

for rapid diagnosis for the injured on the spot who should be the first to be provided medical care.

Key words: pre-hospital care to victims of road accidents.

Відомості про авторів:

Герцен Генріх Іванович - д.мед. н., професор, завідувач кафедри ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8.

Процик Анатолій Іванович - канд. мед. наук, доцент кафедри ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8.

Мовчан Олександр Степанович - д.мед.н., професор кафедри ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8.

Білоножкін Геннадій Геннадійович - канд. мед. наук, доцент кафедри ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8.

Штонда Дмитро Володимирович - аспірант кафедри ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8.

УДК 616.71-001:615.837:636.92:612.017.4:612.11

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2015

*Г.І.Герцен, Се-Фей, М.В.Сікорська, Р.М.Остапчук,
А.В.Лісовий*

ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ АНТИТІЛОЗАЛЕЖНОЇ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ЛІМФОЦИТІВ, ЦИТОТОКСИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЛІМФОЦИТІВ І МАКРОФАГІВ СИРОВАТКИ КРОВІ КРОЛІВ З ТРАВМОЮ КІСТКИ ПІД ВПЛИВОМ УДАРНО-ХВИЛЬОВОЇ ТЕРАПІЇ

**Національна медична академія післядипломної освіти
імені П.Л.Шупика**

Актуальність. Механізм активізації репаративного остеогенезу екстракорпоральною радіальною ударно-хвильовою терапією (ЕРУХТ) до теперішнього часу не вивчений, окремі роботи показують інтенсифікацію імункомпетентних клітин.

Мета. Вивчення впливу ЕРУХТ на активність імунних клітин при експериментальній травмі кісток. У 24 кроликів в асептичних умовах створювали дефект метадіафізу великоомілкової кістки шляхом її перфорації. Тварини дослідної групи отримували на зону травми кістки 4 сеанси ЕРУХТ, тварини контрольної групи ЕРУХТ не отримували. В обох групах тварин до травми і через 2, 15, 30 і 45 днів після травми в сироватці крові вивчали цитотоксичну активність лімфоцитів, антитілозалежну цитотоксичність лімфоцитів, цитотоксичну активність макрофагів.

Результати. Показано, що на фоні травми кістки спостерігається частковий параліч функціональної активності імунних маркерів, при цьому ЕРУХТ не тільки відновлює нормальну активність імунних клітин, але й приводить до їх зростання до кінця дослідження.

Ключові слова: екстракорпоральна ударно-хвильова терапія, регенерація кісткової тканини, імунні клітини.

Вступ. Останнім часом в літературі опубліковані ряд наукових робіт, які показали ефективність екстракорпоральної радіальної ударно-хвильової терапії (ЕРУХТ) в активізації репаративної регенерації кісткової тканини як в

експерименті на тваринах, так і в клініці [1, 3, 9]. При цьому підкреслювалось, що механізм впливу ЕРУХТ на репаративний остеогенез до теперішнього часу не в'ясянений [4, 7]. Разом з тим, існують окремі публікації, які свідчать про активацію під впливом ЕРУХТ імунної системи, а саме функціональної активності імунокомпетентних клітин – лімфоцитів, лейкоцитів, підвищення утворення імуноглобулінів [4, 5]. Також ряд робіт в експерименті на тваринах, які включали імуно-гістохімічні дослідження регенерату кісткової тканини, показали під впливом ЕРУХТ інтенсифікацію ангіогенних і остеогенних маркерів, що забезпечують проліферацію мезенхімо-подібної тканини, диференціювання її в кісткову тканину [5, 10].

З урахуванням викладеного, являло інтерес в'яяснити в експерименті вплив ЕРУХТ на активність імунних клітин при регенерації кісткової тканини. З урахуванням викладеного, метою дослідження було вивчення впливу ЕРУХТ на активність імунних клітин при експериментальній травмі кісток.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження на тваринах виконані у віварії НМАПО імені П.Л.Шупика. Досліди проведено на кролях породи Шиншила масою 2,7-2,9 кг. Кроликів утримували в умовах клініки для експериментальних тварин на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до їжі та води. Дослідження проведені у 2014 році. У кроликів дефект кісткової тканини виконували шляхом наскрізної перфорації проксимального метадіафізу великогомілкової кістки у фронтальній площині хірургічним кортикальним свердлом діаметром 3 мм.

Оперативне втручання на кролях виконували в стерильних умовах (операційна віварія) під комбінованою анестезією: внутрішньом'язево вводили 3% розчин кетаміну (0,3мл/кг), місцево – 0,5% розчин новокаїну (0,4 мл/кг). Після формування дефекту проксимального метадіафізу великогомілкової кістки рану зашивали, іммобілізацію оперованої кінцівки не проводили. Кролі були поділені на 2 групи: контрольна (12 кролів) та дослідна (12 кролів). Кролям дослідної групи на 3, 6, 9 і 12 добу після операції проводили сеанси ЕРУХТ. При цьому використовувався апарат фірми Storz Medical Masterplus MP 200, кількість ударів на зону дирчатого дефекту кістки становила 1000, при частоті ударів 1-21 Герц, робочому тиску 1-5 Бар., використовувались головки R15, діаметром 15 мм з максимальної енергією 0,38 мДж/мм кв. У кролів контрольної групи ЕРУХТ не проводилась. Експеримент на тваринах проводили за всіма правилами Європейської конвенції захисту хребтових тварин, котрі використовуються в експериментальних та інших цілях [6].

Імунологічні дослідження виконували в лабораторії імуномодуляторів ІЕПОР імені Р.Е.Кавецького НАН України, вони консультовані проф. Потебнеї Г.П. В експерименті імунологічні маркери досліджували у 24 кролів контрольної та дослідної груп – по 12 кролів у яких на 2, 15, 30, 45 добу після операції виконували забір крові. Дослідження функціональної активності імунних клітин у сироватці крові (СК) проводили в МТТ-тесті методом М. Ohno, Т.Р. Stankojkovicetal. у власній модифікації [2, 8].

Статистичну обробку результатів здійснювали за загально прийнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність різниці між контрольними та дослідними вимірами оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Вірогідно вважали різницю між порівнюваними показниками при $p < 0,05$. Розрахунки та побудову графіків виконували з використанням прикладної програми Origin Lab.

Результати та їх обговорення. При дослідженні цитотоксичної активності лімфоцитів було встановлено, що травмування кістки призводить на другу добу до різкого падіння цитотоксичної активності лімфоцитів у СК кроликів, як контрольної групи – до $3,64 \pm 0,77\%$, проти $43,81 \pm 1,22\%$, так і дослідної групи – до $2,82 \pm 0,08\%$ проти $41,65 \pm 1,31\%$ на початку експерименту, при $p < 0,001$ в обох групах тварин (рис. 1).

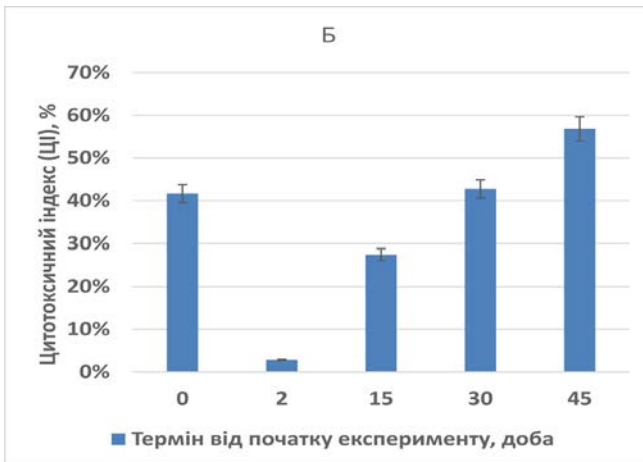
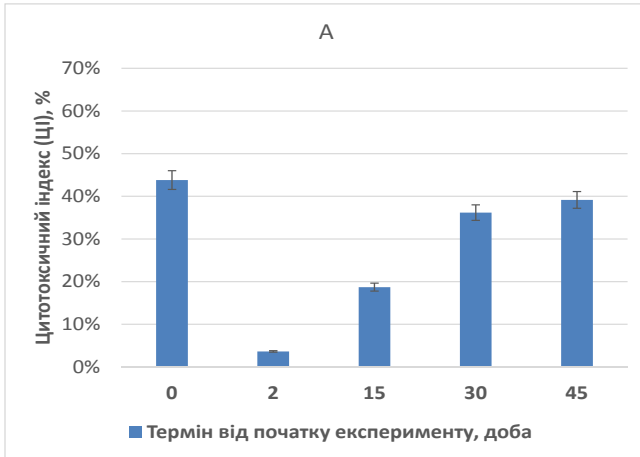


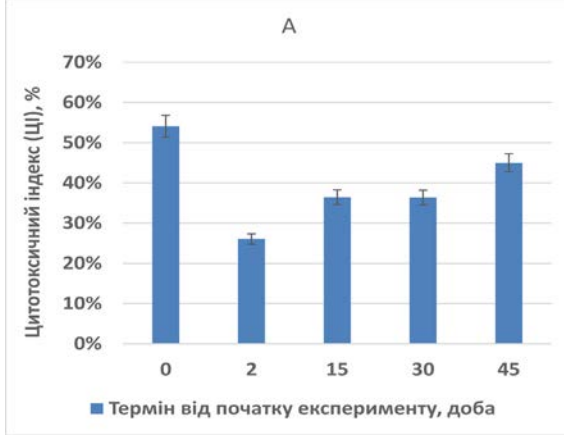
Рис. 1. Цитотоксична активність лімфоцитів у кролів контрольної (А), та дослідної (Б) груп

Скоріш за все, різке зниження функціональної активності лімфоцитів відбувалось через больовий синдром. При цьому не визначено достовірних відмінностей показників між контрольною і дослідною групами кроликів у

ОРТОПЕДІЯ І ТРАВМАТОЛОГІЯ

показниках цитотоксичної активності лімфоцитів як на початку експерименту, так і на другу його добу ($p > 0,05$). На 15- та 30-ту добу активність лімфоцитів у кроликів обох груп відновлювалась і становила у кроликів контрольної групи $18,71 \pm 8,43\%$ та $36,18 \pm 1,5\%$ відповідно, у кроликів дослідної групи $27,43 \pm 6,15\%$ та $42,74 \pm 8,27\%$, при $p < 0,01$ у порівнянні з попередніми термінами і двома групами кроликів. На 45 добу цитотоксична активність лімфоцитів у кроликів контрольної групи хоча й підвищувалась, проте ще була нижче вихідних показників – $39,15 \pm 11,56$ ($p < 0,05$), в той же час у кролів дослідної групи вона була навіть вища за початковий рівень – $56,80 \pm 3,03\%$ ($p < 0,02$).

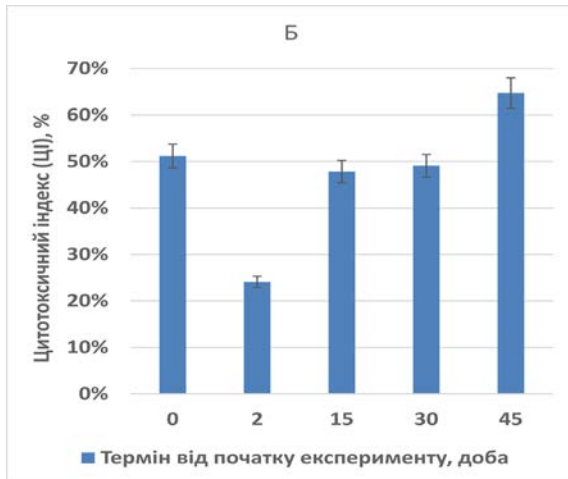
При дослідженні антитіло залежної цитотоксичності лімфоцитів динаміка процесу співпадала з такою при дослідженні цитотоксичної активності лімфоцитів. Аутологічна СК значно знижувала цитотоксичну активність на другу добу після травмування кістки тварин. Показники цитотоксичності на



даний термін становили у контрольних тварин $26,07 \pm 3,17\%$, проти $54,09 \pm 1,89\%$ - на початку досліді; у дослідних тварин – $24,09 \pm 4,61\%$ проти $51,19 \pm 4,56$, при p в обох групах тварин $< 0,001$ (рис. 2).

А

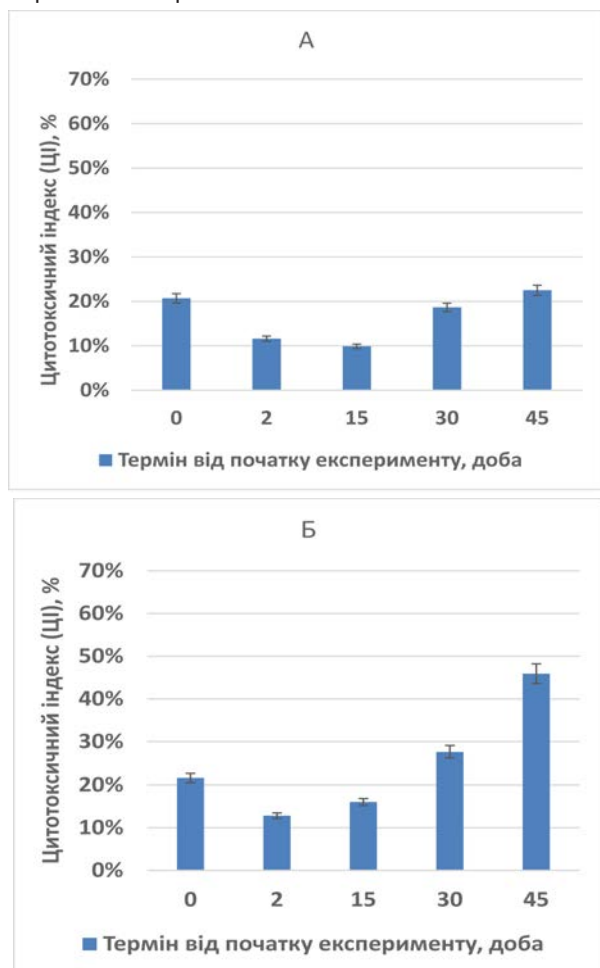
Рис. 2. Антитілозалежна цитотоксична активність лімфоцитів у кролів контрольної (А), та дослідної (Б) груп



Б

На 15- та 30-ту добу після травми та проведеного лікування ЕРУХТ (дослідна група) цитотоксичність лімфоцитів становила у контрольній групі тварин відповідно $36,45 \pm 0,92\%$ та $36,39 \pm 0,14\%$, у дослідних тварин – $47,85 \pm 2,53\%$ та $49,07 \pm 3,15\%$ при $p < 0,05$ між двома групами тварин. На 45-ту добу антитілозалежна цитотоксичність лімфоцитів піднялася до $45,0 \pm 0,67\%$ у контрольних тварин і до $64,75 \pm 3,67\%$ – у дослідних ($p < 0,02$).

При дослідженні цитотоксичної активності макрофагів відмічено зниження їх активності на 2-гу та 15-ту добу після травмування у обох групах тварин. Показники цитотоксичності на дані терміни становили $11,61 \pm 1,09\%$ і $9,88 \pm 5,38\%$ відповідно у кроликів контрольної групи та $12,8 \pm 2,16\%$ і $16,01 \pm 4,32\%$ – у кроликів дослідної групи (рис. 3), $p < 0001$ в обох групах в порівнянні з нормативом.



А

Рис. 3. Цитотоксична активність макрофагів у кроликів контрольної (А), та дослідної (Б) груп

Б

На 30-ту добу рівень функціональної активності макрофагів майже відновлювався до початкового рівня ($20,69 \pm 1,68\%$) у контрольних тварин, і становив $18,65 \pm 0\%$. В той же час рівень функціональної активності макрофагів у кроликів дослідної групи до цього терміну суттєво перевищував норматив ($21,64 \pm 5,07\%$) і досягав показників $27,71 \pm 5,09$ ($p < 0,05$). На 45-ту добу рівень цитотоксичності макрофагів у кроликів контрольної групи не відрізнявся достовірно від нормативу – ($20,69 \pm 1,68$ і $22,5 \pm 2,63$, $p > 0,05$). На 45-ту добу відмічаємо навіть стимуляцію макрофагів у тварин до групи. Їх цитотоксичність на даний період дослідження становила $45,93 \pm 1,17\%$, $p < 0,001$ в порівнянні з нормативом.

З отриманих даних можна зробити наступні висновки: в експерименті травма кістки призводить до значного зниження функціональної активності лімфоцитів на ранніх термінах досліду (друга доба після травми), та прояву супресорного впливу аутологічної СК на функціональну активність макрофагів на 15 добу після травми. На фоні травми кістки відмічається частковий параліч функціональної активності імунних клітин при цьому чотирьохразовий курс ЕРУХТ не тільки відновлює нормальну активність імунних клітин, але в кінцевому рахунку призводить до їх збільшення.

Перспективою подальшого розвитку наукового дослідження є можливість обґрунтування механізму дії ЕРУХТ на репаративну регенерацію кісткової тканини, а саме нормалізація функціонального стану імунних клітин.

Література

1. Борзых А.В., Соловьев И.А., Труфанов И.М., Попов С.В. Особенности лечения переломов и ложных суставов ладьевидной кости у спортсменов // Спортивная медицина. – 2013. - №1. -С.29-33.
2. Дворщенко О.С., Діденко Г.В., Чередарчук О.І. та ін. Моделювання ксеногенних клітинних систем на твердих фазах з використанням пухлин-асоційованих та ембріональних антигенів та їх застосування в протипухлинній терапії. Доповіді НАН України. – 2007. - №12. – с.155-161.
3. Егорова Е.А., Васильев А.Ю. Экстракорпоральная ударно-волновая терапия в лечении переломов костей конечностей // Спортивная медицина. – 2013. - №1. -С.12-17.
4. Ching-Jen Wang, Feng-Shing Wang, Kuender D. Yang. Biological effects of extracorporeal shock wave in bonehealing; a study in rabbits// Arch. Orthop. TraumaSurg. – 2012. - № 31. -P. 756-764.
5. Dahmen G.P. Skrodies: Extracorporeale stoss wellen therapia (ESWT) in knochenahen weichteil bevei chander Schulter // Extracta Orthoped. – 1992. – №11. – P. 25-27.
6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe (Strasbourg, 18.03.1986). – Strasbourg, 1986. – 52 p.
7. Moretti B., Notarnicola A., Moretti L., Patella S. Bone healing induced by ESWT// Clinical cases in mineral and bone metabolism. – 2009. - № 6(2). -P.155-158.
8. Stanojkovic T.P., Zizak Z., Srdic T. et al. Thean titumor immuneresponsein HER-2 positive, metastatic breast cancer patients // J.Transl. Med. – 2005. - №3. – P.13-16.
9. Vulpiani M.C., Vetrano M., Conforti F., Minutolo L. Effects of extracorporeal Shock Wave Therapy on Frature Nonunions// The American Journal of Orthpedics.-2012. -№ 41(9). -P.122-127.

10. Wang F.S., Yang K.D. Biological effects of extracorporeal shock wave in bone healing: a study in rabbits // Arch. Orthop. Traumasurg. – 2008. - № 128(8). -P.879-884.

Г.И.Герцен, Се-Фей, М.В.Сикорская, Р.Н.Остапчук, А.В.Лесовой

Определение уровня антителозависимой цитотоксичности лимфоцитов, цитотоксической активности лимфоцитов и макрофагов сыворотки крови кроликов с травмой кости под влиянием ударно-волновой терапии

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика

Актуальность. Механизм активизации репаративного остеогенеза экстракорпоральной радиальной ударно-волновой терапией (ЭРУВТ) до настоящего времени не выяснен, отдельные работы показывают интенсификацию иммунокомпетентных клеток.

Цель. Изучение влияния ЭРУВТ на активность иммунных клеток при экспериментальной травме костей. У 24 кроликов в асептических условиях создавали дефект метадиафиза большеберцовой кости путем ее перфорации. Животные опытной группы получали на зону травмы кости 4 сеанса ЭРУВТ, животные контрольной группы ЭРУВТ не получали. В обеих группах животных до травмы и через 2, 15, 30 и 45 дней после травмы в сыворотке крови изучали антителозависимую цитотоксичность лимфоцитов, цитотоксическую активность лимфоцитов и макрофагов.

Результаты. Показано, что на фоне травмы кости наблюдается частичный паралич функциональной активности иммунных маркеров, при этом ЭРУВТ не только восстанавливает нормальную активность иммунных клеток, но и приводит к их росту к концу исследования.

Ключевые слова: экстракорпоральная ударно-волновая терапия, регенерация костной ткани, иммунные клетки.

G.I. Hertsen, SeFei, M.B. Sikorskaia, R.N. Ostapchuk, A.V. Lesovoi

Determination of antibodies-dependent cytotoxicity of lymphocytes, cytotoxicity level of lymphocytes, macrophages in serum of rabbits with bone trauma under the influence of shockwave therapy

Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education

Introduction. The mechanism of activation of reparative osteogenesis of the extracorporeal shock wave therapy has not been clear until today. Some studies show intensification of immune competent cells.

Aim. To study extracorporeal shock wave therapy effect on activity of the immune cells in case of experimental bones trauma.

Materials and methods. 24 rabbits were inflicted with shinbone metadiaphysis defect by its perforation in aseptic conditions. The animals of the treatment group received 4 courses of extracorporeal shock wave therapy within the area of bone trauma, while control group animals were not treated with extracorporeal shock wave therapy. Both groups of animals were subjected to blood analysis with studying cytotoxic activity of lymphocytes, macrophages and antibodies-dependent cytotoxicity of lymphocytes prior to trauma and 2, 15, 30 and 45 days after its infliction.

Results. The findings of the study showed that the experimental bone trauma leads to partial paralysis of the immune markers functional activity; extracorporeal shock wave therapy leads to the increase in the number of immune cells and even restores their normal activity to the end of the study.

Key words: extracorporeal shock wave therapy, reparative osteogenesis, immune cells.

Відомості про авторів:

Герцен Генріх Іванович - д.мед.н., професор, зав. кафедрою ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8, тел.: (044) 432-25-79.

Се-Фей-аспірант кафедрикафедрою ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8.

Остапчук Роман Миколайович - к.мед.н., асистент кафедрикафедрою ортопедії і травматології №1 НМАПО імені П.Л.Шупика. Адреса: м. Київ, вул. Кондратюка, 8.

Сікорська М.В. - лікар МКЛ №6 м.Києва.

Лісовий О.В. - лікар МКЛ №6 м.Києва.

УДК 616.718.4-001.5:616.728.2-089.843:612.6

© А.В. ДЕГТЯРЬ, 2015

А.В. Дегтярь

ДИНАМИКА ВОССТАНОВЛЕНИЯ ФУНКЦИИ ПОСЛЕ ТОТАЛЬНОГО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗО- БЕДРЕННОГО СУСТАВА У ПАЦИЕНТОВ С МЕДИАЛЬ- НЫМИ ПЕРЕЛОМАМИ ШЕЙКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Введение. Проблема лечения пациентов с медиальными переломами шейки бедренной кости (МПШБК) продолжает оставаться сложной и до конца не решенной. Актуальность этой проблемы обусловлена тем, что удельный вес МПШБК в структуре травм опорно-двигательного аппарата ежегодно возрастает. **Цель.** Изучение динамики восстановления функции опоры и ходьбы у больных с МПШБК, после тотального эндопротезирования тазобедренного сустава.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов лечения 373 пациентов, которым по поводу медиального перелома шейки бедренной кости выполнено тотальное бесцементное эндопротезирование тазобедренного сустава. Отдаленные результаты наблюдались в сроки от 2 до 10 лет. Динамическую функцию конечности изучали при помощи компьютерного исследования ходьбы, статическую – при помощи статометрического исследования. Оценку функции оперированного сустава проводили по шкале W.H. Harris.

Результаты. Отдаленные результаты наблюдались в сроки от 2 до 10 лет. Отличные и хорошие отдаленные и ближайшие результаты лечения получены у 92,9% прооперированных больных. Отмечено, что восстановление больных после первичного тотального бесцементного эндопротезирования тазобедренного сустава по поводу медиального перелома шейки бедренной кости происходит в среднем на 2 недели раньше, чем восстановление пациентов после эндопротезирования с осложнениями металлоостеосинтеза медиальных переломов шейки бедренной кости.

Ключевые слова: тазобедренный сустав, медиальный перелом, тотальное эндопротезирование.