операции.

Группе беспородных крыс (20 шт.) массой 200–300 г проводили пластику костного дефекта, образованного на уровне большого вертела бедренной кости. Для наркоза использовался 1% раствор тиопентала натрия, который вводили внутривенно из расчета 1 мл на кг массы тела животного. Животным в межвертельной области бедренной кости создавали костный дефект. Идентичность формы и размера дефектов достигалась путем использования сверла диаметром 2,7 мм. Животным *опытной группы* дефекты заполняли инъекционным материалом “Остеоматрикс”, представляющим собой стабильную, не расслаивающуюся суспензию, беспрепятственно проходящую через канюлю. Размер частиц суспензии варьировал от 0,1 до 0,7 мм. В *контрольной группе* животных дефект ничем не восполняли. Животных выводили из эксперимента на 20 и 60 сутки после операции. На каждый срок использовали по 6 лабораторных животных. Проксимальный фрагмент бедренной кости с имплантатом и без него резецировали, оценивали макроскопически и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. При исследовании руководствовались

“Европейской конвенцией относительно защиты позвоночных животных, которые используются с экспериментальными и другими научными целями” (Страсбург, 18.03.1986 г.).

## Методика эксперимента

### *Подготовка костной ткани*

Для исследования была получена бедренная кость крысы серой (*Rattus norvegicus*) с окружающими мягкими тканями (мускулатура, фасции), фиксированная в 96% этаноле. Предварительно материал был оценен макроскопически. Дальнейшие манипуляции были произведены в соответствии с разработанной стратегией гистологического исследования костных биоимплантатов, производимых Междисциплинарным исследовательским центром (SFB599) на базе Медицинского университета и Университета ветеринарной медицины г. Ганновер (Германия) [1]. Исследуемая бедренная кость предварительно была препарирована и разделена при помощи циркулярной пилы на пять фрагментов: проксимальный конец бедренной кости, дистальный и три фрагмента, которые включали участок с имплантатом.

### *Обработка мягких тканей*

Мягкие ткани, прилегавшие к участку с имплантатом, были аккуратно отсепарированы от кости, фиксированы в 10% нейтральном формалине, залиты в парафин и порезаны на ротационном микротоме “Leica RM2500” (фрагмент MB). Полученные срезы окрашены гематоксилин-эозином и оценены гистологически.

### *Декальцирование и обработка образцов*

После промывки в проточной воде (30 мин.) фрагменты были помещены на 14 суток в 10% раствор этилендиаминтетраацетата (EDTA, pH 7,0, комнатная температура) для декальцинации. Смена рабочего раствора проводилась ежедневно. Контроль конечной точки декальцирования производился при помощи рентген-снимков — на 14-е сутки декальцинации, очаги минерализации не наблюдались. После промывки в проточной воде (30 мин.) кусочки были повторно фиксированы в 10% растворе нейтрального формалина в течение 48 часов, а затем обезвожены и залиты в парафин согласно стандартной методике. Из полученных блоков были изготовлены срезы толщиной 3 мкм.

### *Гистологические окраски*

Все полученные срезы были окрашены гематоксилин-эозином и по методу Масона-Голднера (четырёхцветная окраска соединительной ткани). Данная методика окраски позволяет дифференцировать костный матрикс различной степени зрелости. Так, минерализованная кость окрашивается в зеленый цвет, остеоид — в красный. Это позволяет оценить процесс формирования костной ткани и ее ремоделирования.

### *Иммуногистохимический метод*

Для оценки биосовместимости имплантата, его остеиндуктивных свойств и костного ремоделирования был применен иммуногистохимический метод. Его **цель** —

определение экспрессии маркеров, отражающих процессы ремоделирования в зоне имплантации. В данном исследовании были использованы первичные моноклональные антитела к остеокальцину (клон OCG4, Novus Biologicals), остеопонтину (клон 1B20, Novus Biologicals), BMP-2 — bone morphogenetic protein-2 (1A11, Sigma Aldrich) и VEGFR — vascular-endothelial growth factor receptor (Flk-1, Thermo Scientific).

Подготовленные срезы были депарафинированы в ксилоле. Блокировка эндогенной пероксидазы проводилась в 80% этаноле с 1% перекиси водорода в течение 30 мин. при комнатной температуре. Демаскировка антигенов производилась при помощи детергента Triton X100 с добавлением EDTA в течение 45 мин. при комнатной температуре. После блокировки неспецифической иммунореактивности нормальной козьей сывороткой в течение 20 мин. срезы были инкубированы с первичными антителами в течение 12 часов при температуре 4°C. Были применены следующие разведения: остеокальцин — 1:800, остеопонтин — 1:400, BMP-2—1:1000, VEGFR — 1:500. В качестве вторичных антител были использованы антимышиная (к остеокальцину и остеопонтину) и антикроличья (к BMP-2 и VEGFR) биотинилированные сыворотки. Для визуализации реакции использовался АВС-метод (Vectastain Elite Kit, Vector) с последующей реакцией хромогенного субстрата (DAB Kit, Vector). Продукт реакции визуализировался в виде коричневого окрашивания в участках экспрессии исследуемых маркеров. Позитивный контроль для остеокальцина и остеопонтина проводился на декальцинированной костной ткани кроликов, BMP-2 — мышей, VEGFR — на биоптате гемангиосаркомы собаки. Для негативного контроля вместо первичных антител были использованы неммышиная (остеокальцин, остеопонтин) и кроличья (BMP-2 и VEGFR) сыворотки. Оценивалась как матриксная, так и клеточная экспрессия исследуемых маркеров.

#### Микроскопия

Микроскопирование препаратов производилось на микроскопе Zeiss AxioLab 4.0 увеличениями  $\times 100$ ,  $\times 200$  и  $\times 400$ . Для анализа и фотографирования изображений была использована программа *AxioVision 7.2* для Windows.

### Результаты и их обсуждение

Клинически течение послеоперационного периода у животных было без особенностей. Послеоперационные раны зажили первичным натяжением. Гнойно-септических осложнений не отмечалось. Две крысы погибли в первый час после операции предположительно вследствие передозировки препарата для наркоза.

#### Макроописание

У крыс *опытной группы* на 20-е сутки определялись кратерообразное мелкобугристое утолщение костной ткани округлой формы ( $\varnothing$  5 мм) с небольшим углублением посередине (1 мм), выступающее на 3 мм над поверхностью остальной кости. Консистенция и вид на разрезе

соответствовали таковым в нормальной губчатой кости. На остальном протяжении кость имела нормальное анатомическое строение. Прилегающие к утолщению мягкие ткани (мускулатура, надкостница) были плотно спаяны с ним, на разрезе мышечная ткань имела буроватый оттенок. На 60-е сутки наблюдения утолщение кости составляло в среднем 5 мм в диаметре, дефект макроскопически не визуализировался.

В *контрольной группе* на 20-е сутки дефект был заполнен грубоволокнистой соединительной тканью. Через 2 месяца 2/3 дефекта было заполнено незрелой регенерирующей костной тканью.

#### Иммуногистохимия

- *Остеокальцин*: была определена негативная реакция антител к данному маркеру, по-видимому, из-за отсутствия их реактивности к протеину крысы.

- *Остеопонтин*: наиболее целесообразно оценивать экспрессию остеопонтин в исследованиях регенерации костной ткани: в остеоиде — для анализа степени резорбции кости (остеопонтин усиливает адгезию остеокластов), в остеообластах — для анализа их активности [2].

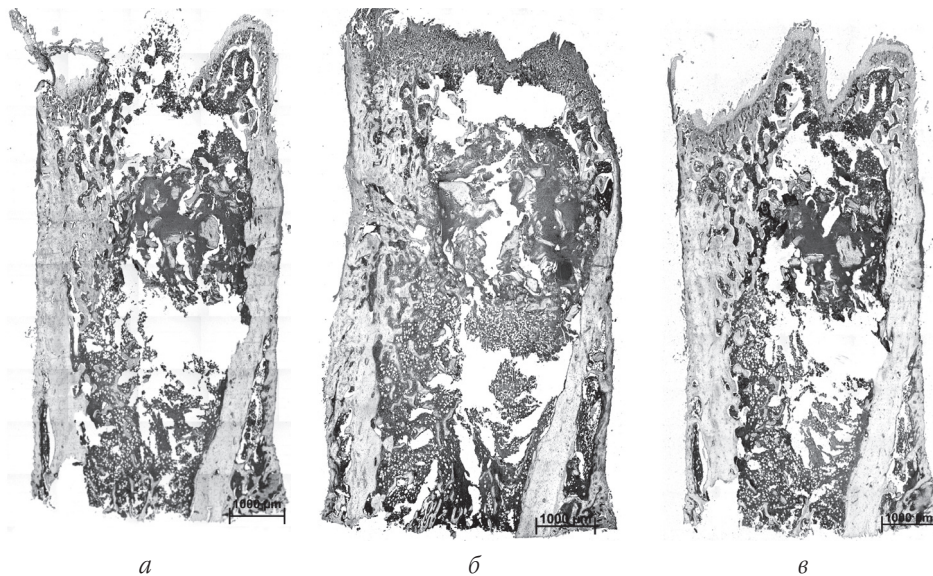
На 20-е сутки экспрессия остеопонтин наблюдалась в веществе губчатой кости, остеоиде и остеообластах. Экспрессия в межклеточном матриксе визуализировалась как фокальное окрашивание вдоль волокон в зрелой кости и диффузно — в остеоиде. Кроме того, маркер определялся в клетках костного мозга и фибробластах. Наблюдалась повышенная экспрессия данного маркера в местах активного остеогенеза — в месте имплантации (рис. 2в), а также в участках периостальной реакции в более дистальных отделах диафиза (рис. 1б).

На 60-е сутки слабая экспрессия данного маркера определялась в местах лакунарного остеоида, достоверно не отличаясь от таковой в остальных участках образцов кости оперированной группы, а также контроля. Уменьшение экспрессии остеопонтин на 60-е сутки после имплантации свидетельствует о снижении активности остеобластов, резорбции новообразованной кости и, следовательно, о завершении процесса ремоделирования.

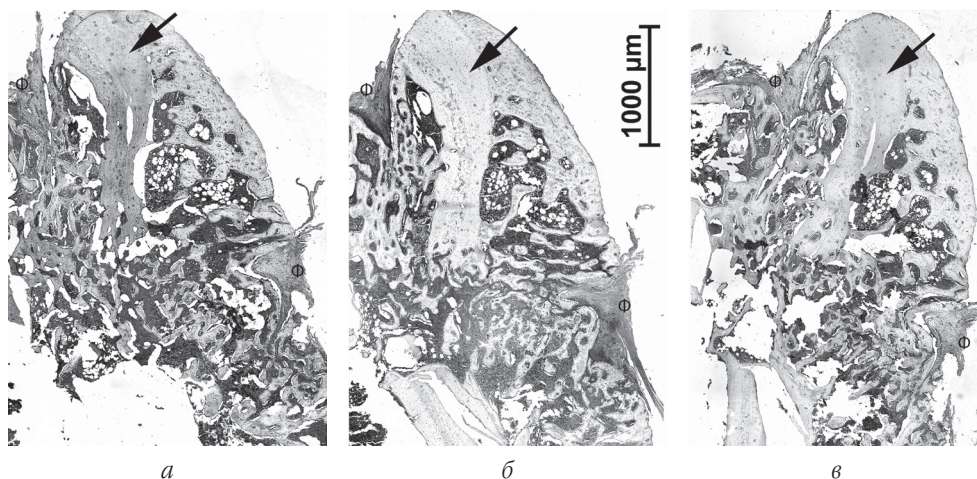
BMP-2 (bone morphogenetic protein-2): оценка экспрессии BMP-2 позволяет оценить остеоиндуктивные свойства того или иного имплантационного материала, поскольку данный протеин обеспечивает трансформацию мезенхимальных стволовых клеток в преостеообласты, их созревание до остеобластов [3].

В *опытной группе* на 20-е сутки данный маркер характеризовался экспрессией преимущественно в миелоидной ткани, а также в участках остеогенеза — остеоид, остеообласты, хондроид и хондробласты метафизарной пластинки (рис. 1в, 2б). На 60-е сутки отмечалось значительное снижение экспрессии в месте имплантации, преимущественно в активных остеообластах и в остеоиде. Неактивные остеообласты (клетки выстилающие кость) демонстрировали негативную окраску.

В *контрольной группе* определялась слабая экспрессия BMP-2 в остеообластах и остеоиде как в раннем, так и в позднем постимплантационном периоде.



**Рис. 1.** Продольний срез дистального фрагмента бедренної кістки (20-е сутки після операції). Виразена периостальна реакція (ПР), новообразована кістка має губчасту структуру: *а* — иммупероксидазний метод, експресія VEGFR: переважна иммулокалізація в клітках кісткового мозку, стінках судин; помірне окрашування остеобластів і остеоїда в зоні периостальної реакції і в метафізарній пластинці (МП); *б* — експресія остеопонтину: виразене окрашування остеоїда; *в* — иммулокалізація BMP-2 в кістковому мозгу, метафізарній пластинці і остеоїді



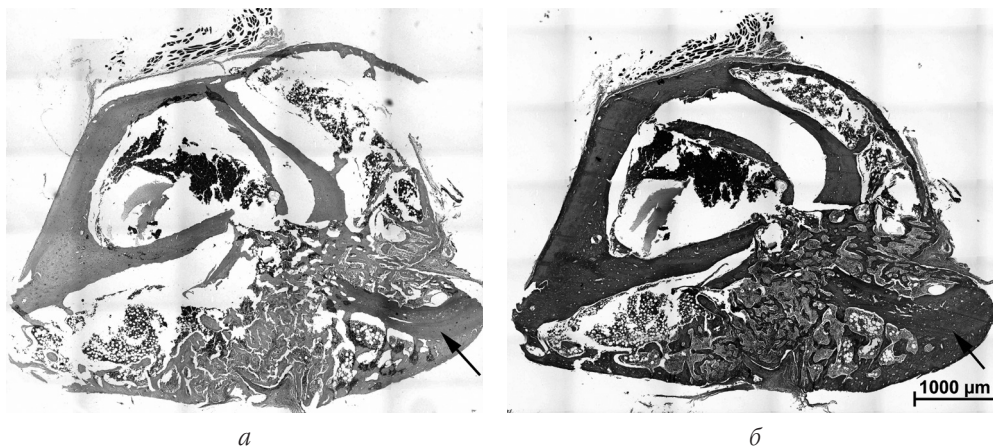
**Рис. 2.** Фрагмент переднього участка (місце введення імплантату). Участок формування компактної кістки (стрілка). Рештки рубцової сполучної тканини визначаються з зовнішньої сторони кістки (Ф). Иммупероксидазний метод: *а* — експресія VEGFR: виразене окрашування кліток кісткового мозку, стінок судин, остеоїда і фіброзової тканини; помірне окрашування зрілого кісткового матрикса; *б* — експресія BMP-2 в кістковому мозгу, фіброзової тканини і остеоїді; *в* — иммулокалізація остеопонтину: виразене окрашування остеоїда і фіброзової тканини

Різниця рівня експресії між *опытної* і *контрольної* групами, очевидно, свідчать про стимуляцію імплантованим кістковим субстратом кліток-предшественників остеогенезу, то єсть — о наявності у досліджуваного матеріалу остеоіндуктивних властивостей.

VEGFR (vascular-endothelial growth factor receptor): на 20-е сутки маркер характеризувався переважно клітковою експресією. Крім ендотеліоцитів, фактор росту експресувався в остеобластах і хондробластах, а також в незначительній кількості, в фіброзовій тканині і кістковому матриксі (рис. 1*а*, 2*а*). На 60

сутки як в *опытної*, так і в *контрольної* групі значительних різниць в експресії VEGFR виявлено не було.

Окрашка на цей маркер дозволяє оцінювати ступінь васкуляризації, а також аналізувати остеоіндуктивні, остеокондуктивні і остеоінтегративні властивості імплантатів [4]. Отримані результати показують, що альтерація експресії VEGFR не залежала від наявності імплантату і, відповідно, досліджувані матеріал скоріше всього не впливає на ангиогенез в зоні імплантації.



**Рис. 3.** Поперечний срез бедренної кістки на рівні місця введення імплантата (20-е сутки). Заживлення дефекта в виде периостального роста губчатой кістної ткани з участком формування компактної кістки (стрілка):  
*а* — окраска гематоксилин-еозинум; *б* — трихромна окраска по Массон-Голднер

### Гистологическое описание

В опытной группе на 20-е сутки в мягких тканях в зоне имплантации определялись очаги кровоизлияний, депозиты гемосидерина, незначительная (до 10 клеток в поле зрения) инфильтрация полиморфными лейкоцитами и фиброз. В местах повреждения кости отмечалось разрастание губчатой костной ткани. Повышенное костеобразование наблюдалось как периостально, так и в костномозговом канале с частичным вытеснением костного мозга в данном участке. Следует отметить значительную периостальную реакцию дистальнее места имплантации, вплоть до дистального эпифиза бедра. Сформированные костные балки располагались беспорядочно (см. рис. 1, 3). Межбалочные пространства были заполнены миелоидной тканью. С внутренней поверхности межбалочных пространств располагались в ряд остеобласты призматической формы (активные) и остеокласты. Под этими клетками определялся слой остеоида. Остеоид присутствовал не во всех костных балках. Фрагменты биоимплантата практически не отличались от окружающей костной ткани — васкуляризация, костный матрикс и клеточное строение соответствовало строению компактной кости. Выраженных очагов некроза или воспалительной реакции выявлено не было.

В контрольной группе нами были выявлены некоторые отличия. Так, в месте дефекта часто формировался значительно больший объем грубоволокнистой соединительной ткани и как следствие этого снижался объем новообразованной кости.

На 60-е сутки отмечались минимальные изменения в зоне имплантации, характеризовавшиеся небольшим утолщением компактной костной ткани как со стороны периоста, так и эндоста. В то же время, в прилегающих мягких тканях наблюдались выраженные процессы фиброза и сохранялись депозиты гемосидерина.

### Выводы

1. Ни у одного из оперированных животных реакции отторжения или какой-либо иной местной патологиче-

ской реакции воспаления обнаружено не было, что говорит о хорошей биосовместимости исследуемого материала.

2. Композитный материал “Остеоматрикс” по данным нашего исследования не оказывает токсического действия на организм животного и положительно влияет на репаративные процессы в костной ткани.

3. По данным иммуногистохимического исследования в динамике от 20 до 60 суток выявлена выраженная тенденция разрастания губчатой костной ткани в зоне имплантации “Остеоматрикса”. Кроме того, имела место хорошая консолидация имплантата с реципиентным ложем с последующей его перестройкой и формированием в месте дефекта новообразованной костной ткани.

4. Иммуногистохимический метод исследования позволяет достоверно идентифицировать остеоиндуктивные протеины, а также давать количественную оценку их уровня экспрессии. Данный метод позволяет более объективно оценивать скорость ремоделирования костной ткани и ее реакцию на имплантат. По нашим данным после имплантации материала “Остеоматрикс” он повышает в клетках соединительной ткани синтез BMP-2 и остеопонтинина, непосредственно участвующих в формировании костной ткани.

### Литература

1. Albrektsson T. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration / T. Albrektsson, C. Jonansson // Eur. Spine J. — 2001. — Vol. 10. — P. S96–S101.
2. An Y.H. Handbook of histology methods for bone and cartilage / Y.H. An, K.L. Martin. — NY: Humana Press, 2003. — 587 p.
3. Bluteau G. VEGF and VEGF receptors are differentially expressed in chondrocytes / Bluteau G., Julien M., Magne D. // Bone. — 2007. — Vol. 40, № 3. — P. 568–576.
4. Chen D. // Bone morphogenetic proteins / Chen D., Zhao M., Mundy G.R. // Growth Factors. — 2004. — Vol. 22, № 4. — P. 233–241.
5. Comparison of the resorbable magnesium alloys LAE442 und MgCa0.8 concerning their mechanical properties, their progress of degradation and the bone-implant-contact after 12 months

- implantation duration in a rabbit model / *Thomann M., Krause C., Bormann D. [et al.]* // *Mat.-wiss. und Werkstofftech.* — 2009. — Vol. 40. — P. 82–87.
6. Immunohistochemical, tomographic and histological study on on-lay bone graft remodelling. Part II : calvarial bone / *Pedrosa Jr. W. F.,*

*Okamoto R., Faria P. E. P. [et al.]* // *Clin. Oral. Impl. Res.* — Vol. 20, 2009. — P. 1254–1264.

7. Osteopontin — a possible anchor of osteoclasts to bone / *Reinbolt F. P., Hultenby K., Oldberg A., Heinegård D.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* — 1990. — Vol. 87, № 12. — P. 4473–4475.

УДК 616-008.9:611.018.2591.474-00.17.001.6

## ВЛИЯНИЕ ВВЕДЕНИЯ РОСТОВЫХ ФАКТОРОВ НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПОВРЕЖДЕННЫХ СУХОЖИЛИЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

*С. Магомедов, А. А. Коструб, Е. Н. Кравченко, Р. И. Блонский*  
ГУ “Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины”, г. Киев

### **THE INFLUENCE OF GROWTH FACTORS INJECTION ON METABOLIC PROCESSES IN THE CONNECTIVE TISSUE OF DAMAGED TENDONS OF EXPERIMENTAL ANIMALS**

*S. Magomedov, A. A. Kostrub, E. N. Kravchenko, R. I. Blonskyi*

*On the background of the injection of autologous plasma enriched with growth factors, in the serum of experimental animals with a model of degenerative-and-dystrophic tendon damages the collagenase activity, hydroxyproline fractions and the content of glycosaminoglycans were investigated.*

*The results showed that the injection of growth factors contributes to the normalization of metabolic processes in tendons.*

*Key words: collagenase, hydroxyproline, glycosaminoglycans, tendon damages, growth factors.*

### **ВПЛИВ ВВЕДЕННЯ РОСТОВИХ ФАКТОРІВ НА МЕТАБОЛІЧНІ ПРОЦЕСИ У СПОЛУЧНІЙ ТКАНИНІ УРАЖЕНИХ СУХОЖИЛЬ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН**

*С. Магомедов, О. О. Коструб, О. М. Кравченко, Р. І. Блонський*

*На фоні введення аутологічної плазми, збагаченої ростовими факторами, у сироватці крові експериментальних тварин з моделлю дегенеративно-дистрофічного ураження сухожиль проведено дослідження активності колагенази, визначено фракції гідроксипроліну та глікозаміногліканів.*

*Результати дослідження показали, що введення ростових факторів сприяє нормалізації метаболічних процесів у сухожиллях.*

*Ключові слова: колагеназа, гідроксипролін, глікозаміноглікани, ураження сухожиль, ростові фактори.*

## Введение

Клеточная терапия в последние годы приобретает широкую популярность, в частности, при лечении пациентов ортопедического профиля. Например, стволовые клетки используют при восстановлении переломов и дефектов костей и суставов [4], для лечения несовершенного остеогенеза [10], остеоартрита и других поражений суставов [11] и т.д. Что касается лечения больных с дегенеративным поражением сухожилий, то, к сожалению, консервативные методы не могут обеспечить

полного и стойкого излечения осложнений, сопровождающих поражение сухожилий, ведь биологические и биомеханические функции соединительной ткани полностью не восстанавливаются. Новые стратегии лечения больных сконцентрированы на трансплантировании или мобилизации *in situ* мезенхимальных предшественников или стволовых клеток, которые активизируют репаративные процессы [3, 5, 12, 14], использовании ростовых факторов [4]. В частности было показано, что клеточная терапия имела противовоспалительный эффект, наблюдались значительные