

DOI: 10.26693/jmbs05.04.079

УДК 616.718-003.93:616.379-008.64]-097.1

Дудченко Є. С.

## ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ РЕГЕНЕРАТУ ДОВГИХ ТРУБЧАСТИХ КІСТОК СКЕЛЕТА ЗА УМОВ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ

Сумський державний університет, Україна

yevheniidudchenko@ukr.net

Проблема регенерації кістки після пошкодження має особливе значення у зв'язку з соціально-економічною актуальністю, яка пов'язана з необхідністю тривалого та високовартісного лікування та медичної реабілітації. Останніми роками аутологічні концентрати тромбоцитів широко використовують для регенерації тканин у клінічній практиці. Однак відомостей про ефективність та можливість застосування збагаченої тромбоцитами плазми при переломах довгих трубчастих кісток в осіб, які страждають на хронічну гіперглікемію або цукровий діабет II типу, у світовій науковій літературі недостатньо.

Тому *метою дослідження* було вивчити мікроскопічні та ультраструктурні особливості репаративного остеогенезу за умов хронічної гіперглікемії організму та корекції впливу хронічної гіперглікемії на процеси репаративного остеогенезу збагаченою тромбоцитами плазми крові.

Дослідження проведено на 80 білих лабораторних щурах-самцях зрілого віку (група тварин із хронічною гіперглікемією організму – 40 щурів, група тварин із хронічною гіперглікемією організму та застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми – 40 щурів). Хронічну гіперглікемію моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину (40 мг/кг) та ніотинової кислоти (1 мг/кг). За допомогою портативної зуботехнічної бормашини бором у середній третині діафіза великогомілкової кістки формували отвір. Збагачену тромбоцитами плазми готували із крові взятої із латеральної хвостової вени та отриманий розчин вводили тваринам у рани.

Дослідження проводили на 3-тю, 7-му, 14-ту та 21-шу добу після завдання травми. Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопа Olympus BH-2 (Японія), скануючу електронну мікроскопію з використанням мікроскопа «PEM 102». У результаті даного дослідження було виявлено, що застосування збагаченої тромбоцитами плазми коректує негативний вплив хронічної гіперглікемії

на процеси репаративного остеогенезу. Швидше настає очищення місця дефекту від запального інфільтрату, формування остеогенних балок. Репаративний остеогенез проходить по типу остеобластичного диферону.

**Ключові слова:** репаративний остеогенез, хронічна гіперглікемія, збагачена тромбоцитами плазма.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Представлена робота є складовою частиною науково-дослідної теми з держбюджетним фінансування «Молекулярно-генетичні та морфологічні особливості регенерації тканин нижньої кінцівки за умов хронічної гіперглікемії», № державної реєстрації 0117U003926.

**Вступ.** Проблема регенерації кістки після пошкодження має особливе значення у зв'язку з соціально-економічною актуальністю, яка пов'язана з необхідністю тривалого та високовартісного лікування та медичної реабілітації [1]. Цілісний аналіз остеогістогенеза після переломів та інших пошкоджень, пошук та обґрунтоване застосування засобів, які впливають на регенерацію кісткової тканини, можливі на підставі поглиблених знань загальних закономірностей остеогістогенеза, а також реактивних змін кісткової тканини у процесі регенерації [2, 3, 4, 5]. Крім того, актуальність даного питання зростає з ростом супутньої патології такої, як цукровий діабет, ожиріння та інші ендокринні порушення, хвороби нирок, захворювання серцево-судинної системи [6, 7].

Останніми роками аутологічні концентрати тромбоцитів широко використовують для регенерації тканин у клінічній практиці [8]. Вже доведено високу ефективність біологічних препаратів на основі збагаченої тромбоцитами плазми (ЗТП) у лікуванні спортивних травм, при операціях на суглобах та кістках, в стоматології [9, 10]. Однак відомостей про ефективність та можливість застосування ЗТП при переломах довгих трубчастих кісток в осіб, які

страждають на хронічну гіперглікемію або цукровий діабет II типу, у світовій науковій літературі недовідомо.

Отже, незадовільні наслідки порушень регенерації кісток в осіб, які страждають на ЦД, їх велика поширеність та кількість ускладнень, труднощі під час лікування вимагають подальшого дослідження та більш глибокого розуміння процесів репаративного остеогенезу за умов хронічної гіперглікемії організму та нових ефективних, економічно більш доступних підходів до їх лікування.

**Мета дослідження** – вивчити мікроскопічні та ультраструктурні особливості репаративного остеогенезу в щурів із хронічною гіперглікемією організму та корекції впливу хронічної гіперглікемії на процеси репаративного остеогенезу збагаченою тромбоцитами плазмою крові.

**Матеріал та методи дослідження.** Експериментальне дослідження проведено на 80 білих лабораторних щурах-самцях зрілого віку – 7–9 місяців. Тварини були поділені на такі групи: I група – тварини із хронічною гіперглікемією організму (40 щурів); II група – тварини яким була змодельована хронічна гіперглікемія та введено у ділянку перелому збагачену тромбоцитами плазму крові (40 щурів).

Піддослідних тварин доглядали відповідно до загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт із використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений Наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р.; «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин»; «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); Гельсінська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000 р.); Положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.).

У тварин моделювали хронічну гіперглікемію (ХГ) таким чином: упродовж 2 тижнів замість питної води щури вживали 10 % водний розчин фруктози. Після цього кожному щуру одноразово було виконане внутрішньоочеревинне введення стрептозоцину (Streptozocin «Sigma-Aldrich») (40 мг/кг) та нікотинової кислоти (1 мг/кг). Після введення стрептозоцину тварини перебували у звичайних умовах віварію на звичайному харчовому та питному раціоні впродовж 60 діб. Після, щурам був змодельований у великогомілкових кістках дефект. Оперативне втручання проводили в асептичних умовах під загальним наркозом. За 30 хвилин до

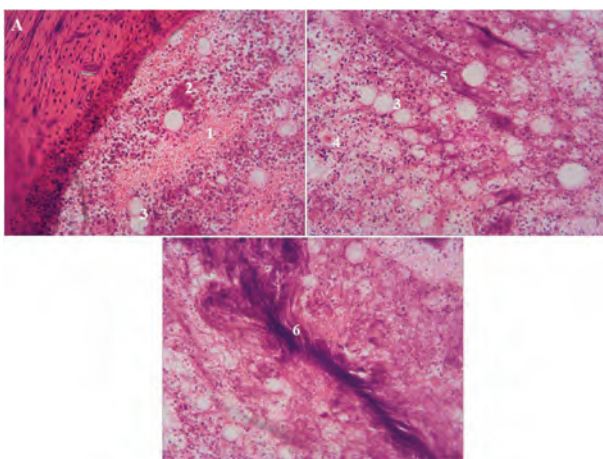
початку операції тваринам внутрішньом'язово вводили профілактичну дозу ампіциліну (7,5 мг/кг), ксилазин (3 мг/кг) та кетамін (8 мг/кг). Передопераційну підготовку операційного поля проводили шляхом виголювання шерстяного покриву в ділянці передньої поверхні гомілки та тричі обробляли 3% спиртовим розчином йоду. Робили розріз завдовжки 0,8-1,5 см по лінії *margo anterior tibiae*. За допомогою портативної зуботехнічної бормащини стерильним бором (d 1,6 мм) при малих обертах з охолодженням у середній третині діафіза великогомілкової кістки формували отвір до кістково-мозкового каналу. Операційну рану закривали шкірним швом, який обробляли 3% спиртовим розчином йоду. Впродовж наступних 3 діб після операції для профілактики гнійних ускладнень післяопераційний шов обробляли 3% спиртовим розчином йоду, а для знеболювання внутрішньом'язово вводили кеторолак дозою 0,2 мг двічі на добу. Тваринам II групи з метою можливої корекції негативного впливу ХГ організму на процеси репаративного остеогенезу перед накладанням шкірного шва у рану було введено збагачену тромбоцитами плазму (ЗТП) крові (доза – 0,25 мл). Із цією метою попередньо у тварин із латеральної хвостової вени проводили забір 1 мл крові у вакуїтнери, що містили розчин натрію цитрату. Втрачений об'єм крові негайно відновлювали інфузією стерильного фізіологічного розчину. Відібрану кров центрифугували впродовж 20 хв зі швидкістю 2 000 об/хв. У результаті в пробірці спостерігалися дві фракції компонентів крові: нижня фракція темно-червоного кольору (клітинні компоненти) та верхня фракція солом'яно-жовтого кольору (компоненти сироватки). Після цього піпетували весь вміст верхньої фракції та верхньої частини нижньої фракції і переносили їх в іншу пробірку. Отриманий матеріал центрифугували впродовж 15 хв зі швидкістю 2 000 об/хв, що призводило до утворення двох фракцій: нижньої – збагаченої тромбоцитами плазми, верхньої – збідненої на тромбоцити плазми. Вміст нижньої фракції переносили в стерильну пробірку та додавали 10 % розчин кальцію хлориду. Отриманий розчин вводили тваринам у рани. Тварин з експерименту виводили шляхом передозування тіопенталового наркозу (4 мг/100 г маси тіла) на 3-тю, 7-му, 14-ту та 21-у добу після завдання травми.

Для вивчення мікроскопічної будови відпрепаровані шматочки кістки із дефектом фіксували у 10% розчині формаліну з подальшою демінералізацією в 5% водному розчині Трилону Б. Дегідратацію проводили в спиртах зростаючої концентрації та здійснювали заливання в парафін. Готували з отриманих препаратів зрізи товщиною 4-6 мкм. Фарбування проводили гематоксилін-еозинном, а світлову мікроскопію – з використанням мікроскопа Olympus BH-2 (Японія).

Для виготовлення напівтонких зрізів, шматочки з дефектом фіксували у 2,5 % розчині глутарового альдегіду на 0,2 М какодилатному буфері з рН = 7,2 за температури +4 °С і постфіксували в 1 % розчині OsO<sub>4</sub> впродовж 4 годин за температури +4 °С, дегідратували за допомогою серії етилового спирту висхідної концентрації. Після витримки у пропіленоксиді зразки заключали у суміш епоксидних смол. Робили напівтонкі зрізи (1 мкм), фарбували їх 1 % розчином метиленового синього та досліджували у світловому мікроскопі.

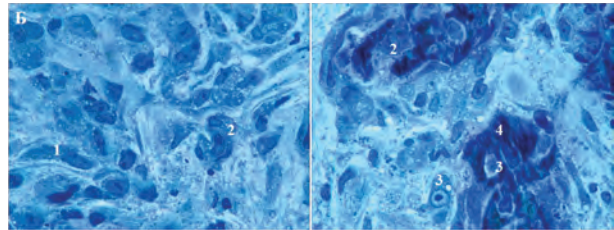
Для ультрамікроскопічного вивчення з використанням растрової електронної мікроскопії травмовані праві великогомілкові кістки щурів видаляли та фіксували у 2,5 % розчині глутарового альдегіду на 0,2 М какодилатному буфері з рН = 7,2 за температури +4 °С і постфіксували в 1 % розчині OsO<sub>4</sub> впродовж 4 годин за температури +4 °С, дегідратували за допомогою серії етилового спирту висхідної концентрації. Фіксували на графітових столиках та висушували на повітрі. Перед дослідженням зразки напилювали золотом у вакуумному універсальному пості «ВУП-5» та вивчали в растровому електронному мікроскопі «РЕМ 102».

**Результати дослідження.** На 3 добу вивчення репаративного остеогенезу у щурів із модельованою хронічною гіперглікемією та застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми місце дефекту було заповнено еритроцитами, лімфоцитами, нейтрофільними гранулоцитами, макрофагами, жировими клітинами, фібрином, залишками кісткового мозку та тромбоцитами. Ділянка між ендостом материнської кістки та дефектом мала некротичні залишки кісткового детриту (рис. 1А).



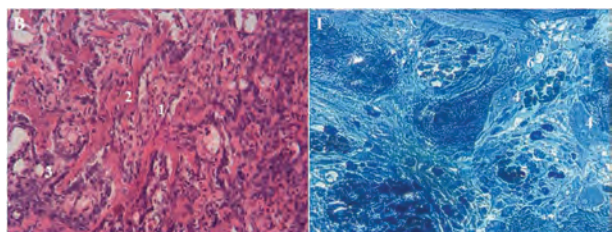
**Рис. 1А.** Ділянка дефекту великогомілкової кістки щура із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосування ЗТП на 3 добу репаративного остеогенезу. Еритроцити (1), кістковий детрит (2), макрофаг (4), фібрин (5), пучки фібрину (6). Забарвлення гематоксиліном і еозиним. Зб. х 200

На 7 добу експерименту у ділянці оперативного втручання зберігались залишкові ознаки запалення. Клітини макрофагально-лейкоцитарного ряду містили у цитоплазмі велику кількість вакуолей. Відмічалось послаблення процесів утилізації уламків пошкодженої кістки. Але, вже на цьому строці дослідження збільшувалась кількість остеобластів та остеокластів (рис. 1Б).



**Рис. 1Б.** Ділянка дефекту великогомілкової кістки щура із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосування ЗТП на 7 добу репаративного остеогенезу. Фібробласт (1), остеокласт (2), остеобласт (3), кісткові уламки (4). Забарвлення метиленовим синім. Зб. х 400

На 14 добу експерименту залишків кісткового детриту вже не відмічалось. Натомість відбулось різке розростання сполучної тканини та її упорядкування й формування в остеїдні балки. Найінтенсивнішим цей процес відбувався біля материнської кістки. Також, біля материнської кістки грубоволокнисті тяжі сполучної тканини були дифузно заплітаними по поверхні яких розміщувалися щільним пластом остеобласти та поодинокі остеокласти. У центрі дефекту спостерігалась зона сполучної тканини з великою кількістю капілярів синусоїдного типу та без ознак утворення остеогенних балок (рис. 1В, 1Г).

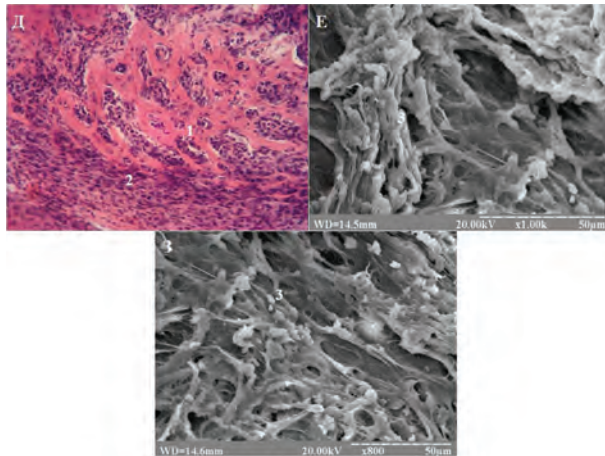


**Рис. 1В, 1Г.** Ділянка дефекту великогомілкової кістки щура із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосування ЗТП на 14 добу репаративного остеогенезу. Сполучна тканина (1), остеїдні кісткові балки (2), жирові клітини (3), остеокласт (4), капіляр (5), остеобласт (6). В – Забарвлення гематоксиліном і еозиним. Зб. х 200. Г – Забарвлення метиленовим синім. Зб. х 200

На 21 добу вивчення репаративного остеогенезу у щурів з змодельованою хронічною гіперглікемією та застосування збагаченої тромбоцитами плазми спостерігалось подальше мінералізування утворених молодих сполучнотканинних балок.



Але цей процес, як і у попередньому терміні дослідження мав локальний характер. У центральній ділянці дефекту утворення кісткових трабекул перебувало на початковій стадії. Відмічалось лише упорядкування сполучної тканини навколо капілярів та вибудовування остеобластів вздовж сполучнотканинних тяжів (рис. 1Д, 1Е, 1З).



**Рис. 1Д, 1Е, 1З.** Ділянка дефекту великогомілкової кістки щура із змодельованою хронічною гіперглікемією та застосування ЗТП на 21 добу репаративного остеогенезу. Остеогенні балки (1), сполучна тканина (2), колагенові волокна (3). В – Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб. х 200. Г, Д – Електронні сканограми

При скануванні дефекту великогомілкової кістки у щурів з модельованою хронічною гіперглікемією та застосування збагаченої тромбоцитами плазми (ЗТП) на 21 добу дослідження центральна ділянка його поверхні була утворена масивними колагеновими тяжами. Біля материнської кістки спостерігались остеобласти занурені в остеїдний матрикс кісткових балок. У центральній зоні закриття дефекту відбулось за рахунок незрілої грубоволокнистої тканини (рис. 1Е, 1З).

**Обговорення отриманих результатів.** Підходи до лікування пошкоджень опорно-рухового апарату за останні роки значно змінилися. Відповідно до уявлень більшості сучасних авторів застосування ЗТП – це простий, доступний та мінімально інвазивний спосіб отримання природної концентрації аутологічних медіаторів, таких як: інсуліноподібний фактор росту-1; основний фактор росту фібробластів; тромбоцитарний, епідермальний та ендотеліальний фактори росту; трансформуючий фактор росту бета, що відіграють найважливішу роль в ослабленні запальної реакції, елімінації некротизованих клітин і мають низку потенційних переваг перед існуючими способами. Доступність, простота, ефективність методу, відсутність алергічних реакцій відкривають перспективи його подальшого

дослідження та більш широкого використання в клінічній медицині [8, 9, 10-12].

A. Sadighi, M. L. Brown та співавтори повідомляють про високий відсоток (від 8 до 32 %) порушень процесів репаративного остеогенезу в умовах цукрового діабету 2-го типу, а також про те, що гіперглікемія призводить до зменшення проліферації та диференціації клітин хрящового й остеобластичного диферонів, які беруть участь у регенерації [13-16].

За даними О. А. Бур'янова та співавторів, при використанні аутогенної кісткової тканини та фібрину, збагаченого тромбоцитами, у регенераті відзначаються хаотичне розміщення кісткових трабекул та їх різна зрілість, нерівномірність щільності остеоцитів на поверхні кісткових трабекул, формування періосту, який складається з колагенових волокон пухкої та щільної консистенції. Кісткова тканина, що є регенератом, має певні відмінності від материнської: високу щільність остеоцитів, які мають базофільні ядра з цитоплазмою невеликого об'єму. Ці клітини розміщені у лакунах, що свідчить про відсутність остеоцитарного остеолізу [17]. У нашому дослідженні на ранніх стадіях репаративного остеогенезу у тварин, яким вводили ЗТП, ми спостерігали дещо уповільнення елімінації кісткового та запального детриту. На 7-му добу збільшувалась кількість остеобластів та остеокластів, а грануляційна тканина реорганізовувалася у сполучну. Але все ж таки ми ще відзначали залишкові ознаки запалення. На 14-ту та 21-шу добу залишків кісткового детриту ми не відмічали. Натомість відбулось різке розростання сполучної тканини та її упорядкування й формування у остеїдні балки. Найінтенсивнішим цей процес відбувався біля материнської кістки. Окрім того, біля материнської кістки тяжі сполучної тканини були дифузно звапнілими по поверхні яких розміщувались щільним пластом остеобласти та поодинокі остеокласти. При цьому у центрі дефекту спостерігалась зона сполучної тканини з великою кількістю капілярів синусоїдного типу та без ознак утворення остеогенних балок. На 21 добу репаративного остеогенезу у щурів із модельованою ХГ та застосуванням ЗТП спостерігалось, як і у попередньому терміні дослідження, локальне мінералізування утворених молодих сполучнотканинних балок. У центральній ділянці дефекту відмічалось лише упорядкування сполучної тканини навколо капілярів та вибудовування остеобластів вздовж сполучнотканинних тяжів.

Одержані дані в даному дослідженні підтверджують, що при введенні ЗТП зменшуються ознаки гострого запалення, фаза альтерації швидше змінюється регенераторно-репаративними процесами [18].

**Висновок.** Отже, застосування збагаченої тромбоцитами плазми коректує негативний вплив хронічної гіперглікемії на процеси репаративного остеогенезу. Швидше настає очищення місця дефекту від запального інфільтрату, формування остеогенних балок. Репаративний остеогенез проходить по типу остеобластичного диферону.

**Перспективи подальших досліджень.** Наші подальші дослідження спрямовані на вивчення морфометричних особливостей репаративного остеогенезу в щурів із хронічною гіперглікемією організму із застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми.

## References

1. Shteynle AV. Posttraumaticheskaya regeneratsiya kostnoy tkani (chast 1) [Post-traumatic bone tissue regeneration (part 1)]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; 4(1): 101-8. [Russian]
2. Danilov RK. Gistologicheskie osnovy regeneratsii tkaney oporno-dvigatel'nogo apparata [Histological basis of tissue regeneration of the musculoskeletal system]. *Ortopedicheskaya travmatologiya*. 2000; 2: 102. [Russian]
3. Desyatnichenko KS. O prirode efekta Ilizarova [About the nature of the Ilizarov effect]. *Ortopedicheskaya travmatologiya*. 2000; 2: 102-3. [Russian]
4. Avrunin AS, Iof ID. Perestroyka mineral'nogo matriksa kostnoy tkani [Reconstruction of the bone mineral matrix]. *Morfologiya*. 2001; 2: 37-40. [Russian]
5. Hankemeier S, Grässel S, Plenz G, Spiegel HU, Bruckner P, Probst A. Alteration of fracture stability influences chondrogenesis, osteogenesis and immigration of macrophages. *J Orthop Res*. 2001; 19(4): 531-8.
6. Lopes D, Martins-Cruz C, Oliveira MB, Mano JF. Bone physiology as inspiration for tissue regenerative therapies. *Biomaterials*. 2018; 185: 240-75. DOI:10.1016/j.biomaterials.2018.09.028
7. Paschou SA, Dede AD, Anagnostis PG, Vryonidou A, Morganstein D, Goulis DG. Type 2 diabetes and osteoporosis: a guide to optimal management. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017; 102(10): 3621-34. DOI: 10.1210/je.2017-00042
8. Yu T, Pan H, Hu Y, Tao H, Wang K, Zhang C. Autologous platelet-rich plasma induces bone formation of tissue-engineered bone with bone marrow mesenchymal stem cells on beta-tricalcium phosphate ceramics. *J Orthop Surg Res*. 2017; 12: 178. DOI: 10.1186/s13018-017-0665-1
9. Malygina MA, Borovkova NV, Sakharova OM, Ponomarev IN. Primenenie bogatoy trombocitami plazmy pri zabolevaniyakh i povrezhdeniyakh oporno-dvigatel'nogo aparata [The use of platelet-rich plasma in diseases and injuries of the musculoskeletal system]. *Transplantologiya*. 2017; 9(4): 325-34. [Russian]. DOI: 10.23873/2074-0506-2017-9-4-325-334
10. Badr M, Coulthard P, Alissa R, Oliver R. The efficacy of platelet rich plasma in grafted maxil lae. A randomized clinical trial. *European Journal Oral Implantology*. 2010; 3(3): 233-44.
11. Baimukanova G, Miyazawa B, Potter DR, Gibb SL, Keating S, Danesh A, et al. The effects of 22°C and 4°C storage of platelets on vascular endothelial integrity and function. *Transfusion*. 2016; 56 (1): 52-64. DOI: 10.1111/trf.13455
12. Giraldo CE, Álvarez ME, Carmona JU. Effects of sodium citrate and acid citrate dextrose solutions on cell counts and growth factor release from equine pure-platelet rich plasma and pure-platelet rich gel. *BMC Vet Res*. 2015; 11(1): article 60. DOI: 10.1186/s12917-015-0370-4
13. Sadighi A, Bazavar M, Niafar M, Tabrizi A, Doorandish N. Effect of diabetes mellitus type II on long bones fractures healing. *Advances in Bioscience and Clinical Medicine*. 2015; 3(3): 10-6.
14. Marsell R, Einhorn T. The biology of fracture healing. *Injury*. 2011; 42(6): 551-5.
15. Volotovskiy AI, Makarevich ER, Chirak VE. *Regeneratsiya kostnoy tkani v norme i pri patologii* [Bone tissue regeneration is normal and pathological]. Minsk: BGMU; 2010. 24 s. [Russian]
16. Brown M, Yukata K, Farnsworth C. Delayed fracture healing and increased callus adiposity in a C57bl/6j murine model of obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *PLOS One*. 2014; 9(6): 1-11.
17. Buryanov OA, Omelchenko TN, Yarmolyuk YuA, Vakulich MV. Regeneratsiya kosti pri ispolzovanii autogennoy kostnoy tkani i fibrina, obogashchennogo trombocitami [Bone regeneration using autologous bone tissue and platelet-rich fibrin]. *Visnik problem biologiyi i meditsini*. 2017; 1(135): 96-9. [Russian]
18. Ivchenko DV, Miroshnikov VV. Zastosuvannya autolohichnoi plazmy, shcho zbahachena trombocytami, dlya optymizatsiyi reparaivnoy reheneratsiyi kistkovoї tkanyny pry osteopeniyi [The use of autologous plasma enriched in platelets to optimize the reparative regeneration of bone tissue in osteopenia]. *Patolohiya*. 2018; 2(43): 248-58. [Ukrainian]

УДК 616.718-003.93:616.379-008.64]-097.1

### ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ РЕГЕНЕРАТА ДЛИННЫХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ СКЕЛЕТА В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ПРИМЕНЕНИЕ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ

**Дудченко Е. С.**

**Резюме.** Проблема регенерации кости после повреждения имеет особое значение в связи с социально-экономической актуальностью, которая связана с необходимостью длительного и дорогостоящего

лечения и медицинской реабилитации. В последние годы аутологичные концентраты тромбоцитов широко используют для регенерации тканей в клинической практике. Однако сведений об эффективности и возможности применения обогащенной тромбоцитами плазмы при переломах длинных трубчатых костей у лиц, страдающих хронической гипергликемией или сахарным диабетом II типа, в мировой научной литературе недостаточно. Поэтому *целью исследования* было изучить микроскопические и ультраструктурные особенности репаративного остеогенеза в условиях хронической гипергликемии организма и коррекции влияния хронической гипергликемии на процессы репаративного остеогенеза обогащенной тромбоцитами плазмы крови.

Исследование проведено на 80 белых лабораторных крысах-самцах зрелого возраста (группа животных с хронической гипергликемией организма – 40 крыс, группа животных с хронической гипергликемией организма и применением обогащенной тромбоцитами плазмы – 40 крыс). Хроническую гипергликемию моделировали путем однократного внутривентриального введения стрептозотоцина (40 мг/кг) и никотиновой кислоты (1 мг/кг). С помощью портативной зуботехнической бормашины бором в средней трети диафиза большеберцовой кости формировали отверстие. Обогащенную тромбоцитами плазму готовили из крови, взятой с латеральной хвостовой вены, и полученный раствор вводили животным в раны. Исследования проводились на 3-ие, 7-ые, 14-ые и 21-ые сутки после нанесения травмы. Световую микроскопию проводили с использованием микроскопа Olympus BH-2 (Япония), сканирующую электронную микроскопию с использованием микроскопа «РЭМ 102».

Таким образом, применение обогащенной тромбоцитами плазмы корректирует негативное влияние хронической гипергликемии на процессы репаративного остеогенеза. Скорее наступает очистка места дефекта от воспалительного инфильтрата, формирование остеогенных балок. Репаративный остеогенез проходит по типу остеобластического дифферона.

**Ключевые слова:** репаративный остеогенез, хроническая гипергликемия, обогащенная тромбоцитами плазма.

UDC 616.718-003.93:616.379-008.64]-097.1

**Features of the Structural Organization of the Regenerate of Skeleton Long Tubular Bones under Influence of Chronic Hyperglycemia and Application of the Platelet-Rich Plasma**  
**Dudchenko Ye. S.**

**Abstract.** The bone regeneration after the injury is of particular importance in view of the social and economic relevance related to the need for a long and costly treatment and medical rehabilitation. In recent years, the autologous platelet concentrates were widely used for the tissue regeneration in clinical practice. However, there is not enough information regarding the effectiveness and the possibility of using platelet-enriched plasma for the long tubular bones fractures in people suffering from chronic hyperglycemia or diabetes mellitus type II in the scientific literature.

*The purpose of our work* was to study the microscopic and ultrastructural features of reparative osteogenesis under the influence of chronic hyperglycemia and the correction of chronic hyperglycemia influence on the processes of reparative osteogenesis by platelet-rich blood plasma.

*Material and methods.* The study was conducted on 80 white laboratory rats: a group of animals with chronic hyperglycemia of the body (40 rats), the group of animals with chronic hyperglycemia and the application of platelet-enriched plasma (40 rats). The chronic hyperglycemia was simulated by single intraperitoneal administration of streptozotocin (40 mg/kg) and nicotinic acid (1 mg/kg). After the administration of streptozotocin, the animals had the usual dietary intake for 60 days. On the 60<sup>th</sup> day after the model reproduction in animals of the control group and the group with chronic hyperglycemia of the body, the hole was formed using a portable dental sterile boron in the middle third of the tibia diaphysis. The platelet-rich plasma was prepared from the blood taken from lateral tail vein. The resulting solution was injected into the wounds of animals. The studies were performed on the 3<sup>rd</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> day after trauma. The sections were stained with hematoxylin-eosin and methylene blue. The light microscopy was performed using an Olympus BH-2 microscope (Japan), scanning electron microscopy was performed using a microscopy "REM 102".

*Results and discussion.* On the 3<sup>rd</sup> day of reparative osteogenesis, the defect was filled with macrophages, leukocytes, a fibrin and bone detritus residues in the rats with the modeled chronic hyperglycemia and the application of platelet-enriched plasma. On the 7<sup>th</sup> day of the study, the residual signs of inflammation were observed in the defect as well as the osteoblasts and osteoclasts have appeared. On the 7<sup>th</sup> day of the experiment, the bone detritus residues were not observed and at the same time there was a sharp proliferation of connective

tissue and its ordering and formation in osteoid beams. The area of connective tissue with the large number of sinusoidal capillaries and without any signs of osteogenic beams was found in the middle of defect. On the 21<sup>th</sup> day, the mineralization of the formed new connective tissue beams was observed but the mentioned process was of a local character as in the previous case. In the central section of the defect, the formation of bone trabeculae was at the initial stage. It was only noted that ordering of the connective tissue around the capillaries and the alignment of osteoblasts along the connective tissue cords.

*Conclusion.* The application of platelet-rich plasma allowed correcting the negative influence of chronic hyperglycemia on the process of reparative osteogenesis. The area of defect was cleaned from inflammatory infiltrate and the osteogenic beams were formed quicker. The reparative osteogenesis proceeded as an osteoplastic diferon.

**Keywords:** reparative osteogenesis, chronic hyperglycemia, platelet-rich plasma.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 21.04.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування