


УДК 616.71-003.93-089.843:611.018.54:611.018-08
 УКПП
 № держреєстрації 0119U102341
 інв №

Державна установа
«Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка
Національної академії медичних наук України»

61024, м. Харків, вул. Пушкінська, 80,
 тел. (057) 725-14-00

ЗАТВЕРДЖУЮ
 заст. директора з наукової роботи
 ДУ «ІПХС ім. проф.
 М. І. Ситенка НАМН»
 д-р мед. наук, професор
 В. О. Радченко
 2022.12.28



ЗВІТ

ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ

ВИВЧИТИ МЕХАНІЗМИ ОПТИМІЗАЦІЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКИ
ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ РЕЦИПІЄНТА В РАЗІ ВИКОРИСТАННЯ
АЛОГЕННИХ КІСТКОВИХ ІМПЛАНТАТІВ У КОМБІНАЦІЇ З
МЕЗЕНХІМАЛЬНИМИ СТРОМАЛЬНИМИ КЛІТИНАМИ І
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИМИ ФАКТОРАМИ ПЛАЗМИ КРОВІ

(остаточний)

Науковий керівник НДР
 д-р мед. наук, професор

2022.12.16

М.О.Корж

Нормоконтроль

2022.12.16

Л. А. Васильцова

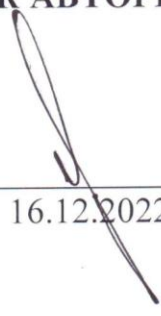
2022

Рукопис закінчено 16 грудня 2022 року

Результати цієї роботи розглянуті Вченою Радою ДУ «ІПХС»,
 від «27» грудня 2022 р. № 8

СПИСОК АВТОРІВ

Керівник НДР
зав. відділом травматології
опорно-рухової системи,
д-р мед. наук, проф.



 16.12.2022

М. О. Корж
(реферат, вступ,
розділ 1, висновки)

Відповідальні виконавці:
зав. відділом трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою,
канд. мед. наук,



 16.12.2022

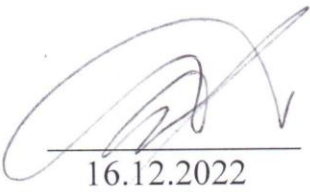
П. М. Воронцов
(розділ 1, 4, 5, підрозділ
6.1-6.5 висновки)

зав. лабораторією морфології
сполучної тканини,
канд. біол. наук

 16.12.2022

Н. О. Ашукіна
(розділ 3, 4, підрозділ
6.1-6.5, висновки)


Виконавці:
Зав. відділом патології
хребта та суглобів
дитячого віку,
д-р мед. наук, проф.



 16.12.2022

С. О. Хмизов
(розділ 1)

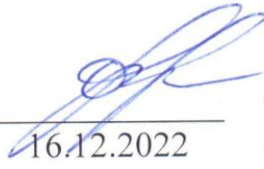
Зав. відділом лабораторної
діагностики та імунології,
канд. біол. наук,
старш. наук. співроб.



 16.12.2022

Ф. С. Леонтьєва
(підрозділ 2.6; 3.3; 4.3;
6.6)

Старш. наук. співроб. відділу
трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою,
канд. біол. наук



 16.12.2022

О. А. Нікольченко
(підрозділ 2.1; 3.1; 3.2;
4.2; 6.2; 6.3)

Старш. наук. співроб. лабораторії
морфології сполучної тканини,
канд. біол. наук



 16.12.2022

В. Є. Мальцева
(підрозділ 2.9; 3.1; 3.2;
3.4; 4.1; 4.2; 4.4; 6.1; 6.5)

Наук. співроб. лабораторії
морфології сполучної тканини


16.12.2022

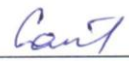
З. М. Данишук
(підрозділ 2.5, 3.1; 3.2;
4.1; 4.2; 6.1-6.4)

Наук. співроб. відділу
трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою,
канд. біол. наук


16.12.2022

Д. М. Пошелок
(підрозділ 2.1)

Мол. наук. співроб. відділу
трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою


16.12.2022


К.М. Самойлова
(підрозділ 2.1; 2.2; 2.6;
2.7)

Мол. наук. співроб.
лабораторії морфології
сполучної тканини


16.12.2022

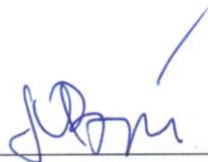
О.О. Бабіч
(підрозділ 2.4; 3.1)

Мол. наук. співроб. відділу
лабораторної діагностики
та імунології


16.12.2022


Т.І. Гуліда
(підрозділ 2.6; 3.3; 4.3;
6.6.3)

Мол. наук. співроб. відділу
лабораторної діагностики
та імунології


16.12.2022

М.П. Воронцова
(підрозділ 2.6; 6.6.1;
6.6.2)

Мол. наук. співроб. відділу
науково-медичної інформації


16.12.2022

В.В. Вельямінова
(підрозділ 2.1, 2.2)

Аспірант

16.12.2022

Є.Ю. Якушін
(підрозділ 2.6)

Відповідальний за метрологічне
забезпечення
провідний метролог


16.12.2022

Л. А. Васильцова
(метрологічна
експертиза
документації)

ЛІКАРСЬКО-КЛІНІЧНИЙ ШТАТ

Лікар-лаборант
відділення трансплантології
органів опори та руху клінікою


16.12.2022

В.С. Гусак
(підрозділ 2.3; 2.4; 2.8,
розділ 5)

Лікар-лаборант
відділення трансплантології
органів опори та руху клінікою


16.12.2022

О.С. Середа
(підрозділ 2.8, розділ 5)


НАУКОВО-ДОПОМІЖНИЙ ШТАТ

Лаборант I категорії лабораторії
морфології сполучної тканини


16.12.2022

М. В. Скрипель
(виготовлення
гістопрепаратів)

Лаборант б/к відділу лабораторної
діагностики та імунології


16.12.2022

В.Л. Попова
(забезпечення
біохімічних досліджень)

Лаборант відділу лабораторної
діагностики та імунології


16.12.2022


О.В. Носач
(забезпечення
біохімічних досліджень)

Лаборант відділу лабораторної
діагностики та імунології

16.12.2022


Т.В. Єрєміна
(забезпечення
біохімічних досліджень)

Лаборант II категорії
відділу трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою


16.12.2022

С.Б. Гречишнікова
(забезпечення
хірургічних втручань у
щурів)


Лаборант II категорії
відділу трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою



16.12.2022

Є.О. Солодовнікова
(забезпечення
хірургічних втручань у
щурів)


Робітник з догляду за тваринами
відділу трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою



16.12.2022

В.В. Горбань
(догляд за щурами)

Робітник з догляду за тваринами
відділу трансплантології та
експериментального моделювання
з експериментально-біологічною
клінікою



16.12.2022

Н.М. Лисенко
(догляд за щурами)

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: 198 с., 24 табл., 18 рис., 99 джерел.

АЛОКІСТКОВИЙ ІМПЛАНТАТ, КРИТИЧНИЙ ДЕФЕКТ КІСТКИ, РЕГЕНЕРАЦІЯ, МЕЗЕНХІМАЛЬНІ СТРОМАЛЬНІ КЛІТИНИ, СТЕГНОВА КІСТКА ЩУРІВ, ФАКТОРИ РОСТУ ПЛАЗМИ КРОВІ

Об'єкт дослідження – регенерація кістки у щурів різного віку з пластикою дефекту алогенними кістковими імплантатами в комбінації чи ні з мезенхімальними стовбуровими клітинами (МСК) або факторами росту плазми крові (ФР), мінеральна щільність кісткової тканини (МЩКТ).

Мета роботи – вивчити механізми оптимізації регенерації кістки залежно від віку реципієнта шляхом використання алогенних кісткових імплантатів у комбінації з МСК та біологічно активними факторами.

Методи дослідження – експериментальне моделювання на тваринах, біохімічні, гістологічні, двохенергетична рентгенівська абсорбціометрія, імуноферментний аналіз, статистичні.

Доведено, що регенерація кістки у разі великих дефектів не завершується відновленням її анатомічної форми навіть за умов використання кісткових алоімплантатів і погіршується з віком, що обумовлює додаткове застосування біологічних факторів. Введення алогенних МСК разом із алотрансплантатом (навіть із стимулюванням ФР в післяопераційному періоді) у зону травми кісток спричинює уповільнення кісткоутворення незалежно від віку реципієнта і надлишкове формування сполучної тканини. Тому таку методику реконструкції дефектів кісток недоцільно використовувати у випадку свіжих травм і без застосування остеоіндукції клітин під час культивування або імуносупресорів. За допомогою імуноферментного аналізу визначено режим центрифугування для отримання більшої концентрації VEGF, TGF- β , PDGF в плазмі крові. Встановлено, що насичення алоімплантата ФР або їхнє локальне введення через 7 діб після операції сприяє скорішій його перебудові (порівняно з використанням лише алоімплантата) зі заміщенням на 90-ту добу кістковою тканиною пластинчастої структури незалежно від віку реципієнта і може бути рекомендовано до клінічного використання.

Умови одержання звіту: за договором. 03150, Київ, вул. Антоновича, 180, УкрІНТЕІ.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів...	11
Вступ	12
1 Оптимізація регенерації кістки шляхом використання кісткових імплантатів і біологічних чинників	15
1.1 Кісткові алоімплантати для пластики дефектів кісток.....	15
1.2 Роль збагаченої тромбоцитами плазми або фібрину в регуляції остеорепарації	17
1.3 Мезенхімальні стромальні клітини.....	21
1.4 Мінеральна щільність кісткової тканини за умов переломів і дефектів кісток.....	23
1.5 Резюме	25
2 Матеріал і методи	26
2.1 Експериментальне моделювання на тваринах	26
2.2 Методика виготовлення кісткових алоімплантатів	28
2.3 Отримання алогенних МСК	29
2.4 Отримання збагаченої тромбоцитами плазми.....	30
2.5 Гістологічні дослідження.....	31
2.6 Біохімічні дослідження сироватки крові.....	32
2.7 Визначення мінеральної щільності кісткової тканини	33
2.8 Імуноферментний аналіз факторів росту в плазмі крові.....	33
2.9 Статистичні методи.....	34
3 Структурно-функціональні та метаболічні особливості стегнових кісток щурів за умов відтворення в метафізі дефектів без або з пластикою алогенними кістковими імплантатами залежно від віку	35
3.1 Остеорепарація після виконання транскортикальних дефектів критичного розміру в метафізі стегнової кістки щурів	35
3.2 Особливості будови стегнової кістки щурів після заповнення транскортикальних дефектів критичного розміру в метафізі	

алогенним кістковим матеріалом	42
3.3 Результати біохімічного дослідження сироватки крові щурів різного віку після моделювання незаповненого дефекту в метафізі стегнової кістки або з використанням для пластики алогенних кісткових імплантатів.....	44
3.4 Оцінка мінеральної щільності кісткової тканини стегнових кісток щурів різного віку після моделювання дефекту в метафізі з або без заповнення алогенними кістковими імплантатами.....	51
4 Структурні та метаболічні особливості загоєння критичного дефекту кістки за умов використання алогенних кісткових імплантатів у комбінації з мезенхімальними стромальними клітинами залежно від віку тварини-реципієнта	53
4.1 Морфологія культури мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини щура	53
4.2 Морфологія дистального метафізу стегнової кістки щурів.....	54
4.3 Результати біохімічного дослідження сироватки крові щурів різного віку після заповнення дефектів критичного розміру в метафізі стегнової кістки алогенним кістковим матеріалом і мезенхімальними стромальними клітинами	63
4.4 Мінеральна щільність кісткової тканини стегнових кісток щурів різного віку з використанням для пластики дефекту критичного розміру алогенних кісткових імплантатів із мезенхімальними стромальними клітинами	69
5 Результати визначення концентрації VEGF, TGF- β та PDGF-BB у плазмі крові добровольців-волонтерів та щурів різного віку залежно від особливостей центрифугування	71
5.1 Визначення концентрації VEGF	71
5.2 Визначення концентрації TGF- β	73
5.3 Визначення концентрації PDGF-BB	75

6	Визначення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на перебіг остеорепації та перебудову кісткових алоімплантатів у метафізарних дефектах стегнових кісток щурів	77
6.1	Вивчення особливостей репаративного остеогенезу в дефектах стегнових кісток щурів після пластики кістковими алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові.....	77
6.2	Результати дослідження впливу локального введення факторів росту плазми крові на перебіг репаративного остеогенезу після пластики дефектів стегнових кісток щурів алоімплантатами	84
6.3	Дослідження впливу локального введення факторів росту плазми крові на перебіг репаративного остеогенезу після пластики дефектів стегнових кісток щурів алоімплантатами, насиченими факторами росту	107
6.4	Результати вивчення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на перебіг репаративного остеогенезу після пластики дефектів стегнових кісток щурів алоімплантатами в комбінації з МСК	116
6.5	Оцінка мінеральної щільності кісткової тканини стегнових кісток щурів різного віку за умов використання для пластики дефекту критичного розміру алогенних кісткових імплантатів із мезенхімальними стромальними клітинами або факторами росту плазми крові та подальшим їхнім введенням у вигляді місцевих ін'єкцій.....	127
6.6.	Вираженість маркерів кісткового метаболізму в сироватці крові щурів після заповнення дірчастих дефектів критичного розміру в метафазі стегнової кістки алогенним кістковим у комбінації з мезенхімальними стромальними клітинами або факторами росту плазми крові з їхнім післяопераційним введенням.....	132
6.6.1	Вивчення ефекту локального введення факторів росту	

плазми крові на метаболізм кісткової тканини після пластики дефектів стегнових кісток щурів алогенним кістковим матеріалом.....	132
6.6.2 Вивчення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на метаболізм кісткової тканини після пластики дефектів стегнових кісток щурів алогенним кістковим матеріалом у комбінації з МСК	153
6.6.3 Вивчення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на метаболізм кісткової тканини після пластики дефектів стегнових кісток щурів алогенним кістковим матеріалом, насиченим факторами росту плазми крові	158
6.6.4 Розрахункові біохімічні показники мінералізації.....	163
6.6.5 Зміни вмісту остеокальцину в сироватці крові.....	175
Висновки.....	183
Перелік джерел посилань.....	186

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

- А – кістковий алоімплантат
- ВВС – відносна відцентрована сила
- ГАГ – глікозаміноглікани
- ГАГс – глікозаміноглікансульфати
- ДРА – двохенергетична рентгенівська абсорбціометрія
- ІЛ – інтерлейкін
- Кт – кісткова тканина
- МСК – мезенхімальні стромальні клітини
- МЩКТ – мінеральна щільність кісткової тканини
- Ст – сполучна тканина
- ТФР- β – трансформувальний фактор росту β
- ФР – фактори росту
- «ОМС» – «Остеоматрикс Ситенко»
- «ОМС-А» – «Остеоматрикс Ситенко – Алотрансплантати»
- i-PRF – ін'єкційний збагачений тромбоцитами фібрин (injectable platelet rich fibrin)
- PDGF-BB – тромбоцитарний фактор росту (platelet-derived growth factor-BB)
- PRF – збагачений тромбоцитами фібрин (platelet rich fibrin)
- VEGF – фактор росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factor)

ВСТУП

Актуальність теми

Актуальність і важливість проблеми, пов'язаної з пошуком шляхів оптимізації регенерації кістки, зумовлена необхідністю заповнення дефектів кісток, які утворюються внаслідок травми, вогнепальних поранень, видалення пухлин кісток, у разі ревізійного ендопротезування, хірургічних втручань на хребті. Згідно з останніми публікаціями під час війни з Російською Федерацією через застосуванням високоенергетичної зброї (балістична травма) серед постраждалих (і військових, і цивільних) збільшилася кількість осіб з переломами довгих кісток, які ускладнюються утворенням значних дефектів [1]. За інформацією ООН, на 15 серпня кількість поранених серед цивільних громадян складає 7 698 осіб, але реальна цифра ймовірно вища [2].

Незважаючи на значний обсяг знань щодо біології регенерації кістки, сучасні досягнення в галузі травматології, створення удосконалених засобів фіксації відламків кісток і нових хірургічних технологій, не завжди в ділянці ушкодження утворюється повноцінна кісткова тканина зі структурно-функціональними властивостями початкової. Зокрема встановлено, що частота незрощення або сповільненого зрощення відламків кісток після переломів залишається високою – від 5 % до 26 %, що призводить до інвалідизації пацієнтів, обумовлює додаткові хірургічні втручання й економічні витрати та виводить проблему на рівень медико-соціальної [3–5]. У зв'язку з цим важливим є подальше вивчення механізмів регенерації кістки та пошук шляхів керування цим процесом.

Соціальною складовою проблеми відновлення цілісності кістки після травматичних ушкоджень і операцій на сегментах скелета є також підвищення кількості людей похилого та старечого віку і, відповідно, розвитку порушень обміну та ремоделювання кісткової тканини, зниження її репаративних властивостей. За даними ООН, частка людей у всьому світі старших за 65 років у 2017 р. становила 8,7 %, а у 2050 році досягне 15,8 %, в Україні – 16,5 % і 25,5 % відповідно [6]. У зв'язку з цим вагомим значенням для хірургів-ортопедів

набувають асоційовані з віком метаболічні порушення, наприклад остеопороз, які призводять до зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ), погіршення її якості та порушення здатності до відновлення. Це спричинює складності під час виконання реконструктивних втручань на скелеті (ендопротезування внаслідок артрозу або видалення пухлин, спондилодез тощо) і підвищує ризик незадовільних результатів.

Для оптимізації процесу регенерації кістки використовують кістковий матеріал ауто- та аlogenного походження. На першому місці у світі серед хірургічних втручань зі застосуванням кісткових імплантатів є спондилодез хребта, на другому – лікування травм, на третьому – реконструкція суглобів [7]. Вирішальне значення для відновлення біомеханічних властивостей оперованого сегмента скелета, його раннього навантаження та функціональної реабілітації має швидка інкорпорація замісних матеріалів у кістку [8]. Тобто матеріал має володіти остеоіндуктивними й остеокондуктивними якостями. Оскільки використання кісткових автотрансплантатів обмежене через їхній незначний об'єм, невідповідну розмірам дефекту форму та необхідність додаткових хірургічних втручань, поширеною практикою є застосування для заповнення кісткових дефектів синтетичних або алокісткових імплантатів [9]. На жаль, останні частково втрачають остеокондуктивні й остеоіндуктивні якості в процесі виготовлення, стерилізації та зберігання [10]. Розв'язати це питання уявляється можливим шляхом насичення алоімплантатів біологічними агентами, зокрема факторами росту та мезенхімальними стромальними клітинами (МСК). Крім того, необхідність використання біологічно активних чинників для прискорення репаративного остеогенезу виникає у випадках, коли власний резерв клітин-попередників остеобластів зменшується, а процес кісткового ремоделювання зміщується в бік остеорезорбції, призводячи до втрати кісткової тканини та погіршення якості кістки, що відбувається в літніх пацієнтів.

Ціль роботи – вивчити механізми оптимізації регенерації кістки залежно від віку реципієнта шляхом використання аlogenних кісткових імплантатів у комбінації з мезенхімальними стромальними клітинами та біологічно

активними факторами за допомогою використання експериментальних, морфологічних, біохімічних і денситометричних досліджень.

Завдання дослідження:

– Проаналізувати структурно-функціональні та метаболічні особливості кісткової тканини за умов пластики дефектів у дистальному метафізі стегнових кісток щурів репродуктивного раннього (3 міс.) та зрілого пізнього (12 міс.) вікових періодів алогенними кістковими імплантатами.

– Визначити особливості відновлювальних процесів в дефектах стегнових кісток щурів різного віку (3 і 12 міс.) за умов пластики алогенними кістковими імплантатами з мезенхімальними стромальними клітинами за допомогою методів гістології, біохімії, кісткової денситометрії.

– Обґрунтувати за допомогою імуноферментного аналізу спосіб отримання збагаченої тромбоцитами плазми крові для оптимізації регенерації кістки.

– Дослідити особливості репаративного остеогенезу в дефектах стегнових кісток щурів різних вікових періодів у випадку заповнення їх алогенними кістковими імплантатами, насиченими факторами росту плазми крові на підставі вивчення структури, метаболічних маркерів і мінеральної щільності кісткової тканини.

– Експериментально визначити для щурів різного віку оптимальні стадії регенерації кістки для локального введення факторів росту плазми крові в післяопераційному періоді у випадку заповнення дефектів кістки алогенними кістковими імплантатами в комбінації з мезенхімальними стромальними клітинами або біологічно активними чинниками.

Назви проміжних звітів:

2020 рік – Експериментальне обґрунтування використання алогенних кісткових імплантатів у комбінації з факторами росту плазми крові для оптимізації регенерації кістки залежно від віку реципієнта

2021 рік – Вивчити особливості регенерації кістки в разі використання алогенних кісткових імплантатів у комбінації з мезенхімальними стромальними клітинами залежно від віку реципієнта

1 ОПТИМІЗАЦІЯ РЕГЕНЕРАЦІЇ КІСТКИ ШЛЯХОМ ВИКОРИСТАННЯ КІСТКОВИХ ІМПЛАНТАТІВ І БІОЛОГІЧНИХ ЧИННИКІВ

1.1 Кісткові алоімпланти для пластики дефектів кісток

Кісткові алоімпланти, використовувані в ортопедичній і травматологічній практиці, можуть бути структурними (кортикальні, губчасті, кортикально-губчасті) та безструктурними (чіпси) [11]. Вони є альтернативою аутогенних кісткових імплантатів, які залишаються «золотим стандартом» для заміщення дефектів кісток. Головним недоліком кісткових алоімплантатів називають низькі остеоіндуктивні якості. Проте вони забезпечують механічну міцність кістки в ділянці використання та є матрицею для формування кісткової тканини.

Є повідомлення про ефективність застосування кортикальних алоімплантатів для лікування нестабільності плечового суглоба [12], реконструкції стегнової кістки після перипротезних переломів [13, 14], відновлення об'ємних уражень кістки [15], спондилодезу шийного відділу хребта разом із пластиною [16].

Губчасті алоімпланти переважно використовують для заповнення дефектів кістки: під час ревізієвих втручань після тотальної заміни кульшового суглоба [17], для заповнення дефектів метафіза променевої [18] та великогомілкової [19, 20] кісток після переломів, лікування аваскулярного остенекрозу стегнової кістки [21].

Актуальним питанням виживання кісткового алоімплантатів є його біомеханічні якості на момент імплантації. Клінічно встановлено, що міцність алоімплантата знижується на 50 % після його встановлення під час реконструкції кісток кінцівок після видалення пухлин [22]. Процес виготовлення алоімплантатів після отримання від донора передбачає консервування: заморожування, висушування або оброблення розчином на

основі гліцерину [23, 24]. Усі ці методики негативно впливають на біомеханічні якості алоімплантатів. Зокрема, заморожування знижує їхню міцність на 30 %, а сублімаційна сушка – на 90 %, що визначено в експериментальному дослідженні на зразках стегнових кісток свині [25]. Методика оброблення гліцерином має переваги з огляду на збереження міцності кісткового матеріалу порівняно з описаними двома, а остеокондуктивні якості отриманих алоімплантатів не відрізняються за умов використання всіх зазначених способів консервування [23].

Для стерилізації кісткових алоімплантатів застосовують γ -випромінювання, яке також знижує їхню міцність (за умов понад 25 кГр для компактної кістки; 60 кГр – для губчастої) [26]. На думку дослідників, така негативна дія γ -випромінювання пов'язана з руйнуванням молекулярної структури колагену, що експериментально доведено на зразках тіл хребців мишей за дози опромінення вище ніж 17 кГр [27]. Зниження дози опромінення для кортикальних алоімплантатів нижче ніж 25 кГр [28] або від 5 до 15 кГр [29] та попереднє оброблення розчином рибози може зберегти міцність матеріалу [30]. Для губчастих алоімплантатів виявлено негативний вплив на їхню міцність поєднання сублімаційної сушки з подальшим γ -опроміненням (25 кГр) і відсутність подібного ефекту в разі опромінення після заморожування [31].

Також триває пошук методів зневоднення/знежирення кісток з урахуванням їхнього впливу на біомеханічні якості алоімплантатів. Встановлено, що знежирення етиловим спиртом і промивання під високим тиском губчастої кістки впливає на біомеханічні якості отриманих алоімплантатів, аналогічно як і знежирення ацетоном [32]. Ефективним виявилось знежирення з використанням ліпази, але вплив її на біомеханічні якості алоімплантата невідомий [33].

Отже, розроблення методів консервування, оброблення та стерилізації алоімплантатів є важливим для досягнення довгострокових успішних результатів лікування пацієнтів із різними ураженнями скелета. Усі методи

попередньої обробки зразків кістки мають негативний вплив на їхню міцність. Консервацію алоімплантів проводять методом заморожування або сублімаційною сушкою, кожен із них має певні недоліки з огляду дії на міцність кістки. Одним із перспективних методів є оброблення нативного матеріалу розчином гліцерину. Для дезінфекції кісткових зразків використовують переважно γ -випромінювання, зниження негативної дії якого можна досягти зменшенням дози опромінювання нижче ніж 25 кГр та попереднім обробленням рибазою. Мало вивченим залишається поєднаний вплив γ -випромінювання та методів консервування на якість отриманих алоімплантів. Знежирення кісткового матеріалу виконують ацетоном, етиловим спиртом або ліпазою, які дають порівнянні результати щодо якості знежирення зразків, але негативно впливають на міцність отриманих імплантів, за винятком ліпази, дія якої на цю характеристику не з'ясована.

1.2 Роль збагаченої тромбоцитами плазми або фібрину в регуляції остеорепації

Біологічну активність кістковим трансплантатам надають різноманітні біологічно активні фактори. Одним із перспективних підходів є застосування збагаченої тромбоцитами плазми або фібрину завдяки вмісту в них факторів росту (тромбоцитарного (PDGF), росту ендотелію судин (VEGF), трансформувального (TGF)), які сприяють прискоренню ангіогенезу [34], міграції та проліферації клітин [35] і, відповідно, регенерації кістки [36]. Проте недоліком збагаченого тромбоцитами фібрину є його низькі біомеханічні якості й технологічні проблеми поєднання з біоматеріалами [37]. У зв'язку з цим представляється раціональнішим використання рідкої складової центрифугату крові, якою легше просочувати біоімпланти і яка, крім факторів росту, містить адгезивні білки (фібронектин і вітронектин), котрі підвищують біосумісність матеріалу [38]. Проте незрозуміло, яку кількість і яких саме факторів росту містить плазма крові за кожних

конкретних умов її отримання. Крім того, неможливо утримати у відкритій порожнині. Тому уявляється доцільним поєднати їх біоактивні якості з біомеханічними властивостями кісткових алотрансплантатів для заповнення дефектів кісток.

Ін'єкційний збагачений тромбоцитами фібрин (injectable platelet-rich fibrin – i-PRF) є рідкою формою збагаченого тромбоцитами фібрину (platelet-rich fibrin – PRF), яку отримують шляхом центрифугування крові з відносною відцентрованою силою від 200 до 700 г без антикоагулянту в нескляній пробірці (приблизно від 1300 до 2400 об/хв) [39, 40]. Використання рідкої складової центрифугату крові (i-PRF) є раціональнішим, ніж PRF через можливість просочувати біоімплантати та наявність, крім факторів росту, адгезивних білків (фібронектин і вітронектин), які підвищують біосумісність матеріалу [38]. Також перевагою використання i-PRF є вищий вміст факторів росту [39] через можливість стимуляції їхнього вивільнення завдяки більшій концентрації лейкоцитів [37]. Визначено, що i-PRF впливає на проліферацію та диференціацію фібробластів ясен та остеобластів [37, 41]. Поєднання i-PRF з алогенним матеріалом *in vitro* збільшує життєздатність, міграцію та проліферацію остеобластів людини вже на 3-й день спостереження та досягає максимального прояву на 10-й день [42]. Також у i-PRF високий вміст інтерлейкінів (ІЛ): ІЛ-4, ІЛ-6 та ІЛ-10. Тому його рекомендують використовувати в умовах гострих ушкоджень [43], оскільки ІЛ-10 знижує кількість медіаторів запалення та стимулює регенерацію ран [44], ІЛ-4 впливає на диференціацію та міграцію фібробластів [45], ІЛ-6 – на ремоделювання кісткової тканини [46]. Експериментально доведено, що i-PRF зменшує запалення, пригнічуючи диференціацію прозапального фенотипу макрофагів M1 [47].

Вміст факторів росту є ключовим моментом у використанні i-PRF. З'ясовано, що їхня кількість після центрифугування змінюється (700 об/хв, 3 хв). У клінічному дослідженні i-PRF інкубували в спеціальному середовищі для дослідження вивільнення факторів росту протягом 10 днів. Встановлено,

що рівень PDGF-AB та VEGF в i-PRF залишається найвищим з 8 до 24-ї години і поступово знижується на третю добу. Клітинний склад i-PRF представлений лейкоцитами (переважно лімфоцити) та еритроцитами протягом 7 днів. IL-10, остеокальцин та TGF- β виявлено в лейкоцитах упродовж 3 днів інкубації. Експресія колагену I типу зростала протягом 10 днів. Оцінювання вмісту лейкоцитів в i-PRF, на думку авторів, є важливим через наявність переважно в них факторів росту та інтерлейкінів [48].

У результаті центрифугування крові утворюються дві фракції i-PRF – червона та жовта, рівень факторів росту в яких відрізняється (700 об/хв, 3 хв). Залежно від терміну інкубації червоної або жовтої фракції i-PRF рівень VEGF, PDGF та TGF- β 1 змінюється. Зокрема, концентрація VEGF в обох фракціях i-PRF на 3-ю годину однакова, потім зростає, досягає піку на 3-ю добу та є найвищою в червоній фракції [49]. Рівень TGF- β 1 стає найвищим на 3-ю годину в обох фракціях однаково, а потім знижується. Вміст PDGF є найвищим на 7-у добу у червоній фракції i-PRF. Вищий рівень VEGF, PDGF та TGF- β 1 у червоній фракції i-PRF автори пов'язують з більшим вмістом у ній фібрину, на волокнах якого утримується більше лейкоцитів і тромбоцитів під час центрифугування, які й містять ці фактори. У дослідженні *in vitro* стовбурових клітин періодонтальної зв'язки виявлено, що саме червона фракція i-PRF сприяє остеогенній диференціації клітин, не викликаючи передчасну мінералізацію. Тому використання червоної фракції i-PRF, на думку авторів, є оптимальним для регенерації кістки [50].

Одним із головних чинників, який впливає на рівень факторів росту в i-PRF, є швидкість центрифугування. У більшості досліджень PRF використовують показник відносної відцентрованої сили (BBC) замість кількості обертів на хвилину через імовірність різного розміру ротору центрифуги, що впливатиме на кількість обертів, тому далі в тексті буде наведено цей показник. Концепція повільного центрифугування, результатом якої стало створення власне i-PRF, базувалася на тому, що висока швидкість центрифугування відштовхує клітини на дно пробірки та тим самим знижує

вміст факторів у рідкій частині центрифугату [51]. Доведено, що зниження ВВС з 710 до 44 г (від 2400 до 600 об/хв протягом 8 хв) сприяє підвищенню у і-PRF вмісту лейкоцитів і тромбоцитів та рівня VEGF и TGF- β 1 [52]. Аналогічні результати отримані за умов зниження ВВС з 966 г до 60 г (від 2800 до 700 об/хв протягом 3 хв) [53]. На мишах аналогічні результати отримані зі зниженням ВВС з 719 г до 222 г (2700 об/хв протягом 12 хв і 1500 об/хв протягом 14 хв) [54]. Отже, найнижчою дослідженою швидкістю центрифугування для отримання і-PRF є 600 об/хв (ВВС – 44 г) [52].

Також важливим є термін введення і-PRF після ушкодження. В експериментальному дослідженні лікування пародонтиту, викликаного шляхом накладання лігатур навколо нижнього моляра протягом 21 доби, і-PRF (3300 об./хв., 2 хв), і-PRF вводили щурам у ясна ін'єкційно на 1, 3 та 7-у добу після видалення лігатур. Виявлено зниження втрати альвеолярної кісткової тканини у щурів на 31-й день після індукції пародонтиту [55]. Аналогічні результати отримані в клінічному дослідженні, де оцінили ефект і-PRF у поєднанні з аутоімплантатом порівняно з контрольною групою без і-PRF. Використання і-PRF сприяло формуванню більшого об'єму кісткової тканини в альвеолі та знизило резорбцію кістки в пацієнтів [56]. У реконструктивній стоматології і-PRF успішно використовують, змішуючи з часточками алоімплантата перед введенням на декілька хвилин до полімеризації маси [57, 58].

Отже, досліджень *in vivo* щодо впливу і-PRF на регенерацію кістки, за виключенням щелепно-лицьових ділянок, дуже мало. Не з'ясовано вплив і-PRF на регенерацію довгих кісток скелета залежно від віку та за умов поєданого використання з алоімплантатами. Проте відомо, що експресія факторів росту та прозапальних цитокінів після перелому залежить від віку. С. G. Eriksen і співавт. [59] встановили, що в культивованих остеобластах, отриманих від осіб віком 73–85 років, експресія мРНК OPG і TGF- β 1 була нижчою, а мРНК інтерлейкіну-6 (IL-6) — вищою порівняно з особами 21–27 років. У клінічному дослідженні рівень TGF- β 1 у сироватці крові пацієнтів

старших за 50 років після перелому довгих кісток був нижчим порівняно з молодшими особами на 24 тиждень після хірургічного втручання, а у жінок — нижчим за чоловіків [60]. Показано, що протягом 6 міс. після перелому довгих кісток середній вміст у сироватці крові макрофагального колонієстимулювального фактора та VEGF вищий в осіб старшого віку та жінок [61]. Зазначене призводить до уповільнення регенерації кістки та обумовлює використання для її оптимізації біологічно активних чинників, яких не вистачає в осіб старших вікових груп.

Невідомо, яка з форм введення і-PRF (ін'єкції або полімеризація разом з алоімпланатом) та на який термін (відразу з алоімпланатом або через декілька діб) після ушкодження є оптимальною для успішної регенерації кістки. Рівень факторів росту VEGF, PDGF та TGF- β 1 та фібрину є найвищим у червоній фракції і-PRF, через що її рекомендують для оптимізації регенерації кістки. Також показано, що за швидкості центрифугування крові від 600 до 700 об/хв рівень факторів росту та інтерлейкінів є найвищим порівняно з більшою швидкістю. Проте невідомо, чи призводить це до ще більшого зниження рівня цих речовин у центрифугаті.

Таким чином, пошук способів надання або підвищення остеоіндуктивних й остеокондуктивних якостей алошенного кісткового матеріалу є актуальним науковим напрямком регенераторної медицини. Визначення реакції кістки за умов використання алоімплантаів у комбінації з мезенхімальними стромальними клітинами та факторами росту залежно від віку реципієнта дасть змогу розробити рекомендації щодо їхнього використання в клінічній практиці.

1.3 Мезенхімальні стромальні клітини

Регенерація кістки — складний процес, який залежить від багатьох фізичних і біологічних чинників. Важливим серед останніх є стан кісткової тканини на момент виникнення травми, а саме: функціональна активність її

клітин — остеобластів, остеоцитів, остеокластів, наявність достатньої кількості мезенхімальних стромальних клітин (МСК), малодиференційованих клітини ендосту та періосту. Порушення гомеостазу кісткової тканини з віком або значні руйнування кістки (вогнепальні та вибухові багатовідламкові ушкодження, дефекти після резекції пухлин тощо) обмежують її відновлювальні здатності. Використання клітинної терапії за цих умов є одним із перспективних напрямів оптимізації репаративного остеогенезу.

МСК, які мігрують у зону ушкодження кістки, здатні до проліферації та диференціації в остеогенному напрямку. На моделі перелому великогомілкової кістки мишей доведено, що через 8 тижнів (85 ± 10) % остеобластів у кістковій мозолі походять із МСК кісткового мозку [62], що свідчить про критичну роль цих клітин в остеорепації. Відповідно, недостатня кількість МСК чи змінені структурно-функціональні особливості, обумовлені віком, можуть негативно позначитися на відновленні кістки. В експериментах на мишах 2- і 24-місячного віку встановлено вікове зменшення кількості МСК і клітин-попередників остеобластів у неушкоджених і травмованих кістках [63], зниження їхніх здібностей утворювати колонії *in vitro* та диференціюватися в хондрогенному та остеогенному напрямках, а також збільшення в старих клітинах генів, які по'язані зі зменшенням кісткоутворення та підвищенням остеорезорбції [64]. Визначено, що перетворення під час старіння червоного кісткового мозку на жовтий, тобто накопичення в ньому адипоцитів, значно погіршує загоєння переломів у мишей через зменшення участі в процесі МСК кісткового мозку. У регенераті збільшується площа хрящової тканини, зменшується мінералізованої, відповідно, знижується мінеральна щільність кісткової тканини в ділянці перелому [65]. Окрім того, встановлено зниження здатності до міграції МСК (отриманих від старих донорів порівняно з молодими) у відповідь на сигнальні фактори ушкодження тканини [66]. Порушення цієї функції МСК призводить до обмеження їхньої участі у

відновлювальних процесах і ставить під загрозу загоєння тканин. Натомість експериментально встановлено, що МСК кісткового мозку щурів 6-тижневого та 9-місячного віку однаково реагують на platelet-released supernatant (PRS), підвищуючи мітогенну активність і хемотаксичну рухомість [67]. Це підтверджує можливість успішного використання факторів росту для стимуляції проліферації та міграції МСК у людей старшого віку після перелому.

Виходячи із вказаного, логічним є введення в зону незрошення або уповільненого зрощення перелому, значних за розмірами дефектів кістки додаткових культивованих МСК, які мають значний репаративний потенціал. Як свідчать нещодавно опубліковані огляди літератури [66, 68], результати багатьох досліджень на тваринах і клінічних спостережень підтверджують можливість успішного використання МСК для оптимізації репаративного остеогенезу. Використання для їхнього культивування різноманітних матриць дає змогу зберегти тканиноспецифічні властивості клітин, створити трансплантат необхідної форми та розмірів, полегшує процес трансплантації та утримання клітин у зоні ушкодження кістки. Це є особливо важливим у випадку великих за розмірами дефектів кісток, які не загоюються самостійно, коли ін'єкцій лише МСК може бути замало, оскільки відсутній каркас, до якого вони можуть прикріпитися. Як такий каркас можна використати кісткові алоімпланти, які внаслідок технічного оброблення позбавлені живих клітин та застосовуються для оптимізації репаративного остеогенезу [69].

1.4 Мінеральна щільність кісткової тканини за умов переломів і дефектів кісток

Ушкодження кісток, такі як переломи або дефекти, утворені внаслідок хірургічних втручань, можуть призводити до зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ). Встановлено, що втрата МЩКТ в ушкодженій кістці в пацієнтів старших за 50 років із переломом сягає від 9 до

19 % у термін до 24 тижнів після перелому [70–72]. У дітей виявлено втрату МЦКТ до 16,5 % у нижній кінцівці через 4 тижні після хірургічного втручання [73]. Також виявлено зниження МЦКТ стегнової кістки [74] та кульшової западини [75, 76] навколо ендопротеза після тотальної заміни кульшового суглоба.

Більш дослідженою є проблема втрати МЦКТ після переломів. Відомо, що в пацієнтів із переломом від 2 до 10 разів зростає ризик повторного перелому та є найвищим у перші два роки після перелому [77, 78]. Експериментально на мишах 3 та 12 міс. виявлено різницю у відновленні МЦКТ після перелому стегнової кістки залежно від віку [79]. У мишей обох вікових груп найбільшу втрату МЦКТ на рівні всього тіла зафіксовано в перші два тижні після перелому, а через 6 тижнів показник МЦКТ відновився до початкового лише у мишей 3-місячного віку.

Крім того, перелом спричинює втрату МЦКТ у ділянках скелета, віддалених від ушкодження. У результаті мультицентрового дослідження визначено, що в жінок із переломом в анамнезі віком старше за 75 років знижувалася МЦКТ у проксимальному відділі стегнової кістки протягом 2 років після перелому незалежно від його локалізації (верхні або нижні кінцівки) [77].

Серед причин втрати МЦКТ називають виникнення дисбалансу в ремоделюванні кістки, через що процеси резорбції домінують над формуванням кісткової тканини. Клінічно встановлено, що рівень маркерів резорбції в сироватці крові в перші від 2 до 8 тижнів після діафізарного перелому великогомілкової кістки підвищувався, а маркерів формування — знижувався та залишався низьким протягом 24 тижнів після перелому [72]. Відновлення МЦКТ у місці перелому починається лише через рік після травми, тобто, якість і механічні властивості кістки протягом цього періоду погіршені, що й обумовлює виникнення повторних переломів. Використання остеопластичних матеріалів, зокрема алогенних кісткових імплантатів, у

ділянці перелому/дефекту кістки може дати змогу локально підвищити МЩКТ в ранні терміни після операції.

1.5 Резюме

Експериментально та клінічно показано, що регенерація кісткової тканини вповільнюється з віком, що має більший прояв у жінок. Проте регуляція регенерації — це каскад сигнальних шляхів за участі макромолекул. Експресія факторів росту після перелому змінюється у старшому віці порівняно з молодшим. Зокрема, клінічно виявлено зниження експресії TGF β -1. Крім того, у пацієнтів старшого віку після перелому зафіксовано підвищення макрофагального колонієстимулювального фактора і VEGF. Також самотійно не загоюються дефекти кісток значних розмірів, які утворилися внаслідок високоенергетичних травм (вогнепальні, вибухові поранення, дорожньо-транспортна пригода тощо), після резекції пухлин, хірургічних утручань на хребті, ендопротезування.

Серед шляхів подолання сповільненої регенерації кістки не лише у випадках утворення дефектів кістки критичного розміру, а й в разі, коли власний резерв клітин-попередників остеобластів зменшується, а процес кісткового ремоделювання зміщується в бік остеорезорбції, призводячи до втрати кісткової тканини та погіршення якості кістки, що відбувається в пацієнтів похилого та старечого віку, може бути використання сучасних технологій остеопластики, клітинної та генної терапії, інгібіторів макрофагів, біологічно активних чинників на певних стадіях репаративного остеогенезу. Для клітинної терапії важливим є врахування віку донора клітин через високу ймовірність функціональних порушень у клітинах від донорів старшого віку.

2 МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

2.1 Експериментальне моделювання на тваринах

Експериментальні дослідження проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986) [80, 81]. План експериментальних досліджень ухвалено Комітетом із біоетики ДУ «ПХС ім. проф. М.І. Ситенка НАМН» (протокол № 191 від 22.04.2019).

У роботі використано 350 білих лабораторних щурів 3-місячного (188 особин) та 12-місячного (162) віку, яким моделювали дірчастий дефект у дистальному метафізі стегнової кістки. Тварин розподілили на групи залежно від використаного для пластики дефекту кістки матеріалу (рис. 2.1). Додатково використано 153 щура як донорів алогенного кісткового матеріалу.

Хірургічні втручання виконано в умовах асептики й антисептики під загальним знеболюванням (кетамін, 50 мг/кг живої маси, внутрішньом'язово). Після вистриження шерсті на лівому коліні й оброблення ділянки антисептиком Бетадин® передньо-латеральним доступом відкривали ділянку дистального метафіза стегнової кістки та за допомогою стоматологічного бора моделювали дірчастий дефект критичного розміру (рис. 2.2 б-в) — мінімальний дефект, який не загоюється самостійно протягом життя тварини чи впродовж експерименту [82]. Для дистального метафіза стегнової кістки щурів мінімальний розмір критичного дефекту названий діаметром і глибиною 2,5 мм [83], а в разі діаметру 3,5 мм та глибини 4 мм автори [84] автори пропонують вже виконувати стабілізацію пластиною. Нами обрано діаметр дефекту 3 мм, глибина 3 мм, що не потребує додаткової фіксації та перевищує мінімальний розмір критичного дефекту [83]. Циліндричні кортикально-губчасті алоімпланти відповідного

розміру розміщували в ділянці дефекту щурів усіх груп (рис. 2.2 а), за винятком групи «Незаповнений дефект» (рис. 2.1).

	14 доба		28 доба		90 доба		Σ
	3-міс	12-міс	3-міс	12-міс	3-міс	12-міс	
Незаповнений дефект	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3	n = 18
Алоімплантат	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 30
Алоімплантат+1 ін'єкція ФР	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 29
Алоімплантат+2 ін'єкції ФР	n = 5	n = 4	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 29
Алоімплантат+3 ін'єкції ФР	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	–	n = 25
Алоімплантат+МСК	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 30
Алоімплантат+МСК+ 1ін'єкція ФР	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 29
Алоімплантат+МСК+2 ін'єкції ФР	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	–	n = 25
Алоімплантат+МСК+3 ін'єкції ФР	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	–	n = 25
Алоімплантат+ФР	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 4	n = 28
Алоімплантат+ФР+1ін'єкція ФР	n = 5	n = 4	n = 5	n = 5	n = 5	n = 5	n = 29
Алоімплантат+ФР+2 ін'єкції ФР	n = 5	–	n = 5	n = 4	n = 5	n = 5	n = 24
Алоімплантат+ФР+3 ін'єкції ФР	n = 5	n = 5	n = 5	n = 4	n = 5	n = 5	n = 29
	n = 63	n = 56	n = 63	n = 61	n = 62	n = 45	n = 350

Рисунок 2.1 — Розподіл щурів по групах залежно від використаного остеопластичного матеріалу. ФР — фактори росту плазми крові.

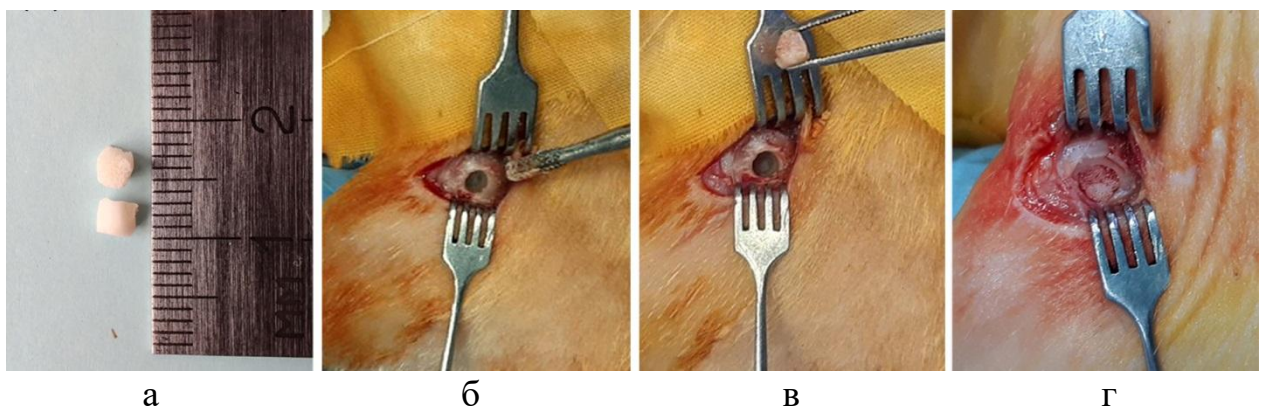


Рисунок 2.2 — Етапи виконання хірургічного втручання (б-в) для імплантації алогенного кісткового імплантата (а).

У групах Алоімплантат+ФР та Алоімплантат+МСК імплантат витримували впродовж 20 хв. перед імплантацією у 0,5 мл культурального середовища з 106 клітин або у 0,2 мл плазми крові з факторами росту. Далі, після введення в порожнину дефекту алоімплантата, решту об'єму середовища з МСК або плазми крові вводили шприцом в імплантат і ділянку хірургічного втручання (рис. 2.3).

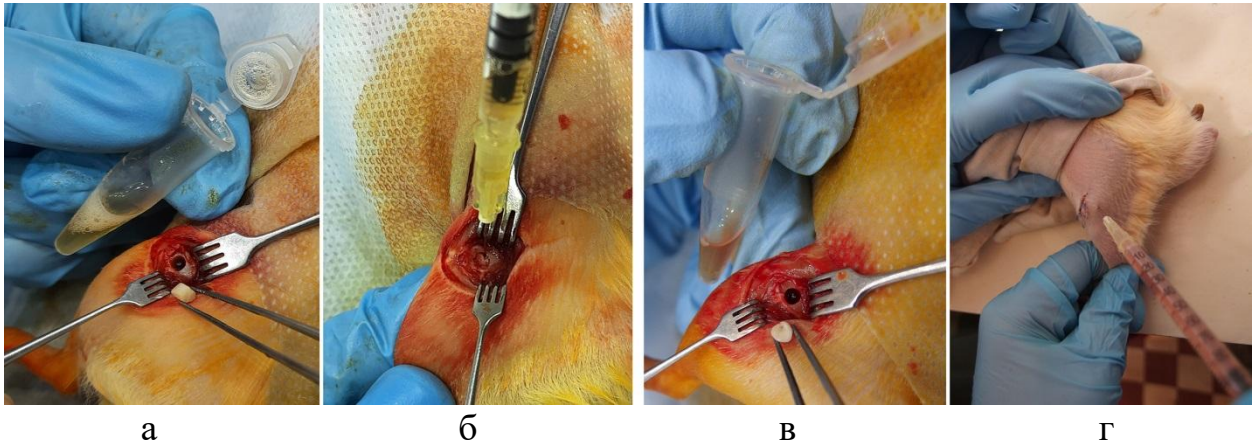


Рисунок 2.3 — а) пробірка розчином з МСК, б) введення МСК у дефект, в) алоімплантат, що був у пробірці з ФР, г) ін'єкційне введення ФР на 7-му добу після хірургічного втручання.

Після місцевої обробки антибіотиком пошарового зашивали м'язи та шкірну рану, ділянку хірургічного втручання обробляли антисептиком. Після операції тваринам відповідних груп ін'єкційно вводили по 0,2 мл плазми крові в ділянку хірургічного втручання: 1 ін'єкція — через 7 діб після операції; 2 ін'єкції — через 3 та 7; 3 — через 1, 3, 7.

Через 14, 28 і 90 діб після операції по 5 тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом. Метод евтаназії обумовлений необхідністю забору крові для біохімічного дослідження.

2.2 Методика виготовлення кісткових алоімплантатів

Методика отримання кісткових алоімплантатів (Остеоматрикс Ситенко алогенний («ОМС-А»)), сертифікат відповідності № UA. TR. 101-21-2016) регламентує виготовлення імплантатів із донорської алогенної

кістки та містить процеси механічного очищення її фрагментів від м'яких тканин, хряща й окістя; здрібнювання. Для видалення елементів крові та первинної стерилізації кістковий матеріал витримують у розчині перекису водню, для видалення жирових складових — занурюють у суміш етилового спирту із діетиловим ефіром у співвідношенні 1:1. Для зниження антигенних властивостей за рахунок екстракції залишків неколагенових білків витримують за низьких температур у розчинах солей (NaCl, Na₂HPO₄). Фрагменти кісткового матеріалу висушують за допомогою конвекційної сушки впродовж 4-5 діб.

Стерилізацію алоімплантатів проводять радіаційним випромінюванням в дозі від 15 до 25 кГр [85]. Після цього по чотири зразки з кожної партії кісткових імплантатів оцінюють за допомогою мікробіологічного дослідження. Стерильним вважають відсутність зростання колоній на поживних середовищах.

2.3 Отримання алогенних МСК

Жирову тканину отримували зі сальника щурів, переміщували зі стерильної пробірки типу Falcon 15 мл із середовищем DMEM (Biowest, Lo102-500, Франція) у співвідношенні об'єму тканини та ферментів 1 : 5. У стерильній чашці Петрі подрібнювали тканину на шматочки близько 2 мм × 2 мм, які піддавали дезагрегації в суміші ферменту колагенази I типу (Worthington, 49P19751, США) у концентрації 0,075 мг/мл і буферного розчину Dulbecco's без кальцію та магнію (Biowest, LO615-500, Франція) (співвідношення об'єму тканини та ферментів 1 : 10) та інкубували в термостаті за 37 °C упродовж 60 хв. Після цього фрагменти жирової тканини центрифугували (центрифуга Nuve NF800R, Туреччина) за 1200 g 5 хв і отримали дві фракції. У верхньому світлому шарі розташовуються адипоцити, а в осаді — клітини стромальної васкулярної фракції з домішкою гемопоетичних.

Надосадову рідину відібрали за допомогою стерильної серологічної

піпетки, а осад ресуспендували у 20 мл середовища DMEM (Biowest Lo102-500, Франція). Далі отримані клітини по $3,0 \times 10^5$ розсіяли в культуральні флакони 25 см² (TPP, 20200482, Швейцарія) із додаванням 10 % фетальної бичачої сироватки (Biowest, SOOCT100R, Франція), фільтровану два рази крізь фільтри шприцеві 0,22 мкм Millex[®]GV (Merck Millipore Ltd, SLGP033RB), та 0,01 % гентаміцину сульфату. Культуральні флакони із клітинами розміщали в CO₂-інкубаторі EC 160 (Туреччина) за температури 37 °С, вмісту CO₂ 5 % у повітрі та 95 % вологості.

Через 24 год культуральне середовище з неприкріпленими клітинами злили, флакон із прикріпленими — промили середовищем DMEM. Після чого додали свіже середовище DMEM із 10 % фетальної бичачої сироватки і 0,01 % гентаміцину сульфату і змінювали його кожні 3 доби.

Після утворення монослою клітин на 9-ту добу їх знімали шляхом інкубації упродовж 5 хв у підігрітій до 37 °С суміші 0,25 % трипсину (Biowest, X0915-100, Франція) з 0,02 % розчином Версену (ТОВ «ВЕТЛАЙН АГРОСАЄНС», Україна) у співвідношенні 1:9, ресуспендували в культуральному середовищі й осаджували центрифугуванням за 1000 об/хв упродовж 10 хв. Оцінили концентрацію клітин у камері Горяєва за допомогою мікроскопа MC-100X MICROS і знову розсіяли по $3,0 \times 10^5$ клітин у кожен культуральний флакон.

Через 7; 8; 9 діб культивування клітини зняли та перенесли в стерильні мікропробірки у кількості $1,0 \times 10^6$ на 0,5 мл культурального середовища (DMEM із додаванням 10 % фетальної бичачої сироватки) для просочування імплантатів і введення в дефекти щурів. Життєздатність клітин оцінювали на кожному етапі після зняття з культурального флакону за допомогою фарбування трипановим синім.

2.4 Отримання збагаченої тромбоцитами плазми

Клінічний матеріал

У дослідженні взяли участь 20 здорових добровольців волонтерів двох

вікових груп: 10 осіб віком 20-29 років та 10 осіб – 60-69 років. Усі учасники дослідження підписали інформовану згоду на участь у дослідженні.

Експериментальний матеріал

Для виконання методики виконали забір крові у 30 щурів 3-, 6- та 12-місячного віку по 10 тварин у кожній групі.

Забір крові

Виконували забір 8 мл венозної крові у вакуумну пробірку на 8,5 мл із антикоагулянтном. Вакуумну пробірку з кров'ю центрифугували у лабораторній клінічній центрифугі ОПн-3.02 «ДАСТАН» (ИЛГК.061214.009, ГОСТ 12.2.025-76) 1500 об/хв протягом 10 хв (перший етап), потім з неї стерильною пастерівською піпеткою відбирали плазму (надосадову фракцію), переносили в градуйовану стерильну пробірку, яку потім знов центрифугували 3000 об/хв протягом 10 хв (другий етап). Після закінчення маніпуляції пастерівськими піпетками відбирали бідну тромбоцитами плазму (надосадову фракцію), а залишену на дні пробірки збагачену тромбоцитами плазму використовували для подальших досліджень.

2.5 Гістологічні дослідження

Для гістологічного дослідження в щурів виділяли прооперовані стегнові кістки, очищували від м'яких тканин і фіксували протягом 4 діб у 10 % нейтральному формаліні. Після промивання водопровідною водою кістки декальцинували у 5 % розчині трихлороцетової кислоти [86], промивали в етиловому спирті, вирізали метафізи з ділянкою дефекту, зневоднювали в ізопропіловому спирті. Просочували в суміші ізопропілового спирту та парафіну, потім – серії парафінів, заливали в парафін [87]. Зрізи виготовляли на санному мікротомі Reichert, забарвлювали гематоксиліном і еозином і за методом Гольднера. Метод дозволяє диференціювати зрілий мінералізований (забарвлюється зеленим, як і кальцифікований хрящ) та незрілий (забарвлюється червоним, як і м'язи) кістковий матрикс [86].

Структуру клітин і міжклітинної речовини в ділянці модельованого

дефекту та навколо імплантованого кісткового матеріалу аналізували у світловому мікроскопі Olympus VX63 (Японія). Для фотографування використано цифрову камеру DP73 (Olympus) і програмне забезпечення «Cell Sens Dimension 1.8.1» (Olympus, 2013).

Гістоморфометрію площ тканин регенерату в ділянці імплантації виконано з використанням програмного забезпечення «Cell Sens Dimension 1.8.1» (Olympus, 2013). Вимірювали площі новоутворених тканин (кісткової та сполучної) та імплантатів (на 7 центральних зрізах у кожної тварини), потім розраховували їхній відносний вміст (%) від загальної площі дефекту.

2.6 Біохімічні дослідження сироватки крові

Для біохімічних досліджень отримували кров після декапітації тварин і в сироватці крові визначали [88, 89]:

- вміст глікопротеїнів за модифікованим методом О.П. Штенберга та Я.Н. Доценко (реакція з $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ у сірчаноокислотному середовищі);
- вміст хондроїтинсульфатів за методом Nemeth–Csoka у модифікації Л.І. Слущького (реакція з риванолом);
- вміст загального білка біуретовим методом за допомогою набору
- вміст кальцію потенціометричним методом з використанням аналізатора електродитів АСК-01;
- активність лужної фосфатази кінетичним колориметричним методом за допомогою набору «ALP–DEA–DAC» («DAC-SpectroMed», Молдова);
- активність кислої фосфатази за реакцією з діетаноламіном кінетичними методами згідно з інструкцією «Кисла фосфатаза – кін Сп.Л»;
- вміст остеокальцину за методом твердо фазного імуноферментного аналізу за допомогою набору «N-MID[®]-osteocalcin-1-beta».

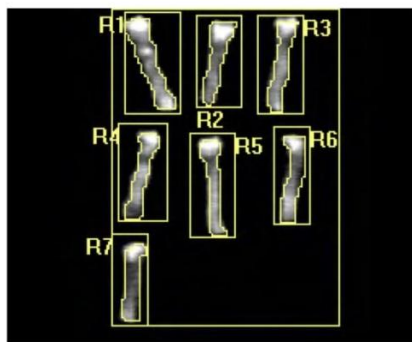
Дослідження виконані з використанням електрофотоколориметру «КФК-3» та аналізатора біохімічного «GBG STAT FAX 1904 Plus».

Оцінено показники: індекс мінералізації (відношення лужної до кислої фосфатази), а також ступінь мінералізованості (відношення вмісту кальцію

(для цього перераховано одиниці вимірювання ммоль/л в г/л) до вмісту білку).

2.7 Визначення мінеральної щільності кісткової тканини

МЩКТ стегнових кісток щурів визначали за допомогою двохенергетичної рентгенівської абсорбціометрії (ДРА) на кістковому денситометрі «Explorer QDR W» (Hologic) після завершення експерименту. Виділяли й оцінювали оперовані стегнові кістки тварин усіх експериментальних груп. МЩКТ виражали в г/см^2 (показник BMD, англ. – bone mineral density) (рис. 2.4).



k = 1.171, d0 = 78.7
71 x 98
DAP: 3.5 cGy*cm²

Scan Information:

Scan Date: 13 July 2020 ID: A0713200T
Scan Type: d Lumbar Spine
Analysis: 13 July 2020 14:36 Version 13.3.0.1:3
Subregion Array Spine
Operator:
Model: Explorer (S/N 91295)

DXA Results Summary:

Region	Area (cm ²)	BMC (g)	BMD (g/cm ²)
GLOBAL	10.18	1.93	0.190
R1	1.83	0.35	0.193
R2	1.46	0.26	0.181
R3	1.39	0.25	0.184
R4	1.36	0.26	0.191
R5	1.44	0.28	0.193
R6	1.44	0.25	0.175
R7	1.28	0.27	0.214
Net	10.18	1.93	0.190

ACF = 0.979, BCF = 0.976, TH = 0.076

Рисунок 2.4 — ДРА-скан стегнових кісток щурів з алоімплантатом через 14 діб після операції.

Для порівняння взято по 5 6- та 15-місячних інтактних щурів, тобто такого віку, який відповідав віку тварин експериментальних груп (із незаповненим дефектом і пластиком алогенним кістковим матеріалом) на кінцевий термін дослідження — 90 діб.

2.8 Імуноферментний аналіз факторів росту в плазмі крові

Методом твердофазного імуноферментного аналізу в аутологічній

збагаченій тромбоцитами плазмі експериментальних щурів та здорових добровольців волонтерів визначали вміст фактору росту ендотелію судин (VEGF) та тромбоцитарного фактору росту (PDGF) на кожному з двох етапів центрифугування. Дослідження виконані з використанням аналізатору імуноферментного «LisaScan» (Erba[®] Diagnostics Mannheim GmbH, Німеччина) у відповідності до інструкцій виробників наборів:

– rVEGF-C ELISA (IBL International GmbH, Німеччина) – для кількісного визначення VEGF-C щурів у культурі клітин, сироватці та плазмі;

– VEGF-A ELISA (IBL International GmbH, Німеччина) – для кількісного визначення людського VEGF-A;

– PDGF-BB ELISA та TGF-beta 1 ELISA (IBL International GmbH, Німеччина) – для кількісного визначення відповідних факторів у культурі клітин, сироватці та плазмі людини.

– Rat PDGF-BB ELISA Kit та Rat TGF- β 1 ELISA Kit (IBL International GmbH, Німеччина) – для кількісного визначення відповідних факторів у культурі клітин, сироватці та плазмі щурів.

2.9 Статистичні методи

Аналіз даних був виконаний з використанням програм «IBM SPSS Statistics 20» та «Microsoft Office Excel 2007». Результати вимірювань представлені як середнє та стандартне відхилення у випадку нормального розподілу або як медіана та квартилі (25 %, 75 %) у випадку розподілу, що відрізнявся від нормального. Нормальність розподілу перевіряли з використанням методу Колмогорова-Смірнова. Порівняння результатів різних груп із нормальним розподілом виконували за методом t-критерій Стьюдента (порівняння двох груп). У групах з розподілом, який відрізнявся від нормального для порівняння двох груп використовували аналіз Манна-Уїтні, а для трьох груп – аналіз Краскела-Уолліса. У випадку використання аналізу Краскела-Уолліса у трьох групах, якщо виявляли статистично значиму різницю, то порівнювали групи між собою (по дві) за методом

Манна-Уїтні. Під час аналізу впливу кількості етапів центрифугування на концентрацію фактору росту у плазмі крові використовували критерій знакових рангів Уїлкоксона для пов'язаних вибірок. Різницю вважали статистично значущою за умови якщо $p < 0,05$.

3 СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТЕГНОВИХ КІСТОК ЩУРІВ ЗА УМОВ ВІДТВОРЕННЯ В МЕТАФІЗІ ДЕФЕКТІВ БЕЗ АБО З ПЛАСТИКОЮ АЛОГЕННИМИ КІСТКОВИМИ ІМПЛАНТАТАМИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ

3.1 Остеорепарація після виконання транскортикальних дефектів критичного розміру в метафізі стегнової кістки щурів

14 діб після відтворення дефекту

Через 14 діб після операції за в дефектах щурів обох вікових груп визначено формування грубоволокнистих кісткових трабекул дрібно-петлястої структури, фіброретикулярної тканини остеогенного типу та грануляційної тканини (рис. 3.1 а, г). Кісткові трабекули формувалися по периметру дефекту на межі з материнською кісткою. На них густо розташовувалися яскраво забарвлені остецити з великими гіпохромними ядрами. На зовнішній поверхні новоутворених кісткових трабекул містилися функціонально активні остеобласти. Ближче до центральної частини дефекту містилася сполучна тканина, між пучками колагенових волокон у якій розташувалися клітини остеобластичного та фібробластичного диферонів. Ця тканина була відмежована від новоутвореної кісткової шаром функціонально активних остеобластів, більш вираженим у щурів 3-місячного віку. Грануляційна тканина розташовувалася в центральних відділах дефекту, містила значну кількість кровоносних капілярів, малодиференційовані клітини, клітини фібробластичного диферону, макрофаги, нейтрофіли. Зона дефекту у корковому шарі була заповненою грануляційною та сполучною тканинами.

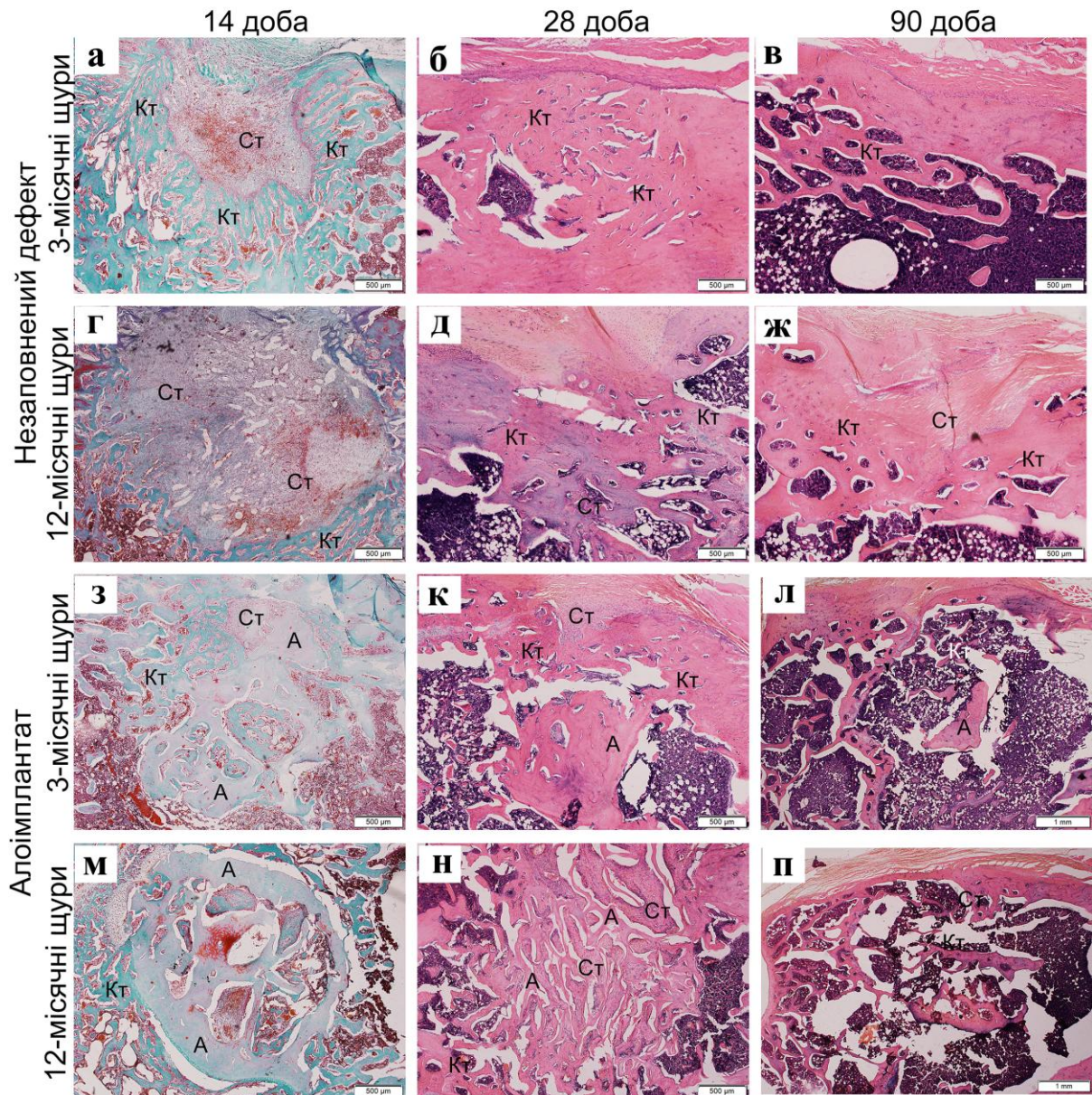


Рисунок 3.1 — Гістологічна картина дистальних метафізів стегнових кісток щурів різного віку через 14 (а, г, з, м) (забарвлення за Гольднером), 28 (б, д, к, н) і 90 (в, ж, л, п) (гематоксилін та еозин) діб після операції: утворення кісткової тканини в незаповнених дефектах (а-ж); перебудова алоімплантатів із утворенням кісткової тканини (з-п).

Установлено, що відносний вміст утворених у ділянці дефекту тканин залежав від віку тварин (табл. 3.1). Зокрема, у щурів 12-місячного віку порівняно з молодшою групою виявлено менше у 2,4 раза ($p = 0,0001$) кісткової тканини та, навпаки, більше сполучної тканини у 2,1 раза ($p = 0,005$). Під час виконання гістоморфометричних досліджень до сполучної тканини відносили сумарно грануляційну та фіброретикулярну.

Таблиця 3.1 – Відносний вміст (%) тканин у ділянці травматичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки щурів

Термін після операції (доба)	Тип тканини або імплантат	Група тварин			
		Незаповнений дефект		Алоімплантат	
		3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
14	Імплантат	–	–	18,11 ± 10,62	14,85 ± 6,16 p ₁ = 0,698
	сполучна тканина	11,17 ± 10,48	27,23 ± 19,07 p ₁ = 0,005	9,79 ± 9,36 p ₂ = 0,632	8,44 ± 4,54 p ₁ = 0,461 p ₂ = 0,0001
	кісткові трабекули	32,33 ± 7,90	15,07 ± 2,39 p ₁ = 0,0001	20,20 ± 11,25 p ₂ = 0,004	14,23 ± 4,75 p ₁ = 0,035 p ₂ = 0,526
	кістковий мозок	56,50 ± 17,56	57,71 ± 19,42 p ₁ = 0,799	51,89 ± 12,95 p ₂ = 0,272	62,48 ± 6,95 p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,659
28	Імплантат	–	–	18,40 ± 11,26 p ₃ = 0,862	14,04 ± 11,42 p ₁ = 0,231 p ₃ = 1,000

Продовження табл. 3.1

1	2	3	4	5	6
28	сполучна тканина	3,53 ± 2,35 p ₃ = 0,015	1,33 ± 1,21 p ₁ = 0,007 p ₃ = 0,110	2,20 ± 2,14 p ₂ = 0,076 p ₃ = 0,0001	4,94 ± 5,76 p ₁ = 0,620 p ₂ = 0,209 p ₃ = 0,045
	кісткові трабекули	29,02 ± 2,41 p ₃ = 0,687	25,81 ± 6,22 p ₁ = 0,198 p ₃ = 0,0001	18,05 ± 5,40 p ₂ = 0,0001 p ₃ = 1,000	15,06 ± 7,46 p ₁ = 0,156 p ₂ = 0,0001 p ₃ = 1,000
	кістковий мозок	67,45 ± 3,35 p ₃ = 0,070	72,86 ± 6,64 p ₁ = 0,052 p ₃ = 0,016	61,35 ± 11,54 p ₂ = 0,195 p ₃ = 0,024	65,97 ± 6,73 p ₁ = 0,231 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,265
90	Імплантат	–	–	10,66 ± 4,88 p ₃ = 0,038 p ₄ = 0,009	9,89 ± 3,73 p ₁ = 0,578 p ₃ = 0,007 p ₄ = 0,136
	сполучна тканина	0,0 p ₃ = 0,0001 p ₄ < 0,001	0,36 ± 0,78 p ₁ = 0,319 p ₄ = 0,031	0,20 ± 0,50 p ₂ = 0,501 p ₃ = 0,0001 p ₄ = 0,001	3,79 ± 2,20 p ₁ = 0,0001 p ₂ = 0,0001 p ₃ = 0,005 p ₄ = 0,414

Продовження табл. 3.1

1	2	3	4	5	6
90	кісткові трабекули	$22,82 \pm 7,94$ $p_3 = 0,004$ $p_4 = 0,022$	$25,89 \pm 5,74$ $p_1 = 0,713$ $p_4 = 0,975$	$18,85 \pm 5,74$ $p_2 = 0,099$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 0,652$	$17,86 \pm 5,52$ $p_1 = 0,581$ $p_2 = 0,002$ $p_3 = 0,184$ $p_4 = 0,186$
	кістковий мозок	$77,18 \pm 7,94$ $p_3 = 0,0001$ $p_4 = 0,001$	$73,75 \pm 6,34$ $p_1 = 0,671$ $p_4 = 0,740$	$70,29 \pm 7,30$ $p_2 = 0,070$ $p_3 = 0,0001$ $p_4 = 0,006$	$68,46 \pm 5,29$ $p_1 = 0,372$ $p_2 = 0,019$ $p_3 = 0,013$ $p_4 = 0,200$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників відносної площі тканин між групами різного віку на однаковий термін спостереження.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників відносної площі тканин у дефектах стегнової кістки щурів з групою з алоімплантатом на однаковий термін спостереження;

Примітка 3. p_3 – порівняння показників відносної площі тканин у щурів одного віку та типу дефекту на різний термін спостереження з 14-ю добою.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників відносної площі тканин у щурів одного віку та типу дефекту на різний термін спостереження з 28-ю добою.

28 днів після відтворення дефекту

Через 28 днів після операції в дефектах суттєво зменшився вміст сполучної тканини – в 3,16 ($p < 0,05$) і 20,47 ($p < 0,001$) разів відповідно у 3- та 12-місячних щурів (табл. 3.1). У тварин молодшої групи вона розташовувалася подекуди між новоутвореними кістковими трабекулами в центральних відділах дефекту, у старших – займала переважно територію дефекту в кортексі (рис. 3.1, б, д).

Відносний вміст новоутворених кісткових трабекул у дефекті суттєво не відрізнявся у тварин різних вікових груп. Проте встановлені їхні якісні відмінності (рис. 3.1, б, д). Зокрема, в дефектах стегнових кісток щурів 3-місячного віку кісткові трабекули були пластинчастої структури з рівномірно забарвленим матриксом, рівномірним розподілом та значною густиною яскраво забарвлених остеоцитів; у міжтрабекулярних просторах формувалася червоний кістковий мозок. У дефектах щурів 12-місячного віку новоутворені кісткові трабекули мали нерівномірно забарвлений матрикс, що свідчить про неоднорідність процесів мінералізації. У деяких виявлено осередки без клітин, базофілію цементних ліній, утворення тріщин, що відображає деструктивні процеси в регенераті. У міжтрабекулярних просторах формувалася червоний і жовтий кістковий мозок.

90 днів після відтворення дефекту

Через 90 днів після операції за даними гістоморфометрії не виявлено різниці між відносним вмістом тканин у ділянках дефектів щурів різних вікових груп. Зафіксовано формування коркового шару та кісткових трабекул пластинчастої структури на рівні дефекту спонгіози. Проте у тварин старшої вікової групи ділянка дефекту кортексу була заповнена сполучною тканиною (рис. 3.1, в, ж), а анатомічна будова дистального метафізу стегнової кістки виявилася порушеною (рис. 3.2, а, б). У тварин 3-місячного віку анатомія кістки залишалася майже незмінною, проте відмічено передчасне закриття наросткової зони з боку утворення дефекту, що з часом може призвести до виникнення різниці довжини кінцівок (рис. 3.2, а). Таким чином,

репаративний процес у незаповнених метафізарних дефектах стегнових кісток критичного розміру у щурів обох вікових груп має однакову спрямованість. Проте виявлено уповільнення формування кісткової тканини у щурів старшого віку на 14-у добу (стадія утворення тканинно-специфічних структур) з утворенням суттєво більших територій сполучної тканини порівняно з молодшими тваринами.

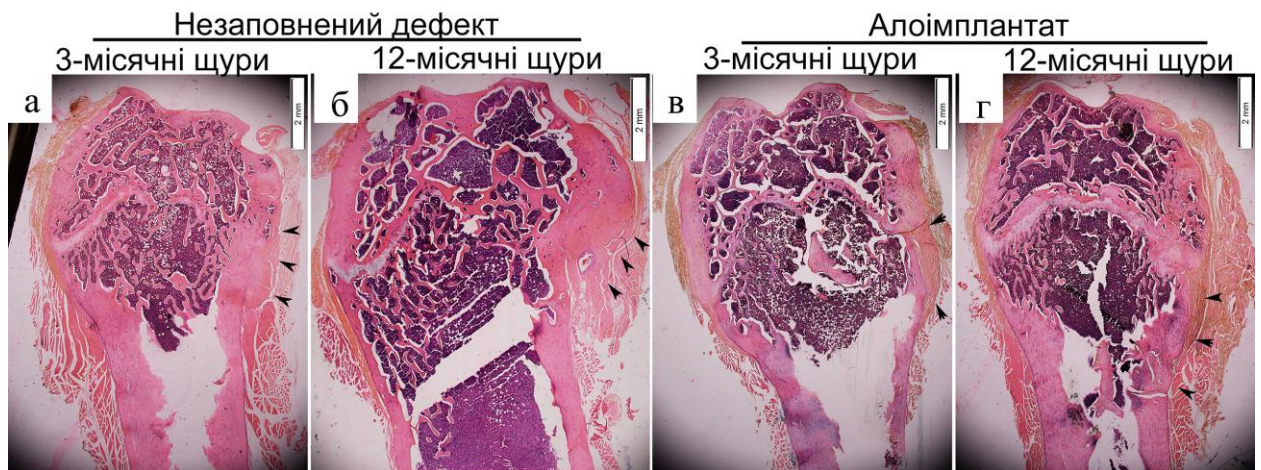


Рисунок 3.2 – Порушення анатомічної будови стегнової кістки у випадку незаповненого дефекту (а, б) порівняно групами з заповненням алоімплантатом (в, г) через 90 діб після хірургічного втручання.

На пізніших термінах спостереження (28 та 90 діб) відносна площа новоутвореної кісткової тканини не відрізнялася у вікових групах. Але відмічено затримку формування коркового шару у старших щурів через 28 діб після операції (стадія перебудови регенерату), деструктивні процеси в регенераті на рівні спонгіози: нерівномірність забарвлення матриксу новоутворених кісткових трабекул, осередки без клітин, базофілію цементних ліній, утворення тріщин. Вказані особливості стали причиною порушення анатомічної будови стегнової кістки на рівні метафіза на 90 діб.

Водночас у молодших щурів анатомічна форма дистального метафіза стегнової кістки виявилася майже незміненою, але відмічено передчасне закриття наросткової зони з боку утворення дефекту.

3.2 Особливості будови стегнової кістки щурів після заповнення транскортикальних дефектів критичного розміру в метафізі алогенним кістковим матеріалом

14 діб після відтворення дефекту

У щурів обох вікових груп на гістологічних зрізах чітко виявлявся алогенний кістковий матеріал, навколо якого та в його «міжтрабекулярних просторах» зафіксовано утворення молодої кісткової та сполучної тканин, хондроїду (рис. 3.1, з, м).

Зновсформована кісткова тканина складалася з дрібнопетлястих кісткових трабекул грубоволокнистої структури з підвищеною густиною великих остеоцитів, лакуни в частині з яких не візуалізували. Тобто, ці клітини за структурою та функцією були близькі до остеобластів і, відповідно, брали активну участь у синтезі компонентів матриксу. Зона дефекту в корковому шарі була заповнена дрібнопетлястими кістковими трабекулами та сполучною тканиною.

За відносною площею алоімпланат і сполучна тканина не відрізнялися у групах тварин різного віку. Проте в старшій віковій групі з алоімпланатом відносна площа сполучної тканини була в 3,2 раза меншою ($p < 0,0001$) порівняно з незаповненим дефектом, що є позитивною ознакою для подальшої остеорепації. Відносна площа новоутвореної кісткової тканини була в 1,4 раза ($p = 0,035$) меншою у старших тварин з алоімпланатом порівняно з молодшими (табл. 3.1).

28 діб після відтворення дефекту

На цей період спостереження у щурів обох вікових груп виявляли алоімпланат у ділянці дефекту (рис. 3.1, к, н). Його відносна площа не відрізнялася від показника на 14-ту добу. Також не встановлено різниці між відносною площею алоімплантата, сполучної та кісткової тканини, кісткового мозку у тварин різних вікових груп (табл. 3.1).

Процес перебудови алоімплантатів відображувала наявність у їхніх «міжтрабекулярних просторах» по всій території та по зовнішньому

периметру молоді кiсткової тканини, яка нашаровувалася безпосередньо на алоiмплант. Подекуди на трабекулах алоiмплантата мiстилися багатоядернi клiтини чужорiдних тiл типу остеокластiв, якi брали участь у його резорбцiї. Крім кiсткових трабекул, у внутрiшнiх «мiжтрабекулярних просторах» алоiмплантатiв виявляли сполучну тканину рiзного ступеня зрiлостi, кровоноснi капiляри, малодиференцiйованi клiтини, фiбробласти.

90 дiб пiсля вiдтворення дефекту

На цей перiод спостереження порiвняно з 14-ю добою визначено зменшення вiдносної площi алоiмплантата в 1,5 ($p = 0,007$) i 1,7 ($p = 0,038$) рази у 12- та 3-мiсячних щурiв вiдповiдно. Сполучну тканину в дiлянцi дефекту молодших тварин майже не виявляли, у старших її вiдносна площа зменшилася порiвняно з 14-ю добою у 2,2 рази ($p = 0,005$) (табл. 3.1). Бiльшу частину дефекту займали кiстковi трабекули, у мiжтрабекулярних просторах розташовувався червоний i жовтий кiстковий мозок. У 3-мiсячних тварин сформувався корковий шар, який був тоншим порiвняно з неушкодженим. У 12-мiсячних щурiв у дiлянцi дефекту кортексу разом iз кiстковою тканиною спостерiгали дiлянки сполучної (рис. 3.1, п). Анатомiчна будова кiстки вiдповiдала нормальнiй у тварин обох вiкових груп (рис. 3.2, в, г).

Таким чином, у результатi морфологiчного дослiдження визначено, що за умов використання для пластики дефектiв критичного розмiру в метафiзi стегнової кiстки щурiв кiсткових алоiмплантатiв процес їхньої перебудови триває i через 90 дiб пiсля операцiї та супроводжується утворенням кiсткової тканини та збереженням анатомiчної будови кiстки. Незважаючи на те, що у старшiй вiковiй групi на 14-у добу вiмiст сполучної тканини в дефектi у тварин з алоiмплантатом був у 3,2 рази меншим ($p < 0,0001$) порiвняно з незаповненим дефектом, вiдносна площа новоутвореної кiсткової тканини в них була в 1,4 рази ($p = 0,035$) меншою порiвняно з молодшими щурами, яким встановлено алоiмплантат. Тобто, введення алоiмплантата сприяло покращенню регенерацiї кiсткової тканини у старших щурiв порiвняно з показниками групи з незаповненим дефектом, але все одно кiсткоутворення уповiльнене порiвняно з молодшою групою на 14-ту добу. Через 90 дiб пiсля хiрургiчного втручання у

щурів обох вікових груп не відбулося повної перебудови імплантата, утворений кірковий шар у 3-місячних щурів був нерівномірної товщини, у 12-місячних – містив осередки сполучної тканини. Усе це негативно відбивається на механічних якостях кістки та може спричинити повторний перелом. Уникнути негативних наслідків може допомогти стимуляція регенерації кістки шляхом використання біологічно активних чинників, зокрема, факторів росту плазми крові та МСК.

3.3 Результати біохімічного дослідження сироватки крові щурів різного віку після моделювання в метафізі стегнової кістки незаповненого дефекту або з його пластикою аlogenними кістковими імплантатами

Порівняння у вікових групах

У процесі порівняння результатів біохімічних досліджень сироватки крові щурів після моделювання *незаповненого дефекту* критичного розміру не виявлено різниці між показниками щурів 3- та 12-місячного віку на однаковий термін дослідження (14, 28, 90 діб) (табл. 3.2). На відміну від цього за умов використання для пластики дефекту *алогенних кісткових імплантатів* визначено суттєві відмінності за вмістом у тварин різних вікових груп глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів, лужної фосфатази. Зокрема, у щурів 12-місячного віку рівень глікопротеїнів був нижчим в 1,1 раза ($p = 0,008$) через 14 діб, після імплантації, вищим в 1,4 раза ($p = 0,008$) і 1,2 раза ($p = 0,032$) через 28 і 90 діб відповідно. Це відображує підвищення в них порівняно з 3-місячними щурами на пізніші терміни експерименту вуглеводних і білкових сполук, які утворюються на стадії запалення, початковій перебудові сполучної тканини, і може бути наслідком більшого вмісту сполучної тканини в ділянці імплантації, зафіксованого в гістологічних дослідженнях. Також у тварин старшого віку через 14 діб після імплантації визначено підвищений рівень хондроїтинсульфатів в 1,3 раза ($p = 0,008$) та знижений в 1,8 раза ($p = 0,016$) — лужної фосфатази, що свідчить про затримку утворення в них кісткової тканини. Показник загального білка та кальцію не відрізнялися у вікових групах на жоден із термінів спостереження (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 — Біохімічні показники сироватки крові щурів різного віку після моделювання дефекту в метафізі стегнової кістки з використанням або без алогенних кісткових імплантатів (Me, (25 %; 75 %))

Термін після втручання (доба)	Показники	Групи щурів			
		Незаповнений дефект		Алоімплантат	
		3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
14	Глікопротеїни, г/л	0,76 (0,68; 0,78)	0,68 (0,62; 0,70) p ₁ = 0,200	0,92 (0,88; 0,97) p ₂ = 0,016	0,81 (0,78; 0,84) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,016
	Загальний білок, г/л	63,8 (59,4; 79,3)	62,1 (59,6; 65,6) p ₁ = 0,686	56,7 (54,9; 63,4) p ₂ = 0,190	65,7 (60,4 (67,3) p ₁ = 0,151 p ₂ = 0,730
	Са, ммоль/л	2,26 (2,12; 2,46)	2,23 (2,13; 2,31) p ₁ = 0,886	2,02 (2,01; 2,23) p ₂ = 0,190	2,30 (2,15; 2,35) p ₁ = 0,151 p ₂ = 0,556
	Хондроїтинсульфати, г/л	0,367 (0,204; 0,410)	0,331 (0,181; 0,417) p ₁ = 0,886	0,300 (0,306; 0,350) p ₂ = 0,730	0,384 (0,374; 0,399) p ₁ = 0,008 p ₂ = 1,000
	Лужна фосфатаза, Е/л	400,0 (347,3; 468,5)	318,5 (271,5; 760,0) p ₁ = 0,486	543,0 (496,0; 628,0) p ₂ = 0,032	295,0 (276,0; 416,0) p ₁ = 0,016 p ₂ = 0,730

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
28	Глікопротеїни, г/л	0,56 (0,0; 0,58)	0,65 (0,56; 0,70) p ₁ = 0,200	0,67 (0,64; 0,71) p ₂ = 0,036 p ₅ = 0,008	0,95 (0,87; 1,07) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,036 p ₅ = 0,008
	Загальний білок, г/л	67,3 (7,3; 72,4)	74,8 (74,4; 89,3) p ₁ = 0,100	64,1 (61,0; 70,1) p ₂ = 0,250 p ₅ = 0,095	68,4 (60,8; 70,4) p ₁ = 0,841 p ₂ = 0,036 p ₅ = 0,421
	Са, ммоль/л	2,35 (2,35; 2,38)	2,4 (2,38; 2,60) p ₁ = 0,100	2,27 (2,18; 2,36) p ₂ = 0,250	2,37 (2,16; 2,38) p ₁ = 0,841 p ₂ = 0,036
	Хондроїтинсульфати, г/л	0,262 (0,177; 0,314)	0,172 (0,167; 0,184) p ₁ = 0,200	0,189 (0,160; 0,247) p ₂ = 0,393 p ₅ = 0,008	0,147 (0,094; 0,193) p ₁ = 0,151 p ₂ = 0,250 p ₅ = 0,008
	Лужна фосфатаза, Е/л	439,0 (421,0; 726,0)	514,0 (433,0; 869,0) p ₁ = 0,700	348,0 (339,5; 426,0) p ₂ = 0,143 p ₅ = 0,016	502,0 (369,0; 914,5) p ₁ = 0,056 p ₂ = 0,786 p ₅ = 0,032

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
90	Глікопротеїни, г/л	0,70 (0,66; 0,70) p ₃ = 0,057	0,73 (0,70; 0,90) p ₁ = 0,200 p ₃ = 0,085	0,80 (0,77; 0,85) p ₂ = 0,03 p ₅ = 0,008 p ₅ = 0,008	0,93 (0,86; 1,14) p ₁ = 0,032 p ₂ = 0,143 p ₅ = 0,016 p ₅ = 1,000
	Загальний білок, г/л	71,9 (67,10; 86,40) p ₃ = 0,314	74,6 (63,50; 77,50) p ₁ = 1,000 p ₃ = 0,055	76,7 (69,9; 93,0) p ₂ = 0,571 p ₅ = 0,008 p ₅ = 0,032	75,6 (68,8; 96,4) p ₁ = 1,000 p ₂ = 0,571 p ₅ = 0,032 p ₅ = 0,056
	Са, ммоль/л	2,38 (2,35; 2,55) p ₃ = 0,251	2,40 (2,25; 2,45) p ₁ = 1,000 p ₃ = 0,071	2,41 (2,38; 2,55) p ₂ = 1,000 p ₃ = 0,113	2,38 (2,33; 2,42) p ₁ = 0,310 p ₂ = 0,393 p ₃ = 0,776
	Хондроїтинсульфати, г/л	0,167 (0,164; 0,242) p ₃ = 0,283	0,115 (0,100; 0,135) p ₁ = 0,100 p ₃ = 0,400	0,155 (0,141; 0,188) p ₂ = 0,393 p ₅ = 0,008 p ₅ = 0,222	0,173 (0,167; 0,196) p ₁ = 0,222 p ₂ = 0,036 p ₅ = 0,008 p ₅ = 0,222

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6
90	Активність лужної фосфатази, Е/л	311,0 (271,0; 379,0) $p_3 = 0,051$	0,450 (0,408; 0,521) $p_1 = 0,100$ $p_3 = 0,407$	278,0 (244,5; 308,5) $p_2 = 0,393$ $p_5 = 0,008$ $p_5 = 0,008$	312,0 (240,5; 442,5) $p_1 = 0,690$ $p_2 = 0,250$ $p_5 = 0,841$ $p_5 = 0,056$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників щурів різного віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників з групою з незаповненим дефектом щурів однакового віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників на різних термінах дослідження у щурів однакового віку та типу дефекту.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників на різних термінах дослідження щурів одного віку та типу дефекту з 14-ю добою дослідження.

Примітка 5. p_5 – порівняння показників на різних термінах дослідження щурів одного віку та типу дефекту з 28-ю добою дослідження.

Порівняння у групах з алоімплантатом і незаповненим дефектом

У щурів 3-місячного віку з встановленим кістковим алоімплантатом рівень глікопротеїнів був вищим на всі терміни дослідження порівняно з групою з незаповненим дефектом: 14 діб — в 1,2 раза ($p = 0,016$), 28 — в 1,5 раза ($p = 0,036$), 90 — в 1,2 раза ($p = 0,032$), що можна пояснити відповіддю організму на введення чужорідного матеріалу. При цьому з перебігом часу досліджуваний показник у групі з імплантатом знижувався: в 1,4 раза ($p = 0,008$) через 28 діб і в 1,2 раза ($p = 0,008$) через 90 діб порівняно з 14-ю добою.

Активність лужної фосфатази у тварин з алоімплантатом була вищою в 1,4 раза ($p = 0,032$) через 14 діб після операції порівняно з групою з незаповненим дефектом і не відрізнялася на інші терміни спостереження, проте знижувалася з перебігом часу: через 28 діб — в 1,6 раза ($p = 0,016$), через 90 — в 1,9 раза ($p = 0,008$) порівняно з 14 добою.

Це можна пояснити підвищенням кісткоутворенням до 14-ї доби експерименту та, відповідно, значною функціональною діяльністю остеобластів і зниженням активності процесу в подальшому, коли відбувається реорганізація регенерату.

Рівні кальцію, загального білка та хондроїтинсульфатів не відрізнялися у групах щурів 3-місячного віку з алоімплантатом і незаповненим дефектом. У тварин з алоімплантатом рівень хондроїтинсульфатів змінювався з перебігом часу: був нижчим порівняно з 14-ю добою в 1,6 раза ($p = 0,008$) через 28 діб, в 1,9 раз ($p = 0,008$) — через 90, не відрізнявся між термінами 28 і 90 діб (табл. 3.2).

У щурів 12-місячного віку зі встановленим кістковим алоімплантатом рівень глікопротеїнів виявився вищим в 1,2 раза ($p = 0,016$) через 14 діб, в 1,5 раза ($p = 0,036$) — через 28 діб порівняно з групою з незаповненим дефектом і не відрізнявся через 90 діб. На відміну від 3-місячних щурів з встановленим алоімплантатом, із плином часу досліджуваний показник у групі 12-місячних тварин збільшувався: був більшим порівняно з 14-ю добою в 1,2 раза ($p = 0,008$) через 28 діб і в 1,14 раза ($p = 0,016$) — через 90.

Вміст кальцію та загального білка в сироватці крові щурів 12-місячного віку з алоімплантатом через 28 діб після операції був трохи нижчим (в 1,1 раза, $p = 0,036$) порівняно з групою з незаповненим дефектом, а на інші терміни не відрізнявся. Рівень загального білка виявився вищим в 1,2 раза ($p = 0,032$) через 90 діб після операції порівняно з 14-ю добою та не відрізнявся на інші терміни між собою.

Рівень хондроїтинсульфатів у щурів цього віку з алоімплантатом був вищим в 1,5 раза ($p = 0,036$) через 90 діб після операції порівняно з групою з незаповненим дефектом, що відображує пролонгацію утворення в них сполучної тканини. На інші терміни спостереження відмінностей між групами за цим показником не встановлено. При цьому і у тварин з алоімплантатом, і без нього вміст хондроїтинсульфатів поступово зменшувався: був нижчим порівняно з 14-ю добою у 2,6 раза ($p = 0,008$) через 28 діб, у 2,2 раза ($p = 0,032$) — через 90.

Активність лужної фосфатази не відрізнявся у щурів 12-місячного віку з алоімплантатом та з незаповненим дефектом. Її показник збільшився в 1,7 раза ($p = 0,032$) через 28 діб після операції та не відрізнявся на інші терміни.

Таким чином, на підставі біохімічного дослідження сироватки крові визначено, що введення алоімплантата призводить до підвищення вмісту глікопротеїнів на всі терміни спостереження у щурів обох вікових груп. Це, з одного боку, може бути пов'язано з реакцією на імплантат як чужорідне тіло та процесом його перебудови, який ще триває через 90 діб після операції. З іншого боку, підвищена концентрація глікопротеїнів може бути обумовлена процесами початкової перебудови сполучної тканини, яка утворюється в ділянці дефекту, заміщуючи алоімплантат. Підвищення рівня хондроїтинсульфатів зафіксовано у щурів 12-місячного віку через 14 діб після імплантації порівняно і з 3-місячними тваринами, що обумовлено більшим вмістом у них у ділянці імплантації сполучної тканини. На цей термін у старших щурів також визначено зниження активності лужної фосфатази порівняно з тваринами 3-місячного віку, що свідчить про уповільнення процесів кісткоутворення, а саме,

зменшення активності остеобластів.

3.4 Оцінка мінеральної щільності кісткової тканини стегнових кісток щурів різного віку після моделювання дефекту в метафізі з або без заповнення алогенними кістковими імплантатами

Проаналізовано показник МЩКТ стегнової кістки через 14, 28 і 90 діб після ушкодження (табл. 3.3). Коли дефекти в метафізі стегнової кістки щурів залишали незаповненими, не встановлено відмінності між тваринами різного віку за показником МЩКТ та його істотні зміни по термінах спостереження.

У 3-місячних щурів через 14 діб після встановлення алоімплантата показник МЩКТ був більшим в 1,2 раза ($p = 0,036$) порівняно з групою з незаповненим дефектом, на інші терміни спостереження — не відрізнявся. У старших щурів не зафіксовано різниці показників МЩКТ між групами з алоімплантатом і незаповненим дефектом на всі терміни дослідження. За використання кісткового алоімплантата у 12-місячних щурів показник МЩКТ через 14 діб після операції був більшим у 5,3 раза ($p = 0,016$), ніж у 3-місячних, на інші терміни спостереження — не відрізнявся.

У 12-місячних з алоімплантатом показниках МЩКТ суттєво не змінювався по термінах спостереження, у 3-місячних — збільшувався з плином часу. А саме: був більшим порівняно з 14-ю добою в 1,2 раза ($p = 0,008$) через 28 діб після операції, в 1,3 раза ($p = 0,008$) — через 90 діб.

У 12-місячних інтактних щурів показник МЩКТ стегнової кістки був вищим в 1,15 раза ($p = 0,010$) порівняно з 3-місячними щурами (табл. 3.3, 3.4). Показники МЩКТ групи щурів з незаповненим дефектом не відрізнялися від інтактних щурів в обох вікових групах. У групі 3-місячних щурів з алоімплантатом показник МЩКТ був вищим в 1,4 раза ($p = 0,04$) порівняно з інтактними щурами цього віку, а у 12-місячних щурів не виявлено різниці між групою з алоімплантатом та інтактною групою. Можливо алоімплантат стимулює кісткоутворення у 3-місячних щурів, чого не відбувається у 12-місячних у зв'язку з нижчим потенціалом до кісткоутворення.

Таблиця 3.3 — Показники МЦКТ стегнової кістки щурів різного віку після моделювання дефекту в дистальному метафізі з використанням або без алогенних кісткових імплантатів (Me, (25 %; 75 %))

Вік щурів (міс.)	Термін після хірургічного втручання (доба)		
	14	28	90
Незаповнений дефект			
3	0,149 (0,138; 0,158)	0,168 (0,165; 0,170)	0,158 (0,157; 0,218) $p_3 = 0,120$
12	0,182 (0,178; 0,201) $p_1 = 0,100$	0,180 (0,175; 0,200) $p_1 = 0,100$	0,171 (0,169; 0,187) $p_1 = 0,700$ $p_3 = 0,393$
Дефект з алоімплантатом			
3	0,172 (0,167; 0,182) $p_2 = 0,036$	0,208 (0,177; 0,211) $p_2 = 0,250$ $p_4 = 0,095$	0,218 (0,215; 0,227) $p_2 = 0,143$ $p_3 = 0,004$ $p_4 = 0,008$ $p_5 = 0,008$
12	0,191 (0,183; 0,193) $p_1 = 0,016$ $p_2 = 0,786$	0,175 (0,162; 0,195) $p_1 = 0,421$ $p_2 = 0,393$	0,197 (0,186; 0,202) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,071$ $p_3 = 0,105$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників щурів різного віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників щурів однакового віку на однаковий термін дослідження з групою з незаповненим дефектом.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників на різних термінах дослідження у щурів однакового віку та типу дефекту.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників щурів одного віку та типу дефекту з 14-ю добою дослідження.

Примітка 5. p_5 – порівняння показників щурів одного віку та типу дефекту з 28-ю добою дослідження.

Таким чином, за результатами ДРА-дослідження визначено, що встановлення кісткового алоімплантата в дірчасті дефекти критичного розміру в дистальному метафізі стегнової кістки щурів 12-місячного віку

суттєво не впливає на показник МЩКТ упродовж експерименту. Також у цій віковій групі не зафіксовано відмінностей показників МЩКТ між випадками, коли дефекти залишали незаповненими або використовували алоімплантат. У щурів 3-місячного віку, яким встановили кістковий алоімплантат, показник МЩКТ збільшувався з плином часу: був більшим порівняно з 14-ю добою в 1,2 раза ($p = 0,008$) через 28 діб після операції, в 1,3 раза ($p = 0,008$) — через 90 діб., а також був більшим в 1,4 раза ($p = 0,04$) на 90 добу порівняно з інтактними щурами.

Таблиця 3.4 — Показники МЩКТ стегнової кістки інтактних щурів різного віку (Me, (25 %; 75 %))

6-місячні щури	15-місячні щури
0,155 (0,141; 0,164)	0,178 (0,178; 0,206)
$p_2 = 0,262$	$p_1 = 0,010$
$p_3 = 0,004$	$p_2 = 0,229$
	$p_3 = 0,730$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників між групами щурів різного віку.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників з групою з незаповненим дефектом через 3 міс після втручання однакового віку;

Примітка 3. p_3 – порівняння показників з групою з алоімплантатом (див. табл. 3.2) через 3 міс після втручання у щурів однакового віку.

4 СТРУКТУРНІ ТА МЕТАБОЛІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗАГОЄННЯ КРИТИЧНОГО ДЕФЕКТУ КІСТКИ ЗА УМОВ ВИКОРИСТАННЯ АЛОГЕННИХ КІСТКОВИХ ІМПЛАНТАТІВ У КОМБІНАЦІЇ З МЕЗЕНХІМАЛЬНИМИ СТРОМАЛЬНИМИ КЛІТИНАМИ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ ТВАРИНИ-РЕЦИПІЄНТА

4.1 Морфологія культури мезенхімальних стромальних клітин жирової тканини щура

Через 12 діб культивування (другий пасаж після пересіву) виявлено утворення монослою клітин на всій поверхні культурального флакону. Вони

формували вузлики різного розміру — від малих (від 8 клітин до 10 клітин) до великих (від 20 клітин до 40 клітин) (рис. 4.1, а).

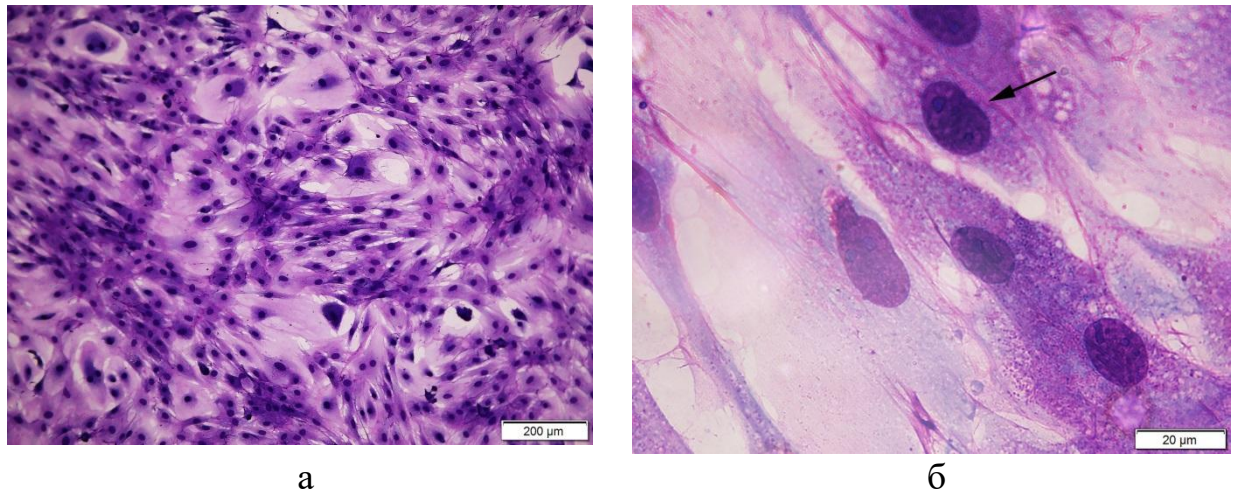


Рисунок 4.1 – Культура МСК із жирової тканини щура: а) формування вузликів різного розміру; б) конденсований хроматин в ядрах МСК, клітина на стадії телофази мітозу (стрілка). Забарвлення за Романовським-Гімзою.

У вузликах розташовувалися дрібніші витягнуті клітини, між вузликами — крупніші полігональні. Ядра в них були великими, містили конденсований хроматин, 2–3 ядерця. У цитоплазмі більшості МСК виявлено гранулярний вміст. Спостерігали клітини з двома ядрами та фігури мітозу (рис. 1, б). Виявлені структурні особливості клітин свідчать про їхню життєздатність і проліферативну активність.

4.2 Морфологія дистального метафізу стегнової кістки щурів

14 діб після імплантації

На цей термін дослідження у *3-місячних щурів* майже всю площу критичного дефекту займав алогенний кістковий імплантат (рис. 4.2, а). Його відносна площа виявилася більшою в 1,7 раза ($p < 0,001$) порівняно з групою тварин цього віку без використання МСК (табл. 3.1, 4.1). Навколо алоімплантата розміщувалася грубоволокниста кісткова тканина, переважно з боку кістково-мозкової порожнини та з протилежного кіркового шару. Навоутворені кісткові трабекули характеризувалися високою щільністю

остеоцитів, на їхній поверхні траплялися поодинокі остеокласти, що свідчить про ремоделювання новоутвореної кісткової тканини. До того ж, багатоядерні клітини чужорідних тіл типу остеокластів виявлені на алогенному кістковому матеріалі (рис. 4.2, г), що відображує його перебудову. У більшості щурів на цей термін, крім новоутвореної кісткової тканини, виявлено значні території пухкої сполучної. На поверхні материнського кортексу визначено утворення хондроїду.

За результатами гістоморфометрії встановлено суттєво більшу у 2,8 рази ($p < 0,001$) відносну площу сполучної тканини, а новоутворених кісткових трабекул і кісткового мозку — меншу в 1,6 рази ($p = 0,014$) та 1,9 рази ($p < 0,001$) відповідно порівняно з групою без МСК цього віку (табл. 3.1, 4.1).

У 12-місячних щурів у ділянці імплантації виявилися залишки алогенного матеріалу, оточені переважно сполучною тканиною. На їхній поверхні розташовувалися багатоядерні клітини типу остеобластів. Новоутворену кісткову тканину, яка за структурою не відрізнялась від описаної в 3-місячних тварин, виявлено також на межі з материнською кісткою (рис. 4.2, з, м).

Відносна площа алогенного кісткового імплантата в зоні дефекту виявилася меншою в 1,6 рази ($p = 0,004$) порівняно з 3-місячними щурами та не відрізнялася від показників тварин цього віку без використання МСК (табл. 4.1). Відносні площі сполучної тканини та кісткового мозку були меншими в 1,7 ($p < 0,001$) та 1,6 рази ($p < 0,001$) відповідно, а кісткових трабекул — більшими в 1,5 рази ($p = 0,007$) порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з групою щурів 12-місячного віку без використання МСК відносні площі сполучної тканини та кісткових трабекул виявилися більшими в 1,7 ($p = 0,003$) та 1,3 рази ($p = 0,026$) відповідно, а кісткового мозку — меншою в 1,5 рази ($p < 0,001$) (табл. 3.1, 4.1).

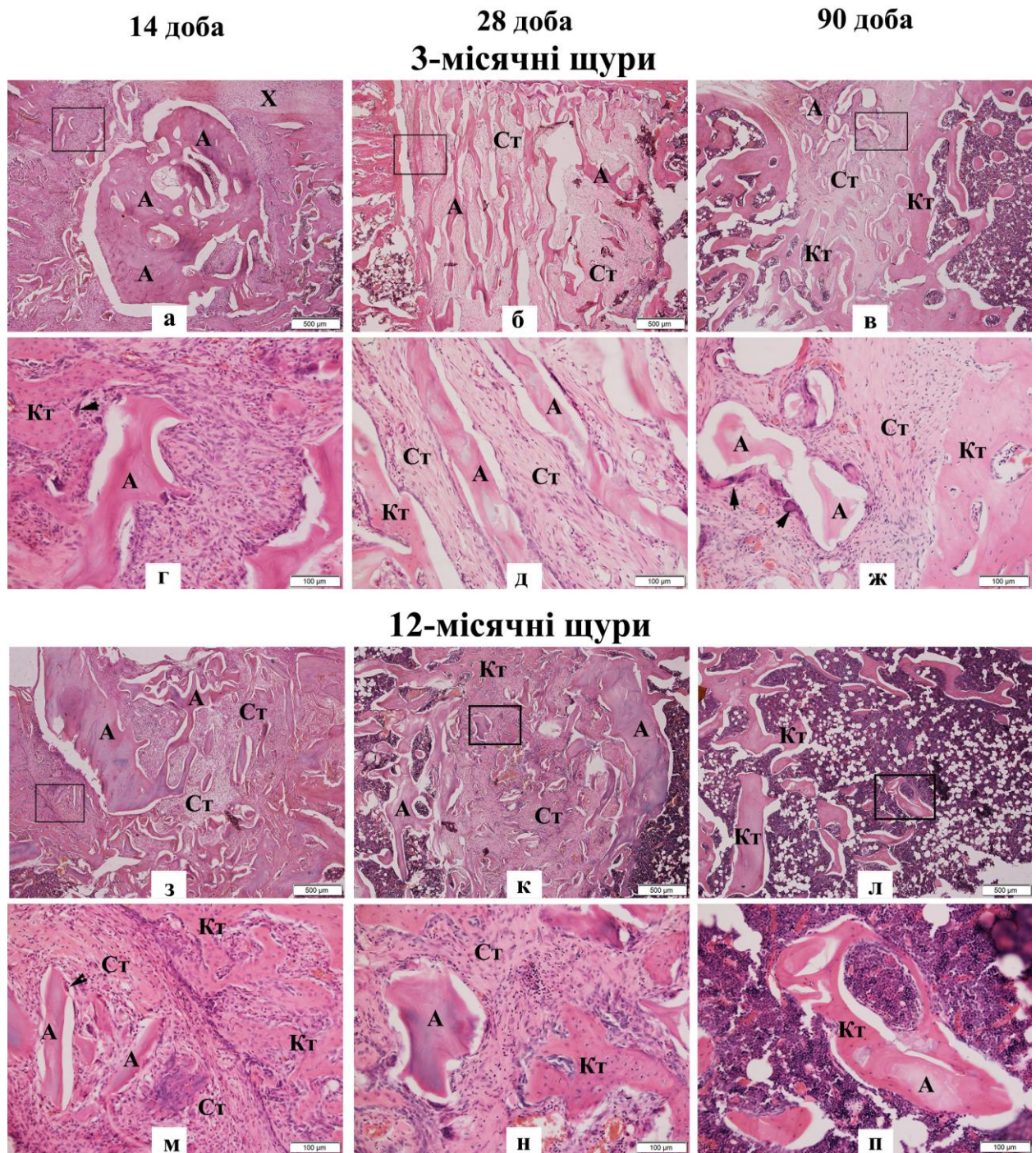


Рисунок 4.2 — Гістологічна картина ділянки дефекту в стегновій кістці 3-місячних (а–ж) і 12-місячних (з–п) шурів на 14, 28 та 90-у добу після введення після введення алоімплантата (А) з МСК. Показано фрагменти алотрансплантата, території сполучної тканини (Ст), хондроїду (Х), новоутворена кісткова тканина (Кт), багатоядерні клітини типу остеокластів (стрілки) на поверхні новоутворених кісткових трабекул та алогенного матеріалу. Рисунки г, д, ж є фрагментами рисунків а, б, в відповідно, а рисунки м, н, п — рисунків з, к, л відповідно. Гематоксилін та еозин.

Таблиця 4.1 — Відносний вміст (%) тканин у ділянці травматичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки щурів після імплантації алоімплантата та введення МСК

Тип тканини або імплантат	Термін після хірургічного втручання (доба)					
	14		28		90	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	2	3	4	5	6	7
Імплантат	31,96 ± 4,89 p ₂ < 0,001	19,91 ± 16,20 p ₁ = 0,004 p ₂ = 0,204	19,99 ± 9,46 p ₂ = 0,787 p ₃ < 0,001	23,00 ± 16,09 p ₁ = 0,397 p ₂ = 0,049 p ₃ = 0,549	9,27 ± 9,68 p ₂ = 0,570 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,001	11,20 ± 13,73 p ₁ = 0,610 p ₂ = 0,684 p ₃ = 0,074 p ₄ = 0,017
сполучна тканина	27,65 ± 6,54 p ₂ < 0,001	16,33 ± 9,78 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,003	29,78 ± 14,67 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,557	12,34 ± 7,32 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,001 p ₃ = 0,153	8,68 ± 8,76 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	1,82 ± 4,13 p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,067 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,000

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4	5	6	7
кісткові трабекули	12,76 ± 6,13 p ₂ = 0,014	18,73 ± 7,26 p ₁ = 0,007 p ₂ = 0,026	13,71 ± 7,85 p ₂ = 0,049 p ₃ = 0,667	15,50 ± 13,18 p ₁ = 0,605 p ₂ = 0,898 p ₃ = 0,343	36,10 ± 19,49 p ₂ = 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	15,90 ± 8,61 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,398 p ₃ = 0,268 p ₄ = 0,910
кістковий мозок	27,63 ± 7,58 p ₂ < 0,001	45,03 ± 16,61 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001	36,53 ± 10,86 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,004	49,16 ± 11,58 p ₁ = 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,367	45,96 ± 23,12 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,003 p ₄ = 0,111	71,08 ± 11,75 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,372 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001

Примітка 1. p₁ – порівняння показників між групами різного віку на однаковий термін дослідження та заповненням дефекту алоімплантатом з МСК.

Примітка 2. p₂ – порівняння показників щурів одного віку на однаковий термін дослідження з групою з алоімплантатом без додавання МСК (див. табл. 3.1).

Примітка 3. p₃ – порівняння показників з 14-ю добою дослідження у щурів однакового віку.

Примітка 4. p₄ – порівняння показників з 28-ю добою дослідження у щурів однакового віку.

28 діб після імплантації

У 3-місячних щурів у ділянці дефекту визначено фрагменти алогенного кісткового матеріалу, оточені переважно сполучною тканиною різного ступеня зрілості. У ній розташовувалися кровоносні судини капілярного типу, фібробласти з гіпохромними ядрами, фіброцити, довга вісь яких була спрямована вздовж кісткових трабекул алоімплантата. На поверхні його фрагментів виявлено шар остеобластів, що свідчить про остеоіндуктивні властивості. Новоутворена кістка розміщувалася по периметру дефекту на межі з материнською кісткою та формувала кірковий шар, представлений губчастою кістковою тканиною (рис. 4.2, б, д).

За результатами гістоморфометрії, відносна площа алогенного кісткового імплантата в зоні дефекту не відрізнялася від показника тварин цього віку без використання МСК (табл. 3.1, 4.1).

Як і на 14-ту добу спостереження, порівняно з групою без МСК цього віку зафіксовано в 13,5 раза ($p < 0,001$) більшу відносну площу сполучної тканини, а відносні площі кісткових трабекул і кісткового мозку — менші в 1,3 раза ($p = 0,049$) та 1,7 раза ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа імплантата зменшилася в 1,6 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — збільшилася в 1,3 раза ($p = 0,004$). Показники сполучної тканини та кісткових трабекул значуще не змінилися (табл. 4.1).

У 12-місячних щурів у ділянці імплантації виявлено фрагменти імплантата, розташовані поміж полів сполучної тканини остеогенного типу. У ній містилися переважно клітини остеобластичного та фібробластичного диферонів, кровоносні судини капілярного типу різного діаметра, навколо деяких із них визначено лімфоцитарну інфільтрацію. Новоутворені кісткові трабекули з великою густиною остеоцитів та шаром активних остеобластів на поверхні розташовувалися переважно по периметру дефекту, але й траплялися в його центральних ділянках. Кортекс був сформований губчастою кістковою тканиною (рис. 4.2, к, н).

Відносна площа алогенного кісткового імплантата не відрізнялася від показника 3-місячних щурів (табл. 4.1), але була більшою в 1,6 раза ($p = 0,049$) порівняно з тваринами цього віку без використання МСК (табл. 3.1, 4.1). Відносна площа сполучної тканини виявилася меншою у 2,4 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — більшою в 1,3 разу ($p = 0,001$), а кісткових трабекул — суттєво не відрізнялася від показників 3-місячних щурів. Порівняно з групою щурів цього віку без використання МСК після імплантації відносна площа сполучної тканини була більшою у 2,5 разу ($p = 0,001$), кісткового мозку — меншою в 1,3 разу ($p < 0,001$), а кісткових трабекул — не відрізнялася. Усі оцінені площі тканин та імплантата на 28-у добу статистично значуще не відрізнялися від показників на 14-у добу (табл. 4.1).

90 діб після імплантації

У 3-місячних щурів в ділянці дефекту зберігалася сполучна тканина та фрагменти алогенного кісткового алоімплантата (рис. 4.2, в, ж), відносна площа якого, як і на 28-у добу, не відрізнялася від показника тварин цього віку без використання МСК (табл. 3.1, 4.1). Відносні площі сполучної тканини та новоутворених кісткових трабекул були більшими в 43,4 раза ($p < 0,001$) та 1,9 раза ($p = 0,001$) відповідно, а кісткового мозку — меншими в 1,5 раза ($p < 0,001$) порівняно з групою без МСК цього віку. Порівняно з 14-ю добою після імплантації відносна площа імплантата зменшилася в 3,4 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 3,2 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилася у 2,8 раза ($p < 0,001$) та 1,6 раза ($p = 0,003$) відповідно. Порівняно з 28-ю добою площа імплантата зменшилася у 2,2 раза ($p = 0,001$), сполучної тканини — в 3,4 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул — збільшилася у 2,6 раза ($p < 0,001$), площа кісткового мозку статистично значуще не змінилася (табл. 4.1).

У 12-місячних щурів у ділянці дефекту сполучної тканини майже не виявлено. Невеличкі фрагменти кісткового алоімплантата були оточені знов сформованою кісткою (рис. 4.2, л, п). Відносна площа алогенного кісткового імплантата значуще не відрізнялася від показників групи тварин цього віку

без використання МСК і 3-місячних щурів із використанням МСК (табл. 3.1, 4.1). Відносні площі сполучної тканини та кісткових трабекул були меншими в 4,8 ($p = 0,003$) та 2,3 рази ($p < 0,001$) відповідно, а кісткового мозку — більшою в 1,5 рази ($p < 0,001$) порівняно з 3-місячними щурами та значуще не відрізнялися від показників щурів цього віку без використання МСК. Порівняно з 14-ю добою відносна площа сполучної тканини зменшилася у 8,9 рази ($p < 0,001$), а кісткового мозку — зросла в 1,6 рази ($p < 0,001$), кісткових трабекул та імплантата — статистично значуще не змінилася. Порівняно з 28-ю добою відносна площа імплантата зменшилася у 2,1 рази ($p = 0,017$), сполучної тканини — в 6,8 рази ($p < 0,001$), кісткового мозку — збільшилася в 1,4 рази, кісткових трабекул — значуще не змінилася.

Таким чином, у результаті проведеного морфологічного дослідження встановлено, що після заповнення дірчастого дефекту критичного розміру в дистальному метафізі стегнової кістки щурів алогенним кістковим матеріалом із алогенними МСК анатомічна форма кістки через 90 діб після імплантації була збереженою, як і у випадку використання окремо кісткових алоімплантатів. Це можна пояснити забезпеченням механічної міцності завдяки алоімплантату на ранніх термінах (до 14-ї доби) після операції [90]. Відносна площа алоімплантата протягом експерименту поступово зменшувалася (що свідчить про його перебудову) з утворенням сполучної та кісткової тканин у різних співвідношеннях. Це узгоджується з результатами гістологічних досліджень тканин пацієнтів, де показано, що в процесі інкорпорації кісткових алоімплантатів відбувається їхня неповна перебудова з утворенням сполучної тканини [91–93]. Водночас ми визначили суттєву різницю між віковими групами на 14-ту добу: у молодших щурів відносна площа алоімплантата виявилася більшою в 1,6 рази, ніж у старших. Також була більшою площа імплантата у 3-місячних щурів на 14-ту добу, а у 12-місячних — на 28-у порівняно з групами щурів відповідного віку з використанням для пластики дефектів алоімплантатів без МСК.

Слід зауважити, що відносні площі сполучної тканини за умов використання алогенних кісткових імплантатів МСК у тварин обох вікових груп були більшими, ніж у раз застосування алогенних кісткових імплантатів окремо. Імовірно, це пов'язано з імунною відповіддю на введення алогенних МСК, яка опосередкована Т- та В-клітинами, що призводить до пригнічення формування кістки [94]. Зокрема, відносна площа сполучної тканини в дефектах 3-місячних щурів на всі терміни експерименту була в середньому в 3 рази більшою порівняно з 12-місячними і суттєво перевищувала показники 3-місячних тварин із дефектами, заповненими лише алоімплантатами. У 12-місячних щурів величини відносної площі сполучної тканини в дефектах на 14-ту та 28-у доби після операції перевищували значення, отримані у тварин відповідного віку без використання МСК. Загальною рисою вікових груп було різке зниження площі сполучної тканини на 90-у добу порівняно з іншими термінами, найбільш вагоме у 12-місячних щурів – у 8,9 разів порівняно з 14-ю добою. Є думка, що саме утворення сполучної тканини навколо імплантата перешкоджає його повній перебудові [95], та насправді, ми визначили наявність фрагментів алогенного матеріалу в дефектах щурів обох вікових груп на кінцевий термін спостереження.

Відносна площа новоутворених кісткових трабекул у 3-місячних щурів на 14-у добу була нижчою в 1,6 раза, а на 90-у добу виявилася збільшеною у 2,3 рази порівняно з 12-місячними щурами. У 12-місячних щурів площа кісткової тканини досягла вищого показника на 14-у добу і надалі значуще не змінювалася та не відрізнялася від групи щурів без введення МСК цього віку. У 3-місячних щурів на 14-у та 28-у доби показник був нижчим приблизно в 1,5 раза, а на 90-у — більшим в 1,9 раза порівняно з групою щурів цього віку без введення МСК.

Виходячи з отриманих нами результатів, введення алогенних МСК разом із алогенним кістковим імплантатом спричинює на 14-у та 28-у добу після імплантації формування значних територій сполучної тканини незалежно від віку щурів. Разом із цим у 12-місячних щурів визначено

стимуляцію формування кісткової тканини на ранній термін (14-а доба) порівняно з групою без використання МСК. У молодших щурів суттєвий приріст кісткової тканини встановлено лише на 90-у добу, але площа сполучної тканини залишилася значуще вищою порівняно з групою цього віку без використання МСК. Усе зазначене може негативно позначитися на механічних властивостях кістки та спричинити повторні переломи. Тому вважаємо, що комбінацію аlogenних МСК із алогенним кістковим імплантатом недоцільно використовувати на ранніх стадіях репаративного остеогенезу та без застосування остеоіндукції клітин під час культивування або імуносупресорів, особливо в молодих реципієнтів.

4.3 Результати біохімічного дослідження сироватки крові щурів різного віку після заповнення дефектів критичного розміру в метафізі стегнової кістки алогенним кістковим матеріалом і мезенхімальними стромальними клітинами

У щурів 3-місячного віку після імплантації алогенного кісткового трансплантата з МСК рівень глікопротеїнів на 14-у добу виявився нижчим в 1,3 раза ($p = 0,008$), а на 90 добу — вищим в 1,2 раза ($p = 0,016$) порівняно з щурами цього віку без використання МСК (табл. 3.2, 4.2). Рівень глікопротеїнів підвищився на 90-у добу в 1,4 раза ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою, в 1,3 раза ($p = 0,008$) — із 28-ю та не відрізнявся між 14-ю та 28-ю добами. Це відображує хронізацію запального процесу з перебудовою сполучної тканини, яка, за результатами гістологічного аналізу, ще наявна в дефектах щурів цієї вікової групи на 90-у добу після операції.

Рівні загального білку та кальцію не відрізнялися від показників групи цього віку без використання МСК на всі терміни спостереження, але встановлено їхнє підвищення на 90-у добу: загального білку — в 1,2 раза ($p = 0,008$), кальцію — в 1,1 раза ($p = 0,016$) порівняно з 14-ю добою. Рівень хондроїтинсульфатів був вищим в 1,4 раза ($p = 0,032$) на 28-у добу порівняно зі щурами цього віку без використання МСК та не відрізнявся на інші терміни, а також суттєво не змінився протягом експерименту.

Таблиця 4.2 — Біохімічні показники сироватки крові щурів різного віку після моделювання дефекту в метафізі стегнової кістки з використанням алогенних кісткових імплантатів з МСК (Me, (25 %; 75 %))

Показники	Термін дослідження (доба)					
	14		28		90	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Глікопротеїни, од.	0,72 (0,68; 0,765) p ₂ = 0,008	0,73 (0,70; 35,40) p ₁ = 0,421 p ₂ = 0,222	0,71 (0,67; 0,78) p ₂ = 0,222 p ₃ = 1,000	1,26 (0,84; 1,40) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,421 p ₃ = 0,151	0,95 (0,87; 1,05) p ₂ = 0,016 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,008	0,95 (0,91; 1,16) p ₁ = 0,548 p ₂ = 0,690 p ₃ = 0,151 p ₄ = 0,548
Загальний білок, г/л	66,8 (65,85; 68,7) p ₂ = 0,056	71,2 (69,5; 79,1) p ₁ = 0,016 p ₂ = 0,008	65,0 (63,2; 82,15) p ₂ = 0,310 p ₃ = 0,690	85,8 (83,8; 87,2) p ₁ = 0,032 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,008	78,9 (72,3; 82,2) p ₂ = 1,000 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,310	72,8 (67,0; 76,1) p ₁ = 0,151 p ₂ = 0,421 p ₃ = 0,841 p ₄ = 0,008
Са, ммоль/л	2,33 (2,32; 2,37) p ₂ = 0,056	2,38 (2,37; 2,47) p ₁ = 0,032 p ₂ = 0,016	2,3 (2,25; 2,49) p ₂ = 0,310 p ₃ = 0,690	2,53 (2,52; 2,57) p ₁ = 0,032 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,008	2,45 (2,40; 2,49) p ₂ = 0,548 p ₃ = 0,016 p ₄ = 0,310	2,38 (2,32; 2,43) p ₁ = 0,151 p ₂ = 0,310 p ₃ = 0,690 p ₄ = 0,008

Продовження табл. 4.2

1	2	3	4	5	6	7
Хондроїтин-сульфати, г/л	0,25 (0,169; 0,412) p ₂ = 0,690	0,287 (0,251; 0,356) p ₁ = 0,841 p ₂ = 0,016	0,264 (0,245; 0,437) p ₂ = 0,032 p ₃ = 0,310	0,307 (0,149; 0,446) p ₁ = 0,841 p ₂ = 0,095 p ₃ = 1,000	0,184 (0,169; 0,279) p ₂ = 0,095 p ₃ = 0,548 p ₄ = 0,151	0,380 (0,283; 0,542) p ₁ = 0,032 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,151 p ₄ = 0,421
Активність лужної фосфатази, Е/л	403,0 (343,0; 556,0) p ₂ = 0,095	200,0 (179,5; 385,5) p ₁ = 0,095 p ₂ = 0,151	455,0 (376,0; 585,0) p ₂ = 0,310 p ₃ = 0,690	170,0 (136,0; 226,0) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,222	199,0 (145,0; 254,0) p ₂ = 0,032 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,008	305,0 (212,5; 336,5) p ₁ = 0,056 p ₂ = 1,000 p ₃ = 0,548 p ₄ = 0,056
Активність кислої фосфатази, Е/л	37,8 (34,5; 40,9) p ₂ = 0,421	24,0 (22,4; 29,8) p ₁ = 0,032 p ₂ = 0,008	50,5 (42,9; 55,6) p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,056	25,9 (23,2; 33,8) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,310 p ₃ = 0,421	15,1 (13,1; 30,9) p ₂ = 0,548 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,008	18,7 (16,3; 23,4) p ₁ = 0,690 p ₂ = 0,841 p ₃ = 0,095 p ₄ = 0,056

Примітка 1. p₁ – порівняння показників щурів різного віку з використанням МСК на однаковий термін дослідження.

Примітка 2. p₂ – порівняння показників з групою з алоїмплантатом (див. табл. 3.2) щурів одного віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 3. p₃ – порівняння показників груп однакового віку з 14-ю добою дослідження

Примітка 4. p₄ – порівняння показників груп однакового віку з 28-ю добою дослідження.

Активність лужної фосфатази відрізнявся від показника групи без використання МСК лише на 90-у добу – була нижчою в 1,4 раза ($p = 0,032$), Відмічено зниження активності ферменту на 90-у добу у 2 рази ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою, у 2,3 рази ($p = 0,008$) — із 28-ю. Це відображує зниження активності процесу кісткоутворення з плином часу. Активність кислій фосфатази була більшою в 1,9 рази ($p = 0,008$) на 28-у добу після імплантації, а на інші терміни не відрізнялася від показника у щурів цього віку без використання МСК. Зафіксовано зниження активності ферменту на 90-у добу у 2,5 рази ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою, у 3,3 ($p = 0,008$) — із 28-ю.

У 12-місячних щурів рівень глікопротеїнів порівняно з 3-місячними щурами виявився вищим на 28-у добу в 1,8 рази ($p = 0,008$), а на інші терміни не відрізнявся (табл. 4.2). Порівняно зі щурами цього віку без використання МСК рівень глікопротеїнів не відрізнявся на всі терміни та суттєво не змінився протягом експерименту (табл. 3.2, 4.2).

Рівень загального білку був вищим на 14-у добу в 1,1 рази ($p = 0,016$), на 28-у — в 1,3 рази ($p = 0,032$) порівняно з 3-місячними щурами та щурами без використання МСК ($p = 0,008$; $p = 0,008$) та не відрізнявся на 90-у добу. Протягом експерименту рівень загального білку підвищився на 28-у добу в 1,2 рази ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою, знизився на 90-у добу в 1,2 рази ($p = 0,008$) порівняно з 28-ю добою і не відрізнявся між 14-ю та 90-ю добами.

Рівень кальцію також був трохи вищим (приблизно в 1,1 рази) на 14-у та 28-у добу порівняно з 3-місячними щурами та щурами без використання МСК. На 90-у добу рівень кальцію знизився в 1,2 рази ($p = 0,008$) порівняно з 28-ю добою та не відрізнявся від 14-ї доби.

Рівень хондроїтинсульфатів порівняно зі щурами без використання МСК був нижчим в 1,2 рази ($p = 0,016$) на 14-ту добу та вищим у 2,2 рази ($p = 0,008$) на 90-у. Порівняно з 3-місячними щурами рівень хондроїтинсульфатів також виявився вищим на 90-у добу у 2,1 рази ($p = 0,032$) і не змінився протягом експерименту.

Активність лужної фосфатази визначена нижчою на 28-у добу у

2,7 рази ($p = 0,008$) та 2,9 рази ($p = 0,008$), а на 14-у та 90-у доби не відрізнялася від показника у 3-місячних щурів і тварин без використання МСК. Протягом дослідження активність лужної фосфатази суттєво не змінилася.

Активність кислої фосфатази зафіксована нижчою в 1,6 рази ($p = 0,032$) на 14-у добу, в 1,9 рази ($p = 0,008$) — на 28-у порівняно з 3-місячними щурами, а порівняно з щурами без використання МСК — вищою в 13,3 рази ($p = 0,008$) лише на 14-у добу. Протягом експерименту рівень кислої фосфатази значуще не змінився.

Отже, протягом експерименту у 12-місячних щурів не змінилися рівні глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів, активність кислої та лужної фосфатаз, натомість у 3-місячних щурів залишився незмінним лише рівень хондроїтинсульфатів. У 12-місячних щурів рівні загального білку та кальцію підвищилися на 28-у добу порівняно з 14-ю, а потім, на 90-у добу знизилися, а в 3-місячних щурів — залишалися незмінними та зросли на 90-у добу порівняно з 28-ю.

Аналізуючи вплив віку на біохімічні показники, встановлено, що на 14-у добу у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними була нижчою активність кислої фосфатази, а інші показники не відрізнялися; на 28-у добу — вищі рівні глікопротеїнів, загального білку та кальцію, нижчими — активність лужної та кислої фосфатаз; на 90-у — лише вищий рівень хондроїтинсульфатів.

Порівняно з групою без використання МСК у 3-місячних щурів виявлено нижчий на 14-у добу та вищий на 90-у рівень глікопротеїнів, що відображує хронізацію запального процесу. На 28-у встановлено вищий рівень хондроїтинсульфатів, що свідчить про вплив введення МСК на обмін глікозаміногліканів, й активність кислої фосфатази — маркеру кісткової резорбції. На 90-у лужної фосфатази, що відображує припинення утворення кістки. Інші показники не відрізнялися.

Порівняно з групою без використання МСК у 12-місячних щурів

виявлено на 14-у добу вищі рівні загального білку, кальцію й активність кислої фосфатази, а нижчий — хондроїтинсульфатів, на 28-у — вищі рівні загального білку та кальцію, нижча активність рівень лужної фосфатази, на 90-у — вищий рівень хондроїтинсульфатів; інші показники не відрізнялися.

Відношення лужної до кислої фосфатаз у 3-місячних щурів із використанням МСК було нижчим на 28-у добу в 1,5 раза ($p = 0,008$), а на 14 та 90-у доби не відрізнялося від показника групи без використання МСК (табл. 3.2, 4.3). Упродовж дослідження відношення лужної до кислої фосфатаз у 3-місячних щурів значуще не змінилося (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 — Співвідношення активності лужної до активності кислої фосфатаз у щурів після моделювання дефекту в метафізі стегнової кістки з використанням алогенних кісткових імплантатів з МСК (Me, (25 %; 75 %))

Термін після втручання (доба)	3-місячні щури	12-місячні щури
14	10,95 (8,86; 15,19) $p_2 = 0,310$	9,52 (7,48; 12,50) $p_1 = 0,310$ $p_2 = 0,008$
28	9,01 (8,12; 11,26) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,421$	5,82 (4,65; 9,03) $p_1 = 0,095$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,222$
90	11,11 (6,79; 15,15) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 0,548$	17,63 (10,04; 17,95) $p_1 = 0,222$ $p_2 = 0,690$ $p_3 = 0,095$ $p_4 = 0,016$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників між групами щурів різного віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників з групою з алоімплантатом (див. табл. 3.2) у щурів одного віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників з 14-ю добою дослідження груп однакового віку.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників з 28-ю добою дослідження груп однакового віку.

У *12-місячних щурів* із використанням МСК відношення лужної до кислої фосфатаз значуще не відрізнялося від показника *3-місячних щурів* на всі терміни дослідження. Натомість порівняно з групою без використання МСК зазначене співвідношення було нижчим в 15,1 раза ($p = 0,008$) на 14-у добу, у 2,9 раза ($p = 0,008$) — на 28-у, не відрізнялося — на 90-у (табл. 3.2, 4.3). Цей показник виявився більшим на 90 добу в 3 рази ($p = 0,016$) порівняно з 28-ю.

Співвідношення активності лужної до активності кислої фосфатаз використовують для оцінювання якості процесу ремоделювання [96]. Цей показник виявився нижчим порівняно з групою без введення в ділянку дефекту МСК: у *3-місячних щурів* — на 28-у добу, у *12-місячних* — на 14 та 28-у доби, та не відрізнявся на 90 добу. Протягом дослідження показник у *3-місячних щурів* не змінився, а у *12-місячних щурів* — підвищився в 3 рази на 90-у добу порівняно з 28-ю.

4.4 Мінеральна щільність кісткової тканини стегнових кісток щурів різного віку з використанням для пластики дефекту критичного розміру алогенних кісткових імплантатів із мезенхімальними стромальними клітинами

Проаналізовано показник МЩКТ стегнової кістки через 14, 28 і 90 діб після хірургічного втручання (табл. 4.4). Встановлено, що у *3-місячних щурів* показник МЩКТ був нижчим в 1,1 раза ($p = 0,032$) на 14-у добу спостереження, а на інші терміни не відрізнявся порівняно з групою щурів цього віку з алоімплантатом без використання МСК (табл. 3.3, 4.4). Через 90 діб показники МЩКТ стегнової кістки у *3-місячних щурів* збільшилися в 1,3 раза ($p = 0,008$) та 1,4 раза ($p = 0,008$) порівняно з показниками на 14-у та 28-у доби відповідно.

У *12-місячних щурів* показник МЩКТ не відрізнявся від показників щурів цього віку з алоімплантатом без використання МСК на всі терміни спостереження (табл. 3.3, 4.4). Також не виявлено різниці між показниками на різні терміни спостереження. Порівняно з *3-місячними щурами* у 12-

місячних щурів величини МЦКТ стегнової кістки була вищими в 1,1 раза ($p = 0,016$) на 28-у добу після операції, нижчими в 1,1 разу ($p = 0,008$) — на 90-у (табл. 4.4).

Таблиця 4.4 — Показники МЦКТ стегнової кістки щурів різного віку після моделювання дефекту в дистальному метафізі з алогенними кістковими імплантатами з використанням МСК (Me, (25 %; 75 %))

Вік тварин (міс.)	Термін після хірургічного втручання (доба)		
	14	28	90
3	0,161 (0,158; 0,169) $p_2 = 0,032$	0,173 (0,162; 0,176) $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,151$	0,226 (0,223; 0,228) $p_2 = 0,548$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$
12	0,171 (0,167; 0,195) $p_1 = 0,095$ $p_2 = 0,690$	0,183 (0,181; 0,216) $p_1 = 0,016$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,222$	0,198 (0,186; 0,199) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,310$ $p_4 = 0,841$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників між групами різного віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників з групою з алоімплантатом (див. табл. 3.3) у щурів одного віку на однаковий термін дослідження.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників з 14-ю добою дослідження груп однакового віку.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників з 28-ю добою дослідження груп однакового віку.

Отже, у 3-місячних щурів у разі використання МСК зниження показників МЦКТ стегнової кістки на 14-у добу після операції порівняно з групою без МСК цього віку, імовірно, пов'язано з повільнішим формуванням кісткової тканини у зоні дефекту або з надлишковим формуванням сполучної тканини, що підтверджено гістологічно.

Також виявлені у 12-місячних щурів, яким разом з алогенним кістковим імплантатом вводили МСК, вищі величини МЦКТ на 28-у добу, а

потім нижчі на 90-у порівняно з молодшими щурами можна пояснити затримкою у формуванні кісткової тканини в молодших щурів. Це припущення підтверджує наявність значущого зростання МЩКТ у 3-місячних щурів із МСК на 90-у добу порівняно з 14-ю та 28-ю добами спостереження у цій групі.

5 РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ VEGF, TGF- β та PDGF-BB У ПЛАЗМІ КРОВІ ДОБРОВОЛЬЦІВ-ВОЛОНТЕРІВ ТА ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗАЛЕЖНО ВІД ОСОБЛИВОСТЕЙ ЦЕНТРИФУГУВАННЯ

Для одержання позитивного ефекту на репаративний остеогенез збагаченої тромбоцитами плазми крові (PRP) важливо визначити в ній вміст факторів росту, які впливають на нього на різних стадіях. Зокрема, відомо, що PDGF, VEGF і TGF- β сприяють прискоренню ангиогенезу [34], міграції та проліферації клітин [35] і, відповідно, регенерації кістки [36]. Також з'ясовано, що їхня кількість залежить від режиму центрифугування. Є дані, що зниження швидкості центрифугування сприяє підвищенню у i-PRF вмісту лейкоцитів і тромбоцитів та рівня VEGF и TGF- β 1 [52, 53]. Проте невідомо, чи призводить це до підвищення рівня цих речовин у центрифугаті. Для обґрунтування способу отримання збагаченої тромбоцитами плазми крові для оптимізації регенерації кістки ми використали імуноферментний аналіз, щоб дослідити кількісний вміст PDGF, VEGF і TGF- β після кожного з етапів центрифугування — 1500 об/хв протягом 10 хв (перший), 3000 об/хв протягом 10 хв (другий).

5.1 Визначення концентрації VEGF

Концентрація VEGF у плазмі крові стала нижчою після другого етапу центрифугування у щурів 3-місячного віку в 11,3 раза ($p = 0,007$), у щурів 6-місячного віку — в 4,3 ($p = 0,005$), а у 12-місячних щурів значущо не відрізнялася ($p = 0,594$) порівняно з концентрацією VEGF після першого етапу центрифугування (табл. 5.1).

Після першого етапу центрифугування концентрація VEGF у плазмі крові 12-місячних щурів виявилася нижчою в 13,1 раза ($p = 0,005$) порівняно з 3-місячним та в 4,1 раза ($p = 0,035$) – порівняно з 6-місячними. Показники концентрації VEGF у 3- та 6-місячних щурів після першого та другого етапу центрифугування не відрізнялися.

Таблиця 5.1 — Концентрація фактору росту VEGF у плазмі крові щурів різного віку в залежності від кількості етапів центрифугування крові

Вік щурів (міс.)	Етапи центрифугування	
	перший	другий
3	192,95 (102,99;402,05)	17,10 (14,80; 69,33) $p_1 = 0,007$
6	60,40 (24,60; 236,25) $p_2 = 0,218$	14,0 (13,0; 22,13) $p_1 = 0,005$ $p_2 = 0,218$
12	14,75 (12,0; 61,73) $p_2 = 0,005$ $p_3 = 0,035$	16,50 (11,25; 27,50) $p_1 = 0,594$ $p_2 = 0,549$ $p_3 = 0,720$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників груп однакового віку з першим етапом центрифугування.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою 3-місячних щурів.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою 6-місячних щурів.

Концентрація VEGF у плазмі крові волонтерів-добровольців групи віком від 20 до 29 років після другого етапу центрифугування була нижчою в 5,9 раза ($p = 0,017$), а у осіб з групи від 60 до 69 років значущо не відрізнялася ($p = 0,139$) порівняно з концентрацією VEGF після першого етапу центрифугування (табл. 5.2). Не виявлено відмінностей між

концентрацією VEGF у плазмі крові залежно від віку після першого етапу ($p = 0,684$) та після другого етапу ($p = 0,912$) центрифугування (табл. 5.2).

Отже, у людини та у щурів молодшого віку (від 20 до 29 років та 3-місячні і 6-місячні) концентрація VEGF у плазмі крові стала нижчою після другого етапу центрифугування. У осіб старшого віку (від 60 до 69 років) та старших щурів (12-міс) концентрація VEGF у плазмі крові не відрізнялася між етапами центрифугування. Залежність концентрація VEGF у плазмі крові від віку щурів виявлено лише після першого центрифугування – у молодших щурів (3-місячні та 6-місячні) концентрація була вищою порівняно зі старшими (12-місячні). У добровольців-волонтерів не виявлено залежності концентрації VEGF у плазмі крові від віку на жодному з етапів центрифугування.

Таблиця 5.2 — Концентрація фактору росту VEGF у плазмі крові добровольців-волонтерів різного віку в залежності від кількості етапів центрифугування крові

Вікові групи (роки)	Етапи центрифугування	
	перший	другий
від 20 до 29 років	138,70 (36,63; 246,80)	23,25 (20,91; 29,60) $p_1 = 0,017$
від 60 до 69 років	78,50 (28,13; 228,55) $p_2 = 0,684$	22,70 (18,88; 69,50) $p_1 = 0,139$ $p_2 = 0,912$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників груп однакового віку з першим етапом центрифугування.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою від 20 до 29 років.

5.2 Визначення концентрації TGF- β

Концентрація TGF- β 1 у плазмі крові знизилася після другого етапу центрифугування у 3-місячних щурів в 11,9 раза ($p = 0,005$), у 6-місячних — в

4,8 ($p = 0,005$), 12-місячних — в 4,4 ($p = 0,009$) порівняно з концентрацією TGF- β 1 після першого етапу центрифугування (табл. 5.3). Після першого етапу центрифугування концентрація фактору росту TGF- β 1 у плазмі крові не відрізнялася між віковими групами. Після другого етапу центрифугування показники концентрація TGF- β 1 у 6-місячних та 12-місячних щурів була вищою у 2,1 раза ($p = 0,007$) та 2,7 раза ($p = 0,007$) відповідно порівняно з 3-місячними щурами та не відрізнялися між собою.

Таблиця 5.3 — Концентрація фактору росту TGF- β 1 (Me (25 %;75 %) у плазмі крові щурів різного віку залежно від кількості етапів центрифугування крові

Вік щурів (міс.)	Етапи центрифугування	
	перший	другий
3	381,0 (280,50; 438,75)	31,85 (24,53; 47,80) $p_1 = 0,005$
6	328,0 (284,75; 414,0) $p_2 = 0,684$	67,70 (58,05; 104,13) $p_1 = 0,005$ $p_2 = 0,007$
12	381,50 (237,0; 504,75) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,912$	85,85 (66,60; 113,25) $p_1 = 0,009$ $p_2 = 0,007$ $p_3 = 0,529$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників груп однакового віку з першим етапом центрифугування.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою 3-місячних щурів.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою 6-місячних щурів.

Концентрація TGF- β 1 у плазмі крові добровольців-волонтерів не відрізнялася на кожному з етапів центрифугування між віковими групами, а

також не виявлено різниці між першими та другим етапом центрифугування в обох вікових групах (табл. 5.4).

Таким чином, у людини та у щурів концентрація TGF- β 1 у плазмі крові не відрізнялася між віковими групами на першому етапі центрифугування, однак після другого етапу у щурів стала нижчою у всіх вікових групах, особливо у 3-місячних щурів, а у людей – не змінилася.

Таблиця 5.4 — Концентрація фактору росту TGF- β 1 (Ме (25 %;75 %) у плазмі крові добровольців-волонтерів різного віку залежно від кількості етапів центрифугування крові

Вікові групи (роки)	Етапи центрифугування	
	перший	другий
від 20 до 29 років	535,20 (327,45; 610,35)	509,40 (369,90; 535,73) $p_1 = 0,959$
від 60 до 69 років	440,60 (337,35; 586,05) $p_2 = 0,853$	392,10 (349,73; 474,90) $p_1 = 0,114$ $p_2 = 0,280$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників груп однакового віку з першим етапом центрифугування.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою від 20 до 29 років.

5.3 Визначення концентрації PDGF-BB

Концентрація PDGF-BB у плазмі крові не змінилася після другого етапу центрифугування у всіх вікових групах щурів (табл. 5.5). Після першого етапу центрифугування концентрація фактору росту PDGF-BB у плазмі крові у 3-місячних щурів була вищою в 2,3 раза ($p = 0,023$) порівняно з 6-місячними щурами та у 2,8 раза ($p = 0,015$) — з 12-місячними. Після другого етапу центрифугування показники концентрації PDGF-BB у 3-місячних щурів були також вищими в 5,1 раза ($p = 0,007$) порівняно з 6-місячними. У 6- та 12-місячних щурів після другого етапу центрифугування концентрація PDGF-BB не відрізнялася між собою (табл. 5.5).

Концентрація PDGF-BB у плазмі крові добровольців-волонтерів знизилася після другого етапу центрифугування: у групі від 20 до 29 років — у 27,6 раза ($p = 0,007$), від 60 до 69 років — у 16,9 ($p = 0,022$) порівняно з показниками на першому етапі (табл. 5.6). На обох етапах центрифугування концентрація PDGF-BB у плазмі крові добровольців-волонтерів не відрізнялася між віковими групами.

Таблиця 5.5 — Концентрація фактору росту PDGF-BB (Me (25 %;75 %) у плазмі крові щурів різного віку залежно від кількості етапів центрифугування крові

Вік щурів (міс.)	Етапи центрифугування	
	перший	другий
3	919,0 (525,0; 1215,75)	1104,50 (389,75; 1290,50) $p_1 = 0,721$
6	407,10 (329,45; 535,83) $p_2 = 0,023$	215,0(203,75; 382,25) $p_1 = 0,285$ $p_2 = 0,007$
12	329,90 (278,50; 532,50) $p_2 = 0,015$ $p_3 = 0,481$	365,50 (155,0; 1030,75) $p_1 = 0,508$ $p_2 = 0,165$ $p_3 = 0,684$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників груп однакового віку з першим етапом центрифугування.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою 3-місячних щурів.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою 6-місячних щурів.

Таким чином, концентрація PDGF-BB у добровольців-волонтерів після другого етапу знизилася у обох вікових групах та не відрізнялася між віковими групами ні після першого, ні після другого етапів. Тоді як у щурів

концентрація PDGF-BB після другого етапу не змінилася, однак після першого та другого етапів була найвищою у 3-місячних щурів більше ніж у 2 рази порівняно з 6-місячними тваринами, та після другого – порівняно з 12-місячними.

Таблиця 5.6 — Концентрація фактору росту PDGF-BB (Me (25 %;75 %) у плазмі крові добровольців-волонтерів різного віку залежно від кількості етапів центрифугування крові

Вікові групи (роки)	Етапи центрифугування	
	перший	другий
від 20 до 29 років	480,90 (186,70; 759,90)	17,37 (15,49; 22,36) $p_1 = 0,007$
від 60 до 69 років	300,75 (121,88; 559,30) $p_2 = 0,684$	17,75 (16,31; 24,65) $p_1 = 0,022$ $p_2 = 0,684$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників груп однакового віку з першим етапом центрифугування.

Примітка 1. p_2 – порівняння показників груп однакового етапу центрифугування з групою від 20 до 29 років.

6 ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТУ ЛОКАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ ФАКТОРІВ РОСТУ ПЛАЗМИ КРОВІ НА ПЕРЕБІГ ОСТЕОРЕПАРАЦІЇ ТА ПЕРЕБУДОВУ КІСТКОВИХ АЛОІМПЛАНТАТІВ У МЕТАФІЗАРНИХ ДЕФЕКТАХ СТЕГНОВИХ КІСТОК ЩУРІВ

6.1 Вивчення особливостей репаративного остеогенезу в дефектах стегнових кісток щурів після пластики кістковими алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові

14 днів після імплантації

У 3-місячних щурів у ділянці дефекту виявлено кістковий імплантат у процесі перебудови, сполучну тканину, яка розміщувалася між його

трабекулами та подекуди по ділянках його периметру, та новоутворену кісткову тканину грубоволокнистої структури (рис. 6.1, а).

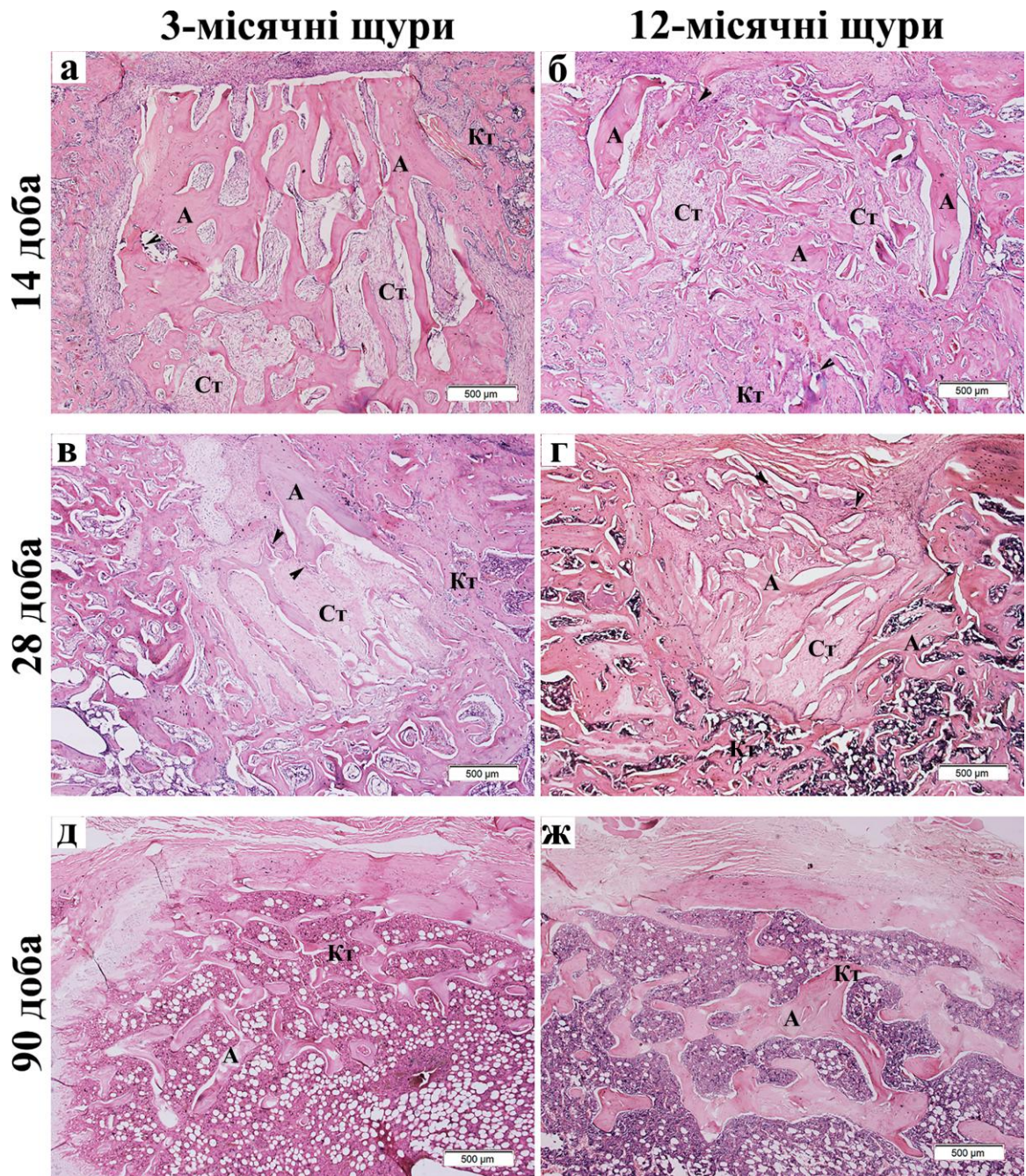


Рисунок 6.1 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістки 3-місячних (а, в, д) і 12-місячних (г, д, ж) щурів на 14, 28 та 90-ту доби після введення алоімплантата (А), насиченого факторами росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, території сполучної тканини (Ст), новоутворена кісткова тканина (Кт), багатоядерні клітини типу остеокластів (стрілки) на поверхні алогенного матеріалу. Гематоксилін та еозин.

Таблиця 6.1 — Відносний вміст (%) тканин у ділянці травматичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки щурів через 14, 28, 90 діб після встановлення алоімплантата, насиченого факторами росту плазми крові

Тип тканини або імплантат	Термін спостереження, доба					
	14		28		90	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Імплантат	19,30 ± 5,41 p ₁ = 0,659	24,36 ± 4,83 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,003	9,31 ± 4,91 p ₁ = 0,003 p ₃ < 0,001	9,67 ± 2,23 p ₁ = 0,108 p ₂ = 0,758 p ₃ < 0,001	0,45 ± 0,21 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	2,56 ± 0,88 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001
сполучна тканина	28,51 ± 8,83 p ₁ < 0,001	14,83 ± 10,18 p ₁ = 0,014 p ₂ < 0,001	27,98 ± 7,23 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,833	32,70 ± 3,84 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,013 p ₃ < 0,001	0 p ₁ = 0,087 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	2,26 ± 3,62 p ₁ = 0,152 p ₂ = 0,025 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001

Продовження табл. 6.1

1	2	3	4	5	6	7
кісткові трабекули	8,86 ± 3,17 p ₁ < 0,001	7,63 ± 2,06 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,147	19,50 ± 8,30 p ₁ = 0,508 p ₃ < 0,001	18,76 ± 4,08 p ₁ = 0,060 p ₂ = 0,713 p ₃ < 0,001	17,21 ± 5,90 p ₁ = 0,367 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,302	23,01 ± 9,32 p ₁ = 0,063 p ₂ = 0,038 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,104
кістковий мозок	43,33 ± 9,80 p ₁ = 0,022	53,18 ± 9,34 p ₁ = 0,001 p ₂ = 0,002	43,21 ± 3,31 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,956	38,87 ± 4,04 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	82,35 ± 5,04 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	72,17 ± 11,07 p ₁ = 0,232 p ₂ = 0,003 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001

Примітка 1. p₁ – порівняння показників відносної площі з групою такого самого віку з використанням для пластики дефекту алоімплантата на однаковий термін спостереження.

Примітка 2. p₂ – порівняння показників відносної площі у дефектах стегнової кістки щурів різного віку на однаковий термін після хірургічного втручання

Примітка 3. p₃ – порівняння показників відносної площі тканин у щурів одного віку на різний термін спостереження з 14-ю добою.

Примітка 4. p₄ – порівняння показників відносної площі тканин у щурів одного віку на різний термін спостереження з 28-ю добою.

У сполучній тканині визначені клітини остеобластичного та фібробластичного диферонів, судини капілярного типу, помірно заповнені еритроцитами. Щільність клітин була високою, фібробласти містили гіпохромні ядра з ядерцями, розвинуту цитоплазму. Новоутворені кісткові трабекули характеризувалися значною густиною остеоцитів із великими гіпохромними ядрами та базофільною цитоплазмою, навколо деяких із них не відмічено лакун, що дає змогу стверджувати про їхню участь у репаративному остеогенезі. По зовнішній поверхні новоутворених кісткових трабекул, а також місцями на поверхні алоімплантата (як зовнішній, так і внутрішній) розміщувалися функціонально активні остеобласти. Також на поверхні алоімплантаті відмічали багатоядерні клітини чужорідних тіл типу остеокластів, які беруть участь у його перебудові.

За результатами гістоморфометрії відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту більшою у 2,9 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул і кісткового мозку — меншими у 2,1 раза ($p < 0,001$) та 1,2 раза ($p = 0,022$) відповідно порівняного з групою такого самого віку з алоімплантатом без факторів росту (група Алоімплантат, рис. 2.1). Водночас площа алоімплантата не відрізнялася (див. табл. 3.1, табл. 6.1).

У *12-місячних щурів* за вмістом зона дефекту не відрізнялася від щурів молодшої групи: у ній виявлено кістковий алоімплантат в процесі перебудови, сполучну та новоутворену кісткову тканини (рис. 6.1, б). Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін площа алоімплантата виявилася більшою в 1,3 раза ($p = 0,003$), кісткового мозку — в 1,2 раза ($p = 0,002$), сполучної тканини — меншою в 1,9 раза ($p < 0,001$) (табл. 6.1). Сполучна тканина розташовувалася в центральній частині алоімплантата, між його трабекулами. Утворення кісткових трабекул, відносна площа яких не відрізнялася від показника в молодших тварин, зафіксовано з боку дефекту і в губчастій кістці, і в кірковому шарі. Також, як і у молодших щурів на окремих трабекулах алоімплантанта виявлялися остеокласти.

Так само як у 3-місячних щурів, у 12-місячних відносна площа сполучної тканини виявилася більшою в 1,8 раза ($p = 0,014$), кісткових трабекул та кісткового мозку — меншою в 1,9 раза ($p < 0,001$) та 1,2 раза ($p < 0,001$) відповідно, алоімплантата — порівнянною з показниками групи Алоімплантат такого самого віку (див. табл. 3.1, табл. 6.1).

28 діб після імплантації

На цей термін спостереження у 3-місячних щурів у центральній ділянці дефекту виявлено фрагменти алоімплантата у вигляді тоненьких трабекул, між якими розташувалася сполучна тканина різного ступеня зрілості. Решта частина дефекту, у тому числі й зона дефекту в кірковому шарі, була заповнена новоутвореними дрібнопетлястими кістковими трабекулами з ретикуло-фіброзною тканиною та червоним кістковим мозком між ними (рис. 6.1, в). Установлено, що порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,1 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул — збільшилася в 2,2 раза ($p < 0,001$), водночас площі сполучної тканини та кісткового мозку значуще не змінилися (табл. 6.1).

Порівняно з групою Алоімплантат такого самого віку на цей термін дослідження відносна площа алоімплантата виявилася меншою в 1,9 раза ($p = 0,003$), кісткового мозку — в 1,4 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — більшою у 12,7 раза ($p < 0,001$), відносна площа кісткових трабекул — не відрізнялася (табл. 3.1, 6.1).

У 12-місячних щурів гістологічна картина зони дефекту була аналогічною до описаної в 3-місячних тварин на цей термін (рис. 6.1, г). У ній виявлялися фрагменти алоімплантата, на деяких трабекулах містилися остеобласти. Кісткова тканина формувалася і з боку кісткового мозку, і з боку кортексу. Порівняно з попереднім терміном дослідження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,5 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — в 1,4 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини, навпаки, збільшилася — у 2,2 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул — у 2,5 раза ($p < 0,001$). Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін площа сполучної тканини була більшою в

1,2 раза ($p = 0,013$), кісткового мозку — в 1,1 раза ($p < 0,001$), інші показники не відрізнялися (табл. 6.1).

Порівняно з 12-місячними щурами, яким для пластики дефекту використаний алоімплантат без факторів росту, на цей термін спостереження відносна площа сполучної тканини виявилася більшою в 6,6 раза ($p < 0,001$), а кісткового мозку — меншою в 1,7 раза ($p < 0,001$), проте і площа алоімплантата, і кісткових трабекул не відрізнялася (див. табл. 3.1, табл. 6.1).

90 діб після імплантації

У щурів обох вікових груп встановлено майже повне заміщення кісткового алогенного матеріалу кістковою тканиною пластинчастої структури. Залишки алоімплантата виявлено серед перебудованих кісткових трабекул (рис. 6.1, д, ж). Його площа не перевищувала 1–3 % від загальної площі дефекту та зменшилася порівняно з 14-ю добою в 42,9 раза ($p < 0,001$) і 9,6 раза ($p < 0,001$) у молодших і старших тварин відповідно. При цьому показник площі алоімплантата у 12-місячних щурів був більшим за показник у 3-місячних у 5,7 раза ($p < 0,001$) (табл. 6.1). Травмований кірковий шар був відновлений у 3-місячних щурів до початкової структури, у 12-місячних у ньому відмічали невеличкі осередки сполучної тканини.

Порівняно з 14-ою добою спостереження відносна площа кісткових трабекул та кісткового мозку збільшилася в 3-місячних щурів в 1,9 раза ($p < 0,001$), у 12 місячних — у 3,0 раза ($p < 0,001$) та 1,4 раза ($p < 0,001$) відповідно. Сполучна тканина не виявлена у зоні дефекту 12-місячних щурів на цей термін, а у 12-місячних її площа хоча й зменшилася порівняно з 14-ю добою в 6,6 раза ($p < 0,001$), а з 28-ю — в 14,5 раза ($p < 0,001$), все ще складала $(2,26 \pm 3,62)$ % від загальної площі дефекту.

Порівняно з групами відповідного віку з використанням для пластики дефекту алоімплантата без факторів росту в 3-місячних щурів відносна площа алоімплантата в зоні дефекту на 90-ту добу спостереження була меншою у 23,6 раза ($p < 0,001$), а кісткового мозку — більшою в 1,2 раза ($p < 0,001$), інші показники не відрізнялися. У 12-місячних щурів, як і у 3-

місячних, відносна площа алоімплантата була меншою в 3,9 раза ($p < 0,001$), інші показники не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.1).

Таким чином, у щурів обох вікових груп (дефект заповнений алоімплантатом, насиченим факторами росту плазми крові) порівняно з серією експерименту, де за остеопластичний матеріал використано алоімплантат без факторів росту, визначено надлишкове утворення сполучної тканини в ділянці дефекту через 14 і 28 діб після операції з більшим проявом у молодших щурів. При цьому затримку кісткоутворення виявлено в щурів обох вікових груп лише на 14-у добу, а на 28-у і 90-у — показники відносної площі кісткових трабекул не відрізнялися від показників групи Алоімплантат. Протягом експерименту у щурів обох вікових груп відносна площа алоімплантата зменшувалася і процес його перебудови, на відміну від груп Алоімплантат, майже завершився на 90-у добу. Також із плином часу (із 28-ї до 90-ї доби) зменшувалася відносна площа сполучної тканини (до повної відсутності в 3-місячних щурів на 90-ту добу), а кісткових трабекул (із 14-ї до 28-ї) та кісткового мозку (із 28-ї до 90-ї) — збільшувалася. Анатомічна будова стегнових кісток відповідала нормальній в усіх випадках.

Отже, насичення алоімлантата факторами росту плазми крові сприяє скорішій його перебудові зі заміщенням на 90-ту добу кістковою тканиною пластинчастої структури незалежно від віку реципієнта. Проте надлишкове утворення сполучної тканини в ділянці дефекту через 14 і 28 діб (з найбільшим проявом у молодших тварин) може негативно позначитися на механічних властивостях кістки, що слід враховувати в клінічних умовах.

6.2 Результати дослідження впливу локального введення факторів росту плазми крові на перебіг репаративного остеогенезу після пластики дефектів стегнових кісток щурів алоімплантатами

14 діб після імплантації

1 ін'єкція факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів алогенний кістковий імплантат займав 24,97 % від

загальної площі дефекту. Новоутворені кісткові трабекули грубоволокнистої структури з червоним кістковим мозком між ними утворювалися по периметру дефекту, заміщуючи алоімплантат. Кісткові трабекули характеризувалися високою щільністю остеоцитів, на їхній зовнішній поверхні розташовувалися остеобласти. Сполучна тканина розташовувалася в дефекті кіркового шару та поміж трабекулами алоімплантата, паралельно до яких були спрямовані пучки колагенових волокон. У сполучній тканині спостерігали кровоносні судини капілярного типу, клітини фібробластичного і остеобластичного диферонів. Фібробласти густо розташовувалися між волокнами (рис. 6.2, а).

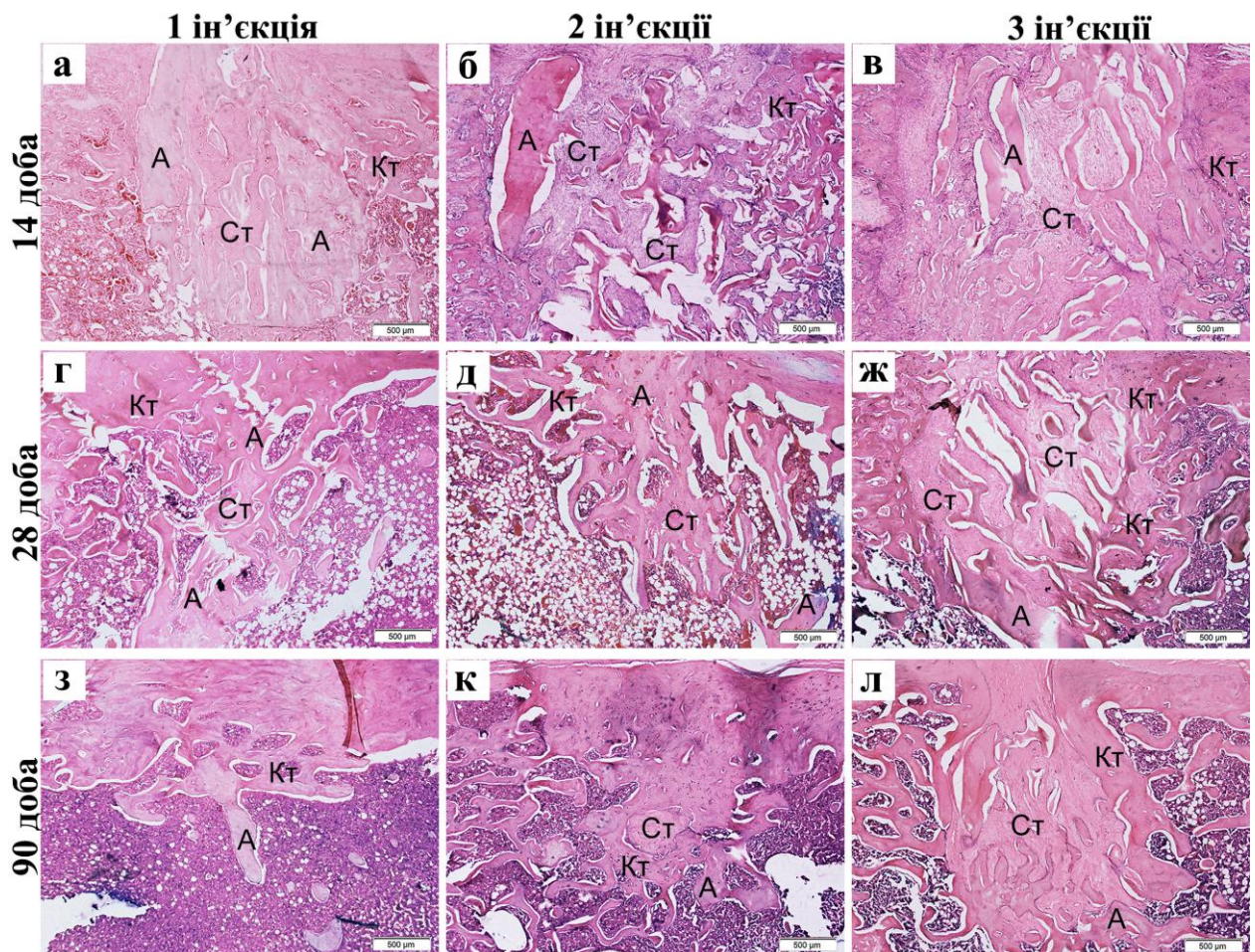


Рисунок 6.2 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістці 3-місячних щурів на 14, 28 та 90-ту доби після введення алоімплантата (А) та локальних ін'єкцій (1, 2 чи 3) факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, території сполучної тканини (Ст), новоутворена кісткова тканина (Кт). Гематоксилін та еозин.

За результатами гістоморфометрії у 3-місячних щурів відносна площа алоімплантата в зоні дефекту виявилася більшою в 1,3 раза ($p = 0,020$), новоутворених кісткових трабекул — меншою в 1,7 раза ($p = 0,017$), а сполучної тканини і кісткового мозку — не відрізнялася порівняно з групою Алоімплантат цього віку.

У 12-місячних щурів гістологічна картина була порівнянною з описаною у 3-місячних тварин. У зоні дефекту також виявлений алоімплантат, перебудова якого відбувалася за рахунок утворення сполучної та кісткової тканин (рис. 6.3, а). Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін відносна площа сполучної тканини була меншою у 2,4 раза ($p = 0,011$), а інші вимірювані показники не відрізнялися (табл. 6.2). Відносна площа алоімплантата в зоні дефекту була більшою у 2,0 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул і кісткового мозку — меншою в 1,5 раза ($p = 0,001$) і 1,2 раза ($p = 0,001$) відповідно, сполучної тканини — не відрізнялася порівняно з групою Алоімплантат цього віку.

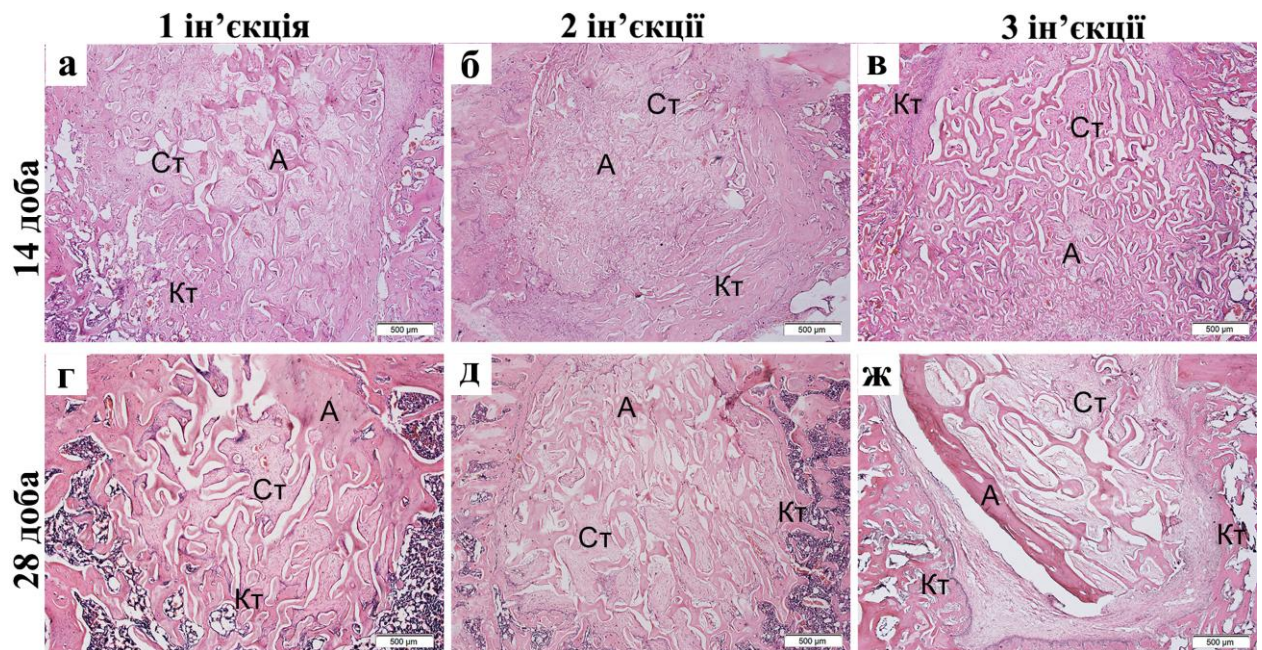


Рисунок 6.3 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістці 12-місячних щурів на 14 та 28-у доби після введення алоімплантата (А) та локальних ін'єкцій (1, 2 чи 3) факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, території сполучної тканини (Ст), новоутворена кісткова тканина (Кт). Гематоксилін та еозин.

Таблиця 6.2 — Відносний вміст (%) тканин у ділянці травматичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки щурів різного віку залежно від кількості ін'єкцій факторів росту на 14-у добу після встановлення алоімплантата окремо, або у комбінації з МСК чи факторами росту

Тип тканини або імплантат	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Група щурів Алоімплантат						
Імплантат	24,97 ± 9,71 p ₁ = 0,020	30,21 ± 8,36 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,062	22,03 ± 6,42 p ₁ = 0,159	18,40 ± 3,36 p ₁ = 0,036 p ₂ = 0,034	20,99 ± 5,63 p ₁ = 0,288	24,53 ± 8,09 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,097
сполучна тканина	16,64 ± 15,17 p ₁ = 0,084	7,02 ± 6,47 p ₁ = 0,412 p ₂ = 0,011	33,29 ± 11,89 p ₁ < 0,001	16,26 ± 9,73 p ₁ = 0,008 p ₂ < 0,001	28,63 ± 7,73 p ₁ < 0,001	18,19 ± 8,72 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001
кісткові трабекули	11,86 ± 10,33 p ₁ = 0,017	9,47 ± 3,66 p ₁ = 0,001 p ₂ = 0,315	7,71 ± 3,63 p ₁ < 0,001	9,29 ± 3,65 p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,199	15,66 ± 5,53 p ₁ = 0,113	9,85 ± 3,52 p ₁ = 0,002 p ₂ < 0,001
кістковий мозок	46,52 ± 16,68 p ₁ = 0,249	53,30 ± 8,87 p ₁ = 0,001 p ₂ = 0,102	36,97 ± 9,71 p ₁ < 0,001	56,05 ± 7,65 p ₁ = 0,012 p ₂ < 0,001	34,72 ± 8,38 p ₁ < 0,001	47,43 ± 6,37 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Продовження табл. 6.2

1	2	3	4	5	6	7
Група щурів Алоімплантат+МСК						
Імплантат	15,66 ± 8,02 p ₁ = 0,416 p ₃ = 0,002	24,06 ± 3,20 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,003	13,97 ± 3,66 p ₁ = 0,112 p ₃ < 0,001	30,08 ± 8,90 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	20,12 ± 5,07 p ₁ = 0,450 p ₃ = 0,598	24,19 ± 4,30 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,868
сполучна тканина	45,06 ± 12,64 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001	39,35 ± 7,42 p ₂ = 0,090 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001	33,85 ± 8,79 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,985	28,22 ± 9,14 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,071 p ₃ = 0,001	37,15 ± 7,22 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,001	34,92 ± 10,88 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,438 p ₃ < 0,001
кісткові трабекули	9,26 ± 4,90 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,297	5,09 ± 2,75 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,002 p ₃ < 0,001	13,52 ± 4,64 p ₁ = 0,021 p ₃ < 0,001	0,34 ± 0,63 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	12,63 ± 7,03 p ₁ = 0,015 p ₃ = 0,118	3,86 ± 2,52 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001
кістковий мозок	30,02 ± 6,85 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001	31,49 ± 7,30 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,512 p ₃ < 0,001	39,17 ± 6,47 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,394	41,35 ± 11,06 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,440 p ₃ < 0,001	30,10 ± 6,43 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,048	37,03 ± 8,25 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,004 p ₃ < 0,001

Продовження табл. 6.2

1	2	3	4	5	6	7
Група щурів Алоімплантат+ФР						
Імплантат	23,61 ± 6,57 p ₁ = 0,054 p ₃ = 0,581	19,54 ± 1,86 p ₁ = 0,004 p ₂ = 0,009 p ₃ < 0,001	25,26 ± 7,96 p ₁ = 0,017 p ₃ = 0,152	-	26,92 ± 7,15 p ₁ = 0,004 p ₃ = 0,003	17,24 ± 4,12 p ₁ = 0,157 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,001
сполучна тканина	21,87 ± 8,47 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,165	16,32 ± 14,65 p ₁ = 0,053 p ₂ = 0,186 p ₃ = 0,028	28,48 ± 11,70 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,188	-	33,78 ± 7,93 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,033	30,88 ± 6,94 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,210 p ₃ < 0,001
кісткові трабекули	5,15 ± 3,55 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,008	11,23 ± 5,94 p ₁ = 0,102 p ₂ = 0,001 p ₃ = 0,307	10,20 ± 3,61 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,030	-	8,31 ± 5,17 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001	10,07 ± 3,59 p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,203 p ₃ = 0,843
кістковий мозок	49,37 ± 12,46 p ₁ = 0,520 p ₃ = 0,521	52,91 ± 14,40 p ₁ = 0,024 p ₂ = 0,419 p ₃ = 0,925	36,07 ± 6,66 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,725	-	30,99 ± 8,49 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,145	41,81 ± 11,19 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,001 p ₃ = 0,054

Примітка 1. p₁ – порівняння показників відносної площі з групою Алоімплантат (без ін'єкцій ФР, див. табл. 3.1) такого самого віку на однаковий термін спостереження.

Примітка 2. p₂ – порівняння показників відносної площі у дефектах стегнової кістки щурів різного віку у однакових групах за кількістю ін'єкцій та інших факторів.

Примітка 3. p₃ – порівняння показників відносної площі у дефектах стегнової кістки щурів однакового віку та кількістю ін'єкцій з групою Алоімплантат+ін'єкції

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів в ділянці дефекту виявлений алоімплантат, у «міжтрабекулярних просторах» якого містилися сполучна тканина з великою густиною активних клітин фібробластичного та остеобластичного диферонів, кровоносних судини капілярного типу (рис. 6.2, б). Пучки колагенових волокон, як і довга вісь фібробластів, були орієнтовані вздовж елементів алоімплантата. Грубоволокниста кісткова тканина утворювалася з боку дефекту губчастої кістки та проростала в глибину алоімплантата. Новоутворені кісткові трабекули характеризувалися високою щільністю остеоцитів, на їхній зовнішній поверхні розміщувалися остеобласти та поодинокі остеокласти, що свідчить про ремоделювання новоутвореної кісткової тканини. На поверхні материнського кортексу визначено утворення хондроїду.

Установлено, що відносна площа сполучної тканини була більшою в 3,4 раза ($p < 0,001$), новоутворених кісткових трабекул та кісткового мозку — меншою в 2,6 раза ($p < 0,001$) і 1,4 раза ($p < 0,001$) відповідно, алоімплантата — не відрізнялася порівняно з групою Алоімплантат цього віку (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

У 12-місячних щурів зона дефекту також була заповнена алоімплантатом у процесі перебудови, між трабекулами різної товщини якого розташовувалася сполучна тканина, площа якою була меншою у 2,0 раза ($p < 0,001$) порівняно з 3-місячними щурами на цей термін. Кісткова тканина підростала з боку дефекту в губчастій кістці, а в дефекті кіркового шару утворилася щільна сполучна тканина (рис. 6.3, б). Порівняно з молодшими тваринами площа алоімплантата була меншою в 1,2 раза ($p = 0,034$), кісткового мозку — більшою в 1,5 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул — не відрізнялася (табл. 6.2).

Порівняно з групою Алоімплантат відносна площа сполучної тканини та алоімплантата виявилася більшою в 1,9 раза ($p = 0,008$) і 1,2 раза ($p = 0,036$) відповідно; площі кісткових трабекул та кісткового мозку —

меншими в 1,5 раза ($p = 0,002$) і 1,1 раза ($p = 0,012$) відповідно (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

3 ін'єкції факторів росту

У 3-місячних щурів в зоні дефекту виявлено алоімплантат, між кістковими трабекулами якого містилася сполучна тканина, котра також займала зону дефекту кортексу. У ній спостерігали повнокровні кровоносні судини капілярного типу. Фібробласти видовженою віссю розташовувалися паралельно до кісткових трабекул алоімплантата. Грубоволокниста кісткова тканина зі значною кількістю густо розташованих остеоцитів та остеобластів по зовнішній поверхні трабекул виявлена з боку дна дефекту (рис. 6.2, в). На поверхні трабекул кісткових алоімплантатів подекуди визначні багатоядерні клітини типу остеокластів, що свідчить про їхню перебудову. За результатами гістоморфометрії встановлено, що відносна площа сполучної тканини була більшою у 2,9 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — меншою в 1,5 раза ($p < 0,001$), а площі новоутворених кісткових трабекул та алоімплантата — не відрізнялися від показників групи Алоімплантат цього віку (див. табл. 3.1, 6.2).

У 12-місячних щурів за структурою зона дефекту не відрізнялася від описаної для 3-місячних щурів: у ній був розташований алоімплантат, оточений сполучною тканиною та дрібнопітлястими кістковими трабекулами грубоволокнистої структури (рис. 6.3, в). Порівняно з 3-місячними щурами в цьому досліді відносні площі сполучної тканини та кісткових трабекул були меншими в 1,6 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — більшою в 1,4 раза ($p < 0,001$), площа алоімплантата — не відрізнялася. Порівняно з групою Алоімплантат відносна площа алоімплантата в зоні дефекту була більшою в 1,7 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — у 2,2 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул і кісткового мозку — меншою в 1,4 раза ($p = 0,002$) і 1,3 раза ($p < 0,001$) відповідно.

Таблиця 6.3 — Відносний вміст (%) тканин у ділянці травматичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки щурів різного віку залежно від кількості ін'єкцій факторів росту на 28-у добу після встановлення алоімплантата окремо, або у комбінації з МСК чи факторами росту

Тип тканини або імплантат	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Група Алоімплантат						
Імплантат	6,37 ± 1,47 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001	12,63 ± 3,00 p ₁ = 0,599 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001	11,03 ± 7,07 p ₁ = 0,018 p ₃ < 0,001	25,27 ± 9,91 p ₁ = 0,002 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,006	8,81 ± 4,03 p ₁ = 0,001 p ₃ < 0,001	9,65 ± 5,79 p ₁ = 0,135 p ₂ = 0,585 p ₃ < 0,001
сполучна тканина	4,36 ± 4,36 p ₁ = 0,055 p ₃ = 0,001	11,73 ± 10,64 p ₁ = 0,016 p ₂ = 0,007 p ₃ = 0,085	9,24 ± 9,69 p ₁ = 0,004 p ₃ < 0,001	7,53 ± 4,58 p ₁ = 0,117 p ₂ = 0,472 p ₃ = 0,003	15,34 ± 14,77 p ₁ = 0,001 p ₃ = 0,001	11,43 ± 11,33 p ₁ = 0,027 p ₂ = 0,342 p ₃ = 0,037
кісткові трабекули	19,91 ± 10,43 p ₁ = 0,477 p ₃ = 0,015	18,38 ± 6,68 p ₁ = 0,141 p ₂ = 0,576 p ₃ < 0,001	22,20 ± 5,95 p ₁ = 0,025 p ₃ < 0,001	10,79 ± 4,19 p ₁ = 0,032 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,253	17,31 ± 6,02 p ₁ = 0,681 p ₃ = 0,349	23,79 ± 9,03 p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,009 p ₃ < 0,001

Продовження табл. 6.3

1	2	3	4	5	6	7
кістковий мозок	69,36 ± 11,27 p ₁ = 0,030 p ₃ < 0,001	57,26 ± 9,36 p ₁ = 0,002 p ₂ = 0,001 p ₃ = 0,162	57,53 ± 9,82 p ₁ = 0,260 p ₃ < 0,001	56,40 ± 5,55 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,650 p ₃ = 0,877	58,54 ± 16,01 p ₁ = 0,525 p ₃ < 0,001	55,13 ± 15,61 p ₁ = 0,007 p ₂ = 0,488 p ₃ = 0,046
Група Алоімплантат+МСК						
Імплантат	15,66 ± 5,61 p ₁ = 0,335 p ₃ = 0,997 p ₄ < 0,001	16,89 ± 11,64 p ₁ = 0,434 p ₂ = 0,665 p ₃ = 0,012 p ₄ = 0,113	11,34 ± 4,27 p ₁ = 0,015 p ₃ = 0,038 p ₄ = 0,865	21,04 ± 7,34 p ₁ = 0,027 p ₂ < 0,001 p ₃ = 0,001 p ₄ = 0,124	11,31 ± 6,72 p ₁ = 0,021 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,152	17,95 ± 4,01 p ₁ = 0,160 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001
сполучна тканина	29,92 ± 8,17 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	16,51 ± 12,62 p ₁ = 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,193	25,94 ± 11,77 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,026 p ₄ < 0,001	19,82 ± 2,55 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,029 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	30,00 ± 8,10 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,004 p ₄ < 0,001	32,04 ± 9,57 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,460 p ₃ = 0,369 p ₄ < 0,001
кісткові трабекули	15,24 ± 4,22 p ₁ = 0,073 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,069	15,59 ± 8,60 p ₁ = 0,835 p ₂ = 0,868 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,247	15,07 ± 7,44 p ₁ = 0,150 p ₃ = 0,421 p ₄ = 0,001	12,41 ± 6,46 p ₁ = 0,230 p ₂ = 0,223 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,342	16,46 ± 4,54 p ₁ = 0,315 p ₃ = 0,042 p ₄ = 0,608	10,81 ± 4,46 p ₁ = 0,035 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001

Продовження табл. 6.3

1	2	3	4	5	6	7
кістковий мозок	39,18 ± 9,61	51,01 ± 11,12	47,65 ± 10,15	46,73 ± 8,14	42,23 ± 4,51	39,20 ± 6,92
	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001
	p ₃ = 0,001	p ₂ = 0,001	p ₃ = 0,003	p ₂ = 0,748	p ₃ < 0,001	p ₂ = 0,100
	p ₄ < 0,001	p ₃ < 0,001	p ₄ = 0,003	p ₃ = 0,081	p ₄ < 0,001	p ₃ = 0,363
						p ₄ < 0,001
Група Алоімплантат + ФР						
Імплантат	8,93 ± 1,98	15,39 ± 6,85	17,48 ± 4,72	18,32 ± 6,28	10,25 ± 4,85	6,29 ± 3,35
	p ₁ = 0,001	p ₁ = 0,651	p ₁ = 0,737	p ₁ = 0,164	p ₁ = 0,006	p ₁ = 0,008
	p ₃ < 0,001	p ₂ < 0,001	p ₃ < 0,001	p ₂ = 0,647	p ₃ < 0,001	p ₂ = 0,007
	p ₄ < 0,001	p ₃ = 0,014	p ₄ = 0,001	p ₄ = 0,014	p ₄ = 0,300	p ₃ < 0,001
		p ₄ = 0,103				p ₄ = 0,032
сполучна тканина	8,50 ± 5,42	13,24 ± 6,72	24,89 ± 9,62	1,94 ± 0,81	7,14 ± 8,36	8,53 ± 6,73
	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ < 0,001	p ₁ = 0,032	p ₁ = 0,015	p ₁ = 0,088
	p ₃ < 0,001	p ₂ = 0,015	p ₃ = 0,280	p ₂ < 0,001	p ₃ < 0,001	p ₂ = 0,581
	p ₄ = 0,009	p ₃ = 0,443	p ₄ < 0,001	p ₄ < 0,001	p ₄ = 0,034	p ₃ < 0,001
		p ₄ = 0,587				p ₄ = 0,335
кісткові трабекули	16,83 ± 4,69	9,27 ± 2,65	15,94 ± 4,28	14,14 ± 4,53	17,87 ± 5,52	20,96 ± 9,64
	p ₁ = 0,439	p ₁ = 0,003	p ₁ = 0,173	p ₁ = 0,652	p ₁ = 0,914	p ₁ = 0,043
	p ₃ < 0,001	p ₂ < 0,001	p ₃ < 0,001	p ₂ = 0,225	p ₃ < 0,001	p ₂ = 0,251
	p ₄ = 0,227	p ₃ = 0,235	p ₄ < 0,001	p ₄ = 0,026	p ₄ = 0,756	p ₃ < 0,001
						p ₄ = 0,359

Продовження табл. 6.3

1	2	3	4	5	6	7
кістковий мозок	65,74 ± 5,81 p ₁ = 0,136 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,190	62,10 ± 8,47 p ₁ = 0,115 p ₂ = 0,106 p ₃ = 0,033 p ₄ = 0,086	41,68 ± 6,96 p ₁ < 0,001 p ₃ = 0,010 p ₄ < 0,001	65,50 ± 4,73 p ₁ = 0,856 p ₂ < 0,001 p ₄ < 0,001	64,74 ± 12,30 p ₁ = 0,367 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,167	64,22 ± 6,87 p ₁ = 0,443 p ₂ = 0,869 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,023

Примітка 1. p₁ – порівняння показників відносної площі з групою Алоімплантат (без ін'єкцій ФР, див. табл. 3.1) такого самого віку на однаковий термін спостереження.

Примітка 2. p₂ – порівняння показників відносної площі у дефектах стегнової кістки щурів різного віку у однакових групах за кількістю ін'єкцій та інших факторів.

Примітка 3. p₃ – порівняння показників відносної площі тканин у щурів одного віку на різний термін спостереження з 14-ю добою.

Примітка 4. p₄ – порівняння показників відносної площі у дефектах стегнової кістки щурів однакового віку та кількістю ін'єкцій з групою Алоімплантат+ін'єкції.

*28 діб після імплантації**I ін'єкція*

У 3-місячних щурів, як і на попередній термін дослідження, у ділянці дефекту виявлено фрагменти алоімплантата, площа якого зменшилася порівняно з 14-ю добою в 3,9 раза ($p < 0,001$), сполучну та грубоволокнисту кісткову тканини (рис. 6.2, г). При цьому відносно 14-ї доби спостереження площа сполучної тканини зменшилася в 3,8 раза ($p = 0,001$), а кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилася в 1,7 раза ($p = 0,015$) і 1,5 раза ($p < 0,001$) відповідно (табл. 6.2, 6.3).

Порівняно з групою Алоімплантат цього віку за результатами гістоморфометрії встановлено, що площа алоімплантата в зоні дефекту була меншою у 2,9 разу ($p < 0,001$), а кісткового мозку — більшою в 1,1 раза ($p = 0,030$), площі сполучної тканини та кісткових трабекул — не відрізнялися (табл. 3.1, 6.3).

У 12-місячних щурів у дефекті виявлено новоутворену кісткову тканину, переважно пластинчастої структури, яка розташовувалася і в дефекті кортексу. Залишки алоімплантата розташовувалися серед сполучної тканини, подекуди між трабекулами формувалася кістковий мозок (рис. 6.3, г). Порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,4 раза ($p < 0,001$), але була більшою в 1,9 раза ($p < 0,001$), ніж у 3-місячних щурів. Площа кісткових трабекул збільшилася в 1,9 раза ($p < 0,001$) порівняно з 14-ю добою та не відрізнялася від показника 3-місячних щурів, а сполучної тканини та кісткового мозку — значуще не змінилися. При цьому площа сполучної тканини виявилася більшою у 2,7 раза ($p = 0,016$), а кісткового мозку — меншою в 1,2 раза ($p < 0,001$) порівняно з 3-місячними щурами на цей термін (табл. 6.2, 6.3).

Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа сполучної тканини була більшою у 2,3 раза ($p = 0,016$), кісткового мозку — меншою в 1,2 раза ($p = 0,002$), алоімплантата і кісткових трабекул — не відрізнялися.

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У *3-місячних щурів* залишки алоімплантата були замуrowані в кістковій тканині пластинчастої структури, яка також заповнила місце ушкодження кіркового шару. Лише подекуди алоімплантата виявлено сполучну тканину, на окремих його фрагментах — багатоядерні клітини типу остеокластів, що свідчить про подальшу перебудову (рис. 6.2, д). Відносна площа алоімплантата зменшилася порівняно з 14-ю добою спостереження в 1,9 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 3,6 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилася у 2,9 раза ($p < 0,001$) і 1,5 раза ($p < 0,001$) відповідно (табл. 6.2, 6.3). Порівняно з групою Алоімплантат цього самого віку та на цей термін спостереження показники відносної площі також виявилися перспективними: алоімплантата була меншою в 1,7 раза ($p = 0,018$), сполучної тканини та кісткових трабекул — більшою в 4,2 раза ($p = 0,004$) і 1,2 раза ($p = 0,025$) відповідно, відносна площа кісткового мозку — не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.3).

У *12-місячних щурів* зона дефекту була виповнена алоімплантатом з трабекулами різної товщини, між якими розташовувалася сполучна тканина зі значною кількістю бластних клітин. Кісткова тканина сформувалася з боку дефекту у губчастій кістці, а в зоні ушкодження кіркового шару — хондрод (рис. 6.3, д). Порівняно з 14-ою добою відносна площа сполучної тканини зменшилася у 2,2 раза ($p = 0,003$) і не відрізнялася від показника 3-місячних тварин; кісткових трабекул і кісткового мозку не змінилися. Відносна площа кісткових трабекул була меншою у 2,1 раза ($p < 0,001$) за показник 3-місячних щурів (табл. 6.2, 6.3). Порівняно з групою Алоімплантат цього віку і терміну спостереження, на відміну від 3-місячних щурів відповідної групи, відносні площі кісткових трабекул та кісткового мозку були меншими в 1,4 раза ($p = 0,032$) і 1,2 раза ($p < 0,001$) відповідно, алоімплантата — більшою в 1,8 раза ($p = 0,002$), сполучної тканини — не відрізнялася (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

3 ін'єкції факторів росту плазми крові

У *3-місячних щурів* у зоні кортексу переважала новоутворена кісткова

тканина пластинчастої структури. Залишки алоімплантата у вигляді тонких трабекул містилися в центральній частині дефекту, решту — заповнювали новоутворені кісткові трабекули різного ступеня зрілості (рис. 6.2, ж), відносна площа яких не змінилася порівняно з показником 14-ї доби. Натомість порівняно з цим терміном спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,4 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 1,9 раза ($p = 0,001$), кісткового мозку — збільшилася в 1,7 раза ($p < 0,001$) (табл. 6.2, 6.3). Порівняно з групою Алоімплантат цього віку і на цей самий термін дослідження відносна площа алоімплантата також виявилася меншою у 2,1 раза ($p = 0,001$), проте сполучної тканини — більшою в 6,9 раза ($p = 0,001$), кісткових трабекул та кісткового мозку — не відрізнялися (див. табл. 3.1, 6.3).

У *12-місячних щурів* зона дефекту за структурним вмістом не відрізнялася від писаної для 3-місячних щурів: новоутворена кісткова тканина заповнювала дефект в зоні кортексу і губчастої кістки, оточуючи залишки алоімплантата, в центральних відділах якого розміщувалася сполучна тканина (рис. 6.3, ж). Порівняно з 14-ою добою відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,5 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 1,6 раза ($p = 0,037$), кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилася у 2,4 раза ($p < 0,001$) і 1,2 раза ($p = 0,046$) відповідно. Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін відносна площа кісткових трабекул була більшою в 1,4 раза ($p = 0,009$), а інші показники не відрізнялися (див. табл. 3.1, 6.3). Динаміка вимірних показників є позитивною для перебігу репаративного остеогенезу. Несприятливим моментом з огляду на біомеханіку, є те, що порівняно з групою Алоімплантата того самого віку і терміну дослідження відносна площа сполучної тканини була більшою у 2,3 раза ($p = 0,027$), проте позитивним — більша в 1,6 раза ($p = 0,002$) площа кісткових трабекул. Площа алоімплантата — не відрізнялася (див. табл. 3.1, табл. 6.3).

90 діб після імплантації

І ін'єкція факторів росту плазми крові

На цей термін дослідження у *3-місячних щурів* майже всю площу

критичного дефекту займали новоутворені кісткові трабекули пластинчастої структури, які характеризувалися високою щільністю остеоцитів. Кортекс був сформований і відповідав за структурою первинному. Залишки алоімплантата були замуrowані в кісткових трабекулах. Сполучну тканину в зоні дефекту не виявлено (рис. 6.2, з). Порівняно з 14-ою добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася в 4,1 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилася в 1,5 раза ($p = 0,040$) і 1,6 раза ($p < 0,001$) відповідно (табл. 6.2, 6.4).

Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа алоімплантата в зоні дефекту виявилася меншою в 1,8 раза ($p = 0,001$), а кісткового мозку — більшою в 1,1 раза ($p = 0,005$), сполучної тканини та кісткових трабекул — не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.4).

У *12-місячних щурів* гістологічна картина була аналогічною до описаної для 3-місячних тварин на цей термін дослідження: дефект був заповнений кістковою тканиною пластинчастої структури, кортекс сформований, залишки імплантату були оточені кістковою тканиною (рис. 6.4, а). Подекуди між кістковими трабекулами виявляли сполучну тканину, площа якої становила $(1,83 \pm 3,41) \%$ від загальної площі дефекту та була меншою порівняно з 14-ою добою спостереження в 3,8 раза ($p = 0,003$). Відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,5 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилася в 1,9 раза ($p < 0,001$) і 1,4 раза ($p < 0,001$) відповідно порівняно з 14-ою добою спостереження. Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін всі показники не відрізнялися, крім сполучної тканини, яка була відсутня у 3-місячних щурів (табл. 6.2, 6.4).

Порівняно з групою Алотрансплантат цього віку на 90-у добу спостереження відносні площі сполучної тканини та алоімплантата були меншими у 2,0 рази ($p = 0,043$) і 1,9 рази ($p = 0,001$) відповідно, кісткового мозку — більшою в 1,1 раза ($p = 0,006$), площа кісткових трабекул — не відрізнялася (див. табл. 3.1, табл. 6.4).

Таблиця 6.4 — Відносний вміст (%) тканин у ділянці травматичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки щурів різного віку залежно від кількості ін'єкцій факторів росту на 90-у добу після встановлення алоімплантата окремо, або у комбінації з МСК чи факторами росту

Тип тканини або імплантат	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Група Алоімплантат						
Імплантат	6,07 ± 3,34 p ₁ = 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,709	5,13 ± 4,38 p ₁ = 0,001 p ₂ = 0,471 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	5,34 ± 4,28 p ₁ = 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,003	6,62 ± 5,62 p ₁ = 0,035 p ₂ = 0,142 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	9,56 ± 3,46 p ₁ = 0,408 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,520	-
сполучна тканина	0,00 p ₁ = 0,087 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	1,83 ± 3,41 p ₁ = 0,043 p ₂ = 0,042 p ₃ = 0,003 p ₄ < 0,001	3,21 ± 5,58 p ₁ = 0,023 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,019	2,00 ± 3,53 p ₁ = 0,060 p ₂ = 0,407 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	15,54 ± 2,99 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,953	-
кісткові трабекули	17,38 ± 6,08 p ₁ = 0,432 p ₃ = 0,040 p ₄ = 0,345	18,70 ± 3,75 p ₁ = 0,587 p ₂ = 0,418 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,853	21,19 ± 7,84 p ₁ = 0,281 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,639	19,53 ± 6,53 p ₁ = 0,384 p ₂ = 0,459 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	21,25 ± 3,93 p ₁ = 0,125 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,016	-

Продовження табл. 6.4

1	2	3	4	5	6	7
кістковий мозок	76,55 ± 6,12 p ₁ = 0,005 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,015	74,34 ± 7,04 p ₁ = 0,006 p ₂ = 0,308 p ₄ < 0,001 p ₃ < 0,001	70,26 ± 12,40 p ₁ = 0,994 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,001	71,86 ± 12,27 p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,677 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001	53,65 ± 5,13 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,195	-
	Група Алоїмплантат +МСК					
Імплантат	4,30 ± 3,72 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,112	6,39 ± 4,59 p ₁ = 0,020 p ₂ = 0,149 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,001 p ₅ = 0,427	4,71 ± 3,22 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,545	-	5,29 ± 4,34 p ₁ = 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,002 p ₅ = 0,001	-
сполучна тканина	19,11 ± 10,68 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,001 p ₅ < 0,001	13,75 ± 7,57 p ₁ < 0,001 p ₂ = 0,083 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,415 p ₅ < 0,001	1,73 ± 2,43 p ₁ = 0,010 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,280	-	13,08 ± 9,74 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,279	-

Продовження табл. 6.4

1	2	3	4	5	6	7
кісткові трабекули	21,92 ± 4,86 p ₁ = 0,072 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,011	20,53 ± 8,48 p ₁ = 0,288 p ₂ = 0,564 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,091 p ₅ = 0,438	21,55 ± 8,53 p ₁ = 0,240 p ₃ = 0,001 p ₄ = 0,012 p ₅ = 0,935	-	27,37 ± 5,84 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ < 0,001	-
кістковий мозок	54,68 ± 10,52 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ < 0,001	59,34 ± 9,63 p ₁ = 0,003 p ₂ = 0,170 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,023 p ₅ < 0,001	72,01 ± 10,79 p ₁ = 0,556 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,836	-	54,26 ± 10,34 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,809	-
Група Алоімплантат +ФР						
Імплантат	3,58 ± 2,80 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,013	7,98 ± 3,70 p ₁ = 0,108 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,036	5,54 ± 3,96 p ₁ = 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,873	5,73 ± 3,67 p ₁ = 0,001 p ₂ = 0,874 p ₄ < 0,001 p ₅ = 0,549	5,49 ± 2,83 p ₁ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001 p ₅ < 0,001	6,93 ± 3,06 p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,117 p ₃ < 0,001 p ₄ = 0,542

Продовження табл. 6.4

1	2	3	4	5	6	7
сполучна тканина	0,00 $p_1 = 0,087$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$2,25 \pm 3,35$ $p_1 = 0,092$ $p_2 = 0,006$ $p_3 = 0,002$ $p_4 < 0,001$ $p_5 = 0,707$	$10,47 \pm 10,95$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 = 0,011$	$9,40 \pm 4,43$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,682$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$	$2,75 \pm 4,88$ $p_1 = 0,024$ $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,041$ $p_5 < 0,001$	$7,74 \pm 8,26$ $p_1 = 0,045$ $p_2 = 0,022$ $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,753$
кісткові трабекули	$12,50 \pm 2,79$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,001$ $p_5 = 0,002$	$22,55 \pm 4,79$ $p_1 = 0,006$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 = 0,009$	$27,47 \pm 6,70$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 = 0,008$	$17,02 \pm 4,45$ $p_1 = 0,595$ $p_2 < 0,001$ $p_4 = 0,061$ $p_5 = 0,154$	$22,98 \pm 9,13$ $p_1 = 0,086$ $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,032$ $p_5 = 0,430$	$21,03 \pm 7,32$ $p_1 = 0,127$ $p_2 = 0,447$ $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,981$
кістковий мозок	$83,92 \pm 2,85$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$	$67,22 \pm 5,69$ $p_1 = 0,473$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,001$ $p_4 = 0,027$ $p_5 = 0,001$	$56,53 \pm 9,08$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$ $p_5 < 0,001$	$67,85 \pm 6,24$ $p_1 = 0,735$ $p_2 < 0,001$ $p_4 = 0,238$ $p_5 = 0,192$	$68,79 \pm 12,83$ $p_1 = 0,640$ $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,298$ $p_5 < 0,001$	$64,30 \pm 14,04$ $p_1 = 0,216$ $p_2 = 0,280$ $p_3 < 0,001$ $p_4 = 0,982$

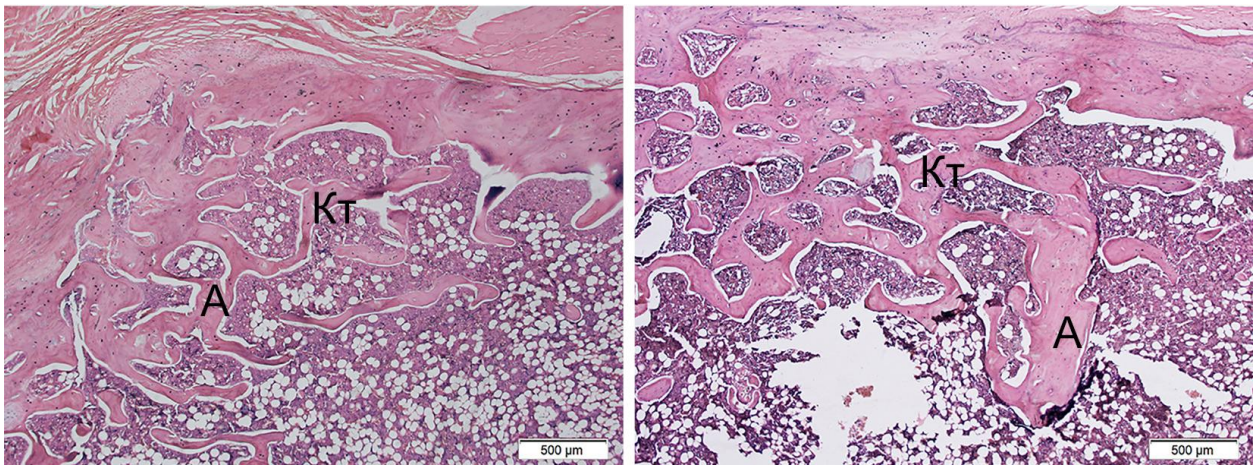
Примітка 1. p_1 – порівняння показників з групою Алоімплантат (без ін'єкцій ФР, див. табл. 3.1) такого самого віку на однаковий термін.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників щурів різного віку у однакових групах за кількістю ін'єкцій та інших факторів.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників щурів одного віку з 14-ю добою.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників щурів одного віку з 28-ю добою.

Примітка 5. p_5 – порівняння показників щурів однакового віку та кількістю ін'єкцій з групою Алоімплантат+ін'єкції.



а

б

Рисунок 6.4 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістки 12-місячних щурів на 90-у добу після введення алоімплантата (А) та 1 (а) чи 2 (б) локальних ін'єкцій факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата і новоутворена кісткова тканина (КТ). Гематоксилін та еозин.

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів дефект заповнювала кісткова тканина, серед якої містилися залишки алоімплантата. Міжтрабекулярні простори містили кістковий мозок. У кортексі виявляли судинні канали (рис. 6.2, к). подекуди відмічали маленькі острівці сполучної тканини. Порівняно з 14-ою добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася в 4,1 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 10,3 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилася у 2,7 раза ($p = 0,040$) і 1,9 раза ($p < 0,001$) відповідно (табл. 6.2–6.4).

Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа алоімплантата в зоні дефекту була меншою в 1,9 раза ($p = 0,001$), сполучної тканини — більшою в 16,1 раза ($p = 0,023$), площі кісткових трабекул і кісткового мозку — не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.4).

У 12-місячних щурів зона дефекту також була заповнена залишками алоімплантата з трабекулами різної товщини, між якими подекуди виявлялася щільна сполучна тканина та кістковий мозок. У зоні кортексу

були судинні канали та, на відміну від 3-місячних щурів, невеликі вогнища хондроїду (рис. 6.4, б). Порівняно з попереднім терміном дослідження (28 діб) відносні площі алоімплантата і сполучної тканини зменшилися в 3,8 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилася в 1,8 раза ($p < 0,001$) і 1,3 раза ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін всі показники не відрізнялися, крім сполучної тканини, яка була відсутня у 3-місячних щурів, а у 12-місячних щурів становила $(1,83 \pm 3,41) \%$ від загальної площі дефекту відносні площі.

Порівняно з групою Алоімплантата цього віку відносні площі сполучної тканини та алоімплантата були меншими у 2,0 раза ($p = 0,043$) і 1,9 раза ($p = 0,001$) відповідно, кісткового мозку — більшою в 1,1 раза ($p = 0,006$), площа кісткових трабекул — не відрізнялася.

З ін'єкції факторів росту

У 3-місячних щурів сполучна тканина розміщувалася в зоні кортексу, міжтрабекулярних просторах новоутвореної кісткової тканини та залишків трабекул алоімплантата (рис. 6.2, л). Порівняно з 14-ою добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,2 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 1,8 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилася в 1,4 раза ($p < 0,001$) і 1,5 раза ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з 28-ю добою зафіксовано подальше збільшення площі кісткових трабекул в 1,2 раза ($p = 0,016$), інші показники значуще не змінилися (табл. 6.2–6.4).

Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту більшою в 77,7 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — меншою в 1,3 раза ($p < 0,001$), площі алоімплантата і кісткових трабекул — не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.4).

Відомо, що PRP використовують у клінічній практиці для покращення регенерації переломів довгих кісток, які не зрослися, або їхні зрощення уповільнене. Проте ефект від застосування декількох ін'єкцій PRP та терміни їхнього виконання після операції повністю нез'ясовані. За результатами

виконаного нами гістологічного аналізу встановлено, що локальне введення факторів росту через 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата (*1 ін'єкція*) призводить у молодших щурів до скорішої його перебудови починаючи з 28-добы до повного заміщення кістковою тканиною пластинчастої структури на 90-у добу, у старших зменшення площі алоімплантата зафіксовано лише на 90-ту добу порівняно з групою Алоімплантат відповідного віку. Прискорення кісткоутворення не встановлено в жодній віковій групі. Це узгоджується з результатами опублікованого нещодавно метааналізу (420 пацієнтів), де не виявлено вищу швидкість відновлення кістки за рентгенологічними дослідженнями в осіб, яким одночасно вводили PRP з автотрансплантатом, порівняно з групою, де використано лише аутологічну кісткову пластику. Проте зафіксовано коротший час загоєння перелому в середньому на 1,35 міс. [97].

Локальне введення факторів росту через 3 та 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата (*2 ін'єкції*) так само, як і 1 ін'єкція через 7 діб, спричинює в молодших тварин прискорення перебудови алоімплантата, починаючи з 28-ї доби. Проте в цьому випадку площі сполучної тканини в них на всіх термінах спостереження перевищували показники групи Алоімплантат, що є негативною ознакою для механічних властивостей і, відповідно, опороспроможності кістки. У старших щурів цієї серії експерименту менші площі алоімплантата визначені лише на 90-ту після операції, крім того в них дещо уповільнилося кісткоутворення на 14-ту і 28-му доби після операції порівняно з групою Алоімплантат цього віку. Відповідно, такий режим введення факторів росту плазми крові в післяопераційному періоді після встановлення алоімплантат є недоцільним.

Локальне введення факторів росту через 1, 3 та 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата (*3 ін'єкції*) призвело до надмірного утворення сполучної тканини на всіх термінах спостереження в дефектах щурів обох вікових груп. При цьому не відбулося покращення ані перебудови алоімплантата, ані перебігу процесу утворення кісткової тканини.

6.3 Дослідження впливу локального введення факторів росту плазми крові на перебіг репаративного остеогенезу після пластики дефектів стегнових кісток щурів алоімплантатами, насиченими факторами росту

У цій серії експерименту щурам виконували пластику критичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки алоімплантатом, насиченим факторами росту плазми крові. Для визначення оптимального терміну терапії факторами росту дефектів кісток, які не загоюються самостійно, у післяопераційному періоді кожному щурові локально в ділянку травми вводили по 2 мл плазми крові: група Алоімплантат+ФР+1 ін'єкція — через 7 днів після операції, Алоімплантат+ФР+2 ін'єкції — через 3 і 7 днів, Алоімплантат+ФР+3 ін'єкції — через 1, 3, та 7 днів. Термін дослідження становив 14, 28 і 90 після операції.

14 днів після імплантації

1 ін'єкція факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів на гістопрепаратах в зоні критичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки виявлено алоімплантат, по периметру якого, заміщуючи його, із боку материнської губчастої кістки утворювалися дрібнопетлясті кісткові трабекули, з боку материнського кортексу — сполучна тканина. Вона також розташовувалася в міжтрабекулярних просторах алоімплантата, містила повнокровні кровоносні судини капілярного типу, значну кількість клітин фібробластичного й остеобластичного диферонів (рис. 6.5, а). Порівняно з групою Алоімплантат відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту була більшою у 2,2 рази ($p < 0,001$), новоутворених кісткових трабекул — меншою в 3,9 рази ($p < 0,001$), відносні площі алоімплантата та кісткового мозку — не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

У 12-місячних щурів за гістологічною структурою ділянка дефекту не відрізнялась від описаної для 3-місячних щурів цієї серії (рис. 6.6). На

трабекулах алоімплантата розташовувалися остеокласти. Проте відносна площа алоімплантата виявилася меншою в 1,2 раза ($p = 0,009$), а кісткових трабекул — більшою у 2,2 разу ($p = 0,001$) за показник у 3-місячними щурами на цей термін. Порівняно з групою Алоімплантат (12 міс., 14 діб після операції) показник відносної площі алоімплантата в зоні дефекту був більшим в 1,3 раза ($p = 0,004$), кісткового мозку — меншим в 1,2 раза ($p = 0,024$), сполучної тканини та новоутворених кісткових трабекул — не відрізнявся (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

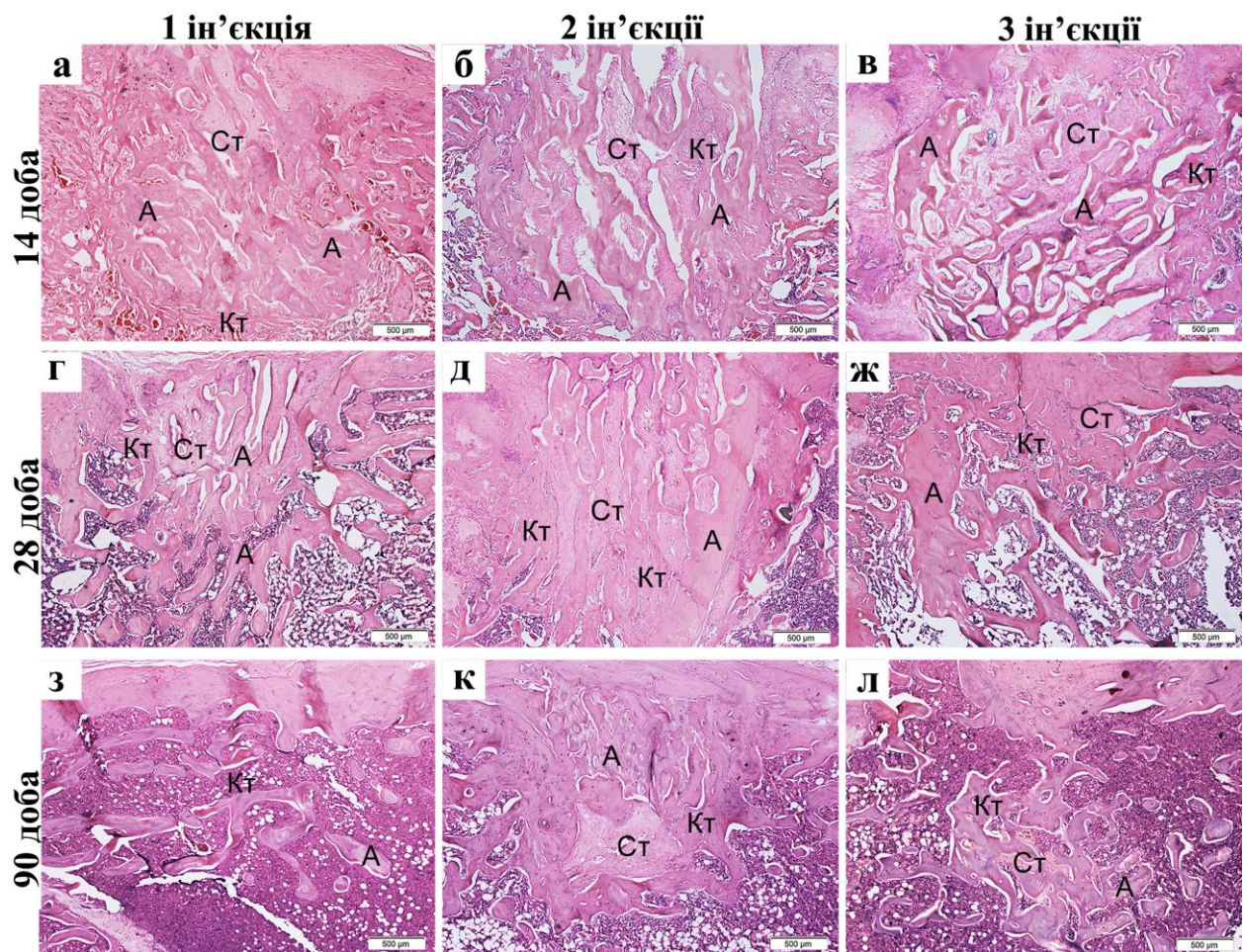


Рисунок 6.5 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістки 3-місячних щурів через 14 (а–в), 28 (г–ж) і 90 (з–л) діб після встановлення алоімплантата (А) та 1, 2 або 3 локальних ін'єкцій факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, сполучну (Ст) та новоутворену кісткову (Кт) тканини. Гематоксилін та еозин.

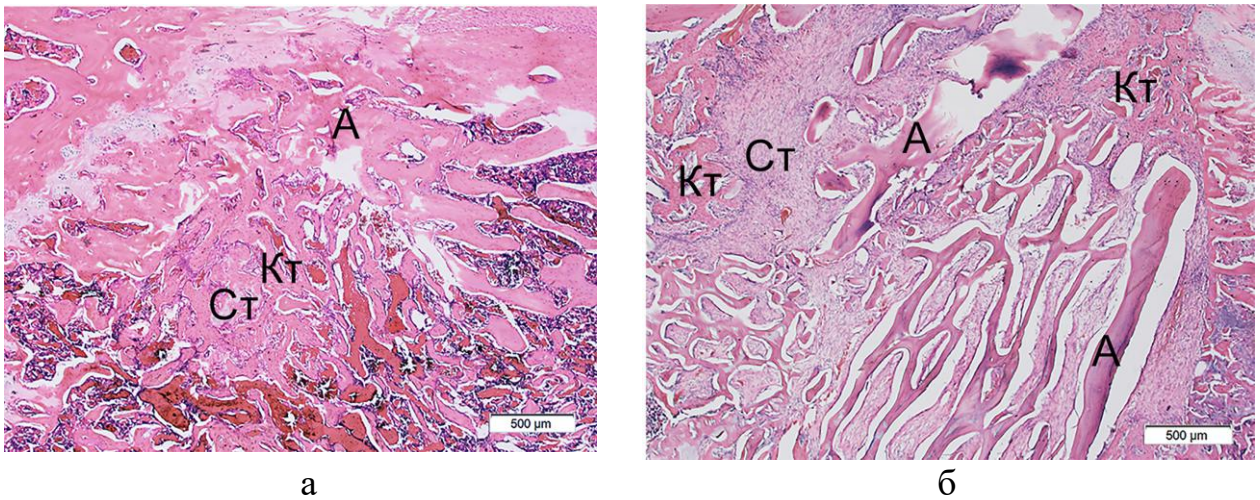


Рисунок 6.6 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістки 12-місячних щурів через 14 діб після встановлення алоімплантата (А) та 1 (а) або 3 (б) локальних ін'єкцій факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, сполучну (Ст) та новоутворену кісткову (Кт) тканини. Гематоксилін та еозин.

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів на гістологічних зрізах у зоні дефекту виявлено алогенний кістковий імплантат, сполучну тканину (утворилася в зоні дефекту кортексу та між трабекулами алоімплантата), новоутворену кісткову тканину грубоволокнистої структури. Про активність репаративного остеогенезу свідчила висока щільність остеоцитів і розташовані їхній зовнішній поверхні остеобласти у вигляді частоколу (рис. 6.4, б). Проте відносні площі алоімплантата та сполучної тканини в зоні дефекту були більшими в 1,7 раза ($p = 0,017$) і 2,9 раза відповідно, а новоутворених кісткових трабекул і кісткового мозку — меншими в 1,9 раза ($p = 0,021$) і 1,4 раза ($p < 0,001$) відповідно порівняно з групою Алоімплантат цього віку (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

3 ін'єкції факторів росту плазми крові

У щурів обох вікових груп у зоні дефекту розміщувалися залишки алоімплантата, оточені значною кількістю сполучної тканини, яка також заповнювала дефект у кортексі. На трабекулах алоімплантата спостерігали багатоядерні клітини типу остеокластів. Новоутворена кісткова тканина

розташовувалась по периметру дефекту, на межі з материнською губчастою кісткою (рис. 6.5, в; 6.6, б).

За результатами гістоморфометрії визначено, що порівняно з групою Алоїмплантат відповідного віку в 3-місячних щурів відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту була більшою в 3,5 раза ($p < 0,001$), у 12-місячних — у 3,7 раз ($p < 0,001$). Натомість площа новоутворених кісткових трабекул і кісткового мозку виявилася меншою: у 3-місячних щурів — у 2,4 раза ($p < 0,001$) і 1,7 раза ($p < 0,001$) відповідно, у 12-місячних — у 1,4 раза ($p = 0,003$) та 1,5 раза ($p < 0,001$) (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

28 днів після імплантації

Ін'єкція факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів територія критичного дефекту була заповнена сполучною тканиною та кістковим алоїмплантатом. У його міжтрабекулярних просторах утворювалася щільна сполучна тканина, пучки колагенових волокон розміщувалися паралельно вздовж трабекул алоїмплантата. Також сполучна тканина заповнювала частину зони дефекту в кортексі, решту займала новоутворена кісткова тканина, яка формувалася й з боку материнської губчастої кістки (рис. 6.5, г). Аналогічна ситуація була й у 12-місячних щурів (рис. 6.7, а). Проте відсоткове співвідношення тканин у тварин різних вікових груп відрізнялось. Зокрема, у 12-місячних щурів відносна площа алоїмплантата була більшою в 1,8 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 1,6 раза ($p = 0,015$), кісткових трабекул — меншою в 1,8 раза ($p < 0,001$), ніж у 3-місячних. Відносна площа кісткового мозку не відрізнялася (табл. 6.3).

Відносно 14-ї доби спостереження зафіксовано зменшення: у 3-місячних щурів — площі алоїмплантата та сполучної тканини у 2,6 раза ($p < 0,001$), у 12-місячних — лише алоїмплантата в 1,3 раза ($p = 0,014$). При цьому у 3-місячних щурів збільшилися території, займані кістковими трабекулами (в 3,3 раза, $p < 0,001$) і кістковим мозком (1,3 раза, $p < 0,001$) у 12-місячних — лише кістковим мозком (в 1,2 раза, $p = 0,033$) (табл. табл. 6.2, 6.3).

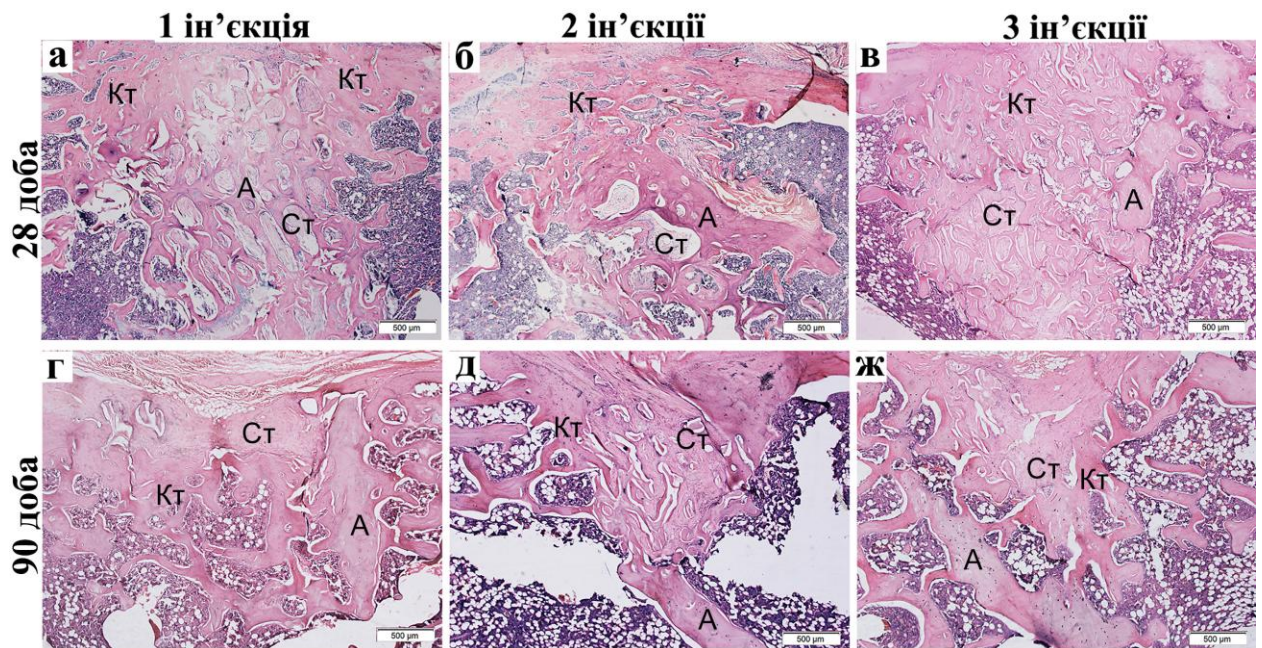


Рисунок 6.7 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістки 12-місячних щурів через 28 (а–в) і 90 (г–ж) діб після встановлення алоімплантата (А) та 1, 2 або 3 локальних ін'єкцій факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, сполучну (Ст) та новоутворену кісткову (Кт) тканини. Гематоксилін та еозин.

Порівняно з групами Алоімплантат відповідного віку на цей самий термін спостереження встановлено, що площа сполучної тканини була більшою і в 3- (в 3,9 раза, $p < 0,001$), і у 12-місячних (у 2,7 раза, $p < 0,001$). У 3-місячних тварин виявилася меншою відносна площа алоімплантата (2,0 рази, $p = 0,001$), у 12-місчних — кісткових трабекул (1,6 раза, $p = 0,003$) (див. табл. 3.1, 6.3).

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У щурів обох вікових груп у зоні дефекту виявлено алотрансплантат у процесі перебудови, міжтрабекулярні простори якого здебільшого заповнювала сполучна тканина. На більшості поверхні трабекул алоімплантата розміщувалися функціонально активні остеобласти, що свідчить про його остеоіндуктивні властивості. Новоутворену губчасту кісткову тканину виявлено по всьому периметру алоімплантата, у тому числі й в зоні дефекту

кіркового шару (рис. 6.5, д; 6.7, б). На цей термін спостереження відносна площа сполучної тканини у 12-місячних щурів була меншою (12,8 раза, $p < 0,001$), кісткового мозку — більшою (1,6 раза, $p < 0,001$), ніж у 3-місячних, а алоімплантата та кісткових трабекул — не відрізнялися. Площа сполучної тканини у 3-місячних щурів значуще не змінилася порівняно з 14-ю добою та залишалася більшою в 11,3 раза ($p < 0,001$) за показник у групі Алоімплантат. Водночас у них зменшилася в 1,4 раза ($p < 0,001$) відносна площа алоімплантата, а кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилися в 1,6 раза ($p < 0,001$) та 1,2 раза ($p = 0,010$) і наразі показники площі алоімплантата та кісткових трабекул не відрізнялися від групи Алоімплантат. У 12-місячних щурів відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту була меншою у 2,5 раза ($p = 0,032$), а інші показники не відрізнялися порівняно з групою Алоімплантат. (див. табл. 3.1., табл. 6.2, 6.3).

3 ін'єкції факторів росту плазми крові

Гістологічна картина у щурів обох вікових груп була аналогічною до описаних у разі введення 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові (рис. 6.5, ж; 6.7, в). За результатами гістоморфометрії порівняно з 14-ою добою спостереження встановлено зменшення площі алоімплантата (3-місячні щури — у 2,6 раза, 12-місячні — у 2,7 раза, $p < 0,001$) та сполучної тканини (у 4,7 і 3,6 раза відповідно, $p < 0,001$), та збільшення площі кісткових трабекул (у 2,2 і 2,1 раза відповідно, $p < 0,001$), кісткового мозку (у 2,1 і 1,5 раза відповідно, $p = 0,010$). Порівняно з відповідними групами Алоімплантат у 3-місячних щурів відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту була більшою в 3,2 раза ($p = 0,015$), алоімплантата — меншою в 1,8 раза ($p = 0,006$), відносні площі кісткових трабекул та кісткового мозку не відрізнялися порівняно з групою з алоімплантатом цього віку. У 12-місячних щурів, як і у 3-місячних, відносна площа алоімплантата була меншою у 2,2 раза ($p = 0,008$), а кісткових трабекул — більшою в 1,4 раза ($p = 0,043$). Площі сполучної тканини та кісткового мозку не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.2, 6.3).

90 діб після імплантації

І ін'єкція факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів дефект був заповнений новоутвореною кістковою тканиною пластинчастої структури, у трабекулах якої були замуrowані маленькі часточки алотрансплантата. Міжтрабекулярні простори були заповнені кістковим мозком. Кортекс був сформований (рис. 6.5, з). За результатами гістоморфометрії встановлено поступове зменшення відносної площі алоімплантата: порівняно з 14-ю добою спостереження — в 6,6 рази ($p < 0,001$), порівняно з 28-ю — у 2,5 рази ($p < 0,001$). Водночас збільшувалася площа кісткових трабекул і кісткового мозку — у 2,4 рази ($p < 0,001$) і 1,7 рази ($p < 0,001$) відповідно порівняно з 14-ю добою. Сполучна тканина не виявлена на цей термін (табл. табл. 6.2–6.4). Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа алоімплантата в зоні дефекту була меншою у 2,9 рази ($p < 0,001$), кісткових трабекул — в 1,5 рази ($p < 0,001$), кісткового мозку — більшою в 1,2 рази ($p < 0,001$), що свідчить про скорішу перебудову алоімплантата і реорганізацію регенерату. Площа сполучної тканини не відрізнялася порівняно з групою з алоімплантатом цього віку (див. табл. 3.1, 6.4).

У 12-місячних щурів у зоні дефекту губчастої кістки, як і в 3-місячних, утворилася кісткова тканина пластинчастої структури. Невеликі фрагменти алотрансплантата були нею оточені. У зоні кортексу виявлено залишки неперебудованого алоімплантата, кісткову та щільну сполучну тканини (рис. 6.7., г). Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін відносна площа алоімплантата була більшою у 2,2 рази ($p < 0,001$), кісткових трабекул — в 1,8 рази ($p = 0,006$), а кісткового мозку меншою в 1,2 рази ($p < 0,001$), водночас у 3-місячних щурів на цей термін не виявлено сполучної тканини в зоні дефекту, а у 12-місячних її площа складала $(2,25 \pm 3,35) \%$. Як і у 3-місячних щурів, порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,4 рази ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 7,3 рази ($p = 0,002$), а кісткових трабекул та кісткового мозку збільшилася в 2,0 разу ($p < 0,001$) та в 1,3 разу ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з групою Алоімплантат на цей термін

не виявлено відмінностей вимірних показників, крім відносної площі кісткових трабекул, яка була більшою в 1,3 раза ($p = 0,006$) (див. табл. 3.1, табл. 6.2–6.4).

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних і 12-місячних щурів у зоні дефекту губчастої кістки виявлено залишки алоімплантата, новоутворена кісткова тканина пластинчастої структури, сполучна тканина. У зоні дефекту кортексу розташовувалися кісткова та сполучна тканини (рис. 6.5, к; 6.7, д). За результатами гістоморфометрії між віковими групами встановлені відмінності: у старших щурів на цей термін площа кісткових трабекул була меншою в 1,6 раза ($p < 0,001$), а кісткового мозку — більшою в 1,2 раза ($p < 0,001$), ніж у молодших. Площа алоімплантата зменшилася за період спостереження у 12-місячних щурів у 3,2 раза ($p < 0,001$), у 3-місячних — у 4,6 раза ($p < 0,001$).

У 3-місячних тварин порівняно з 14-ою добою спостереження відносна площа сполучної тканини зменшилася у 2,7 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилася в 2,7 раза ($p < 0,001$) і 1,6 раза ($p < 0,001$) відповідно. Проте, не зважаючи на це, порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа кісткових трабекул і кісткового мозку виявилася меншою в 1,5 і 1,2 раза ($p < 0,001$), а сполучної тканини, навпаки, — більшою в 52,4 раза ($p < 0,001$). Відносна площа алоімплантата була меншою в 1,9 раза ($p = 0,001$). У 12-місячних щурів, як і у 3-місячних, відносна площа алоімплантата була меншою в 1,7 раза ($p = 0,001$), а сполучної тканини — більшою у 2,5 раза ($p < 0,001$) порівняно з групою Алоімплантат цього віку. Площа кісткових трабекул та кісткового мозку не відрізнялася (див. табл. 3.1., табл. 6.2–6.4).

3 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів, новоутворені кісткові трабекули пластинчастої структури заповнювали весь дефект і закривали його з боку кортексу. Тонкі трабекули алоімплантата виявлені в центрі дефекту. Між ними сформована щільна сполучна тканина (рис. 6.5, л). Порівняно з 14-ою добою

спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася в 4,9 рази ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 12,3 рази ($p < 0,001$), кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилася у 2,8 і 2,2 рази відповідно ($p < 0,001$). Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа алоімплантата виявилася меншою в 1,9 рази ($p < 0,001$), а сполучної тканини — більшою в 13,8 рази ($p = 0,024$), відносні площі кісткових трабекул та кісткового мозку не відрізнялися (див. табл. 3.1., табл. 6.2–6.4).

У 12-місячних щурів зону дефекту заповнювали новоутворені кісткові трабекули пластинчастої структури, розташовані здебільшого в зоні травми губчастої кістки. Із боку кортексу виявлено залишки неперебудованого алоімплантата, між його трабекулами містилася щільна сполучна тканина (рис. 6.7, ж), площа якої була більшою у 2,8 рази ($p = 0,022$), ніж у 3-місячних щурів. Порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,5 рази ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 3,9 рази ($p < 0,001$), а кісткових трабекул і кісткового мозку збільшилася у 2,1 і 1,5 рази ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа алоімплантата була меншою в 1,4 рази ($p = 0,001$), сполучної тканини — більшою в 2,0 рази ($p < 0,001$), площі кісткових трабекул і кісткового мозку не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.2–6.4).

Таким чином, за результатами гістологічного аналізу встановлено, що локальне введення факторів росту через 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата, насиченого факторами росту (*1 ін'єкція*), призводить у молодших щурів до скорішої його перебудови починаючи з 28-добы (порівняно з групою Алоімплантат) до повного заміщення кістковою тканиною пластинчастої структури на 90-ту добу (скоріша перебудова порівняно з групами Алоімплантат і Алоімплантат+ФР). Прискорення кісткоутворення та скорішу реорганізацію регенерату встановлено в 3-місячних щурів на 90-ту після операції.

За локального введення факторів росту через 3 та 7 діб після операції (*2 ін'єкції*) в обох вікових групах визначено прискорення перебудови

алоімплантата через 90 після операції порівняно з групами Алоімплантат, у 12-місячних щурів також порівняно з групою Алоімплантат+ФР. Проте в цьому випадку площі сполучної тканини на всіх термінах спостереження перевищували показники групи Алоімплантат, а на 90-ту добу – й показники групи Алоімплантат+ФР, що є негативною ознакою для механічних властивостей і, відповідно, опороспроможності кістки. На 90-ту добу у 3-місячних щурів відносна площа кісткових трабекул в зоні дефекту була більшою порівняно з групою Алоімплантат+ФР, у 12-місячних щурів — не відрізнялася.

Локальне введення факторів росту через 1, 3 та 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата, насиченого факторами росту плазми крові (3 ін'єкції) призвело до скорішої перебудови остеопластичного матеріалу, ніж у групах Алоімплантат і Алоімплантат+ФР, але з утворенням на значній кількості утворення сполучної тканини в дефектах щурів обох вікових груп. За якісними та кількісними характеристиками процес кісткоутворення не відрізнявся від груп порівняння.

Режим введення факторів росту плазми крові через 1, 3 та 7 діб (3 ін'єкції) або 3 та 7 діб (2 ін'єкції) у післяопераційному періоді після встановлення алоімплантата+ФР є недоцільним.

Введення факторів росту плазми крові через 7 діб (1 ін'єкція) сприяє скорішій перебудові алоімплантата з повним його заміщенням кістковою тканиною пластинчастої структури на 90-ту добу в молодших реципієнтів та прискоренню кісткоутворення та реорганізації кісткового регенерату – в старших і може бути рекомендовано для використання в клінічних умовах.

6.4 Результати вивчення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на перебіг репаративного остеогенезу після пластики дефектів стегнових кісток щурів алоімплантатами в комбінації з МСК

У цій серії експерименту щурам виконували пластику критичного дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки алоімплантатом разом із

МСК. Для визначення, чи можна покращити результати використання алоімплантата+МСК шляхом введення факторів росту плазми і в які терміни післяопераційного періоду це доцільно робити, кожному щурові локально в ділянку травми вводили по 2 мл плазми крові: група Алоімплантат+МСК+1 ін'єкція — через 7 діб після операції, Алоімплантат+МСК+2 ін'єкції — через 3 і 7 діб, Алоімплантат+МСК+3 ін'єкції — через 1, 3, та 7 діб. Термін дослідження становив 14, 28 і 90 після операції.

14 діб після операції

1 ін'єкція факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів у зоні критичного дефекту в метафізі стегнової кістки виявлено залишки алоімплантата у вигляді тонких трабекул, розташовані серед значних територій сполучної тканини різного ступеня зрілості. Вона містила фіброцити видовженої форми з округлими ядрами, бластні клітини з розвинутою цитоплазмою, кровоносні судини капілярного типу були малокровними. Невелика кількість новоутвореної кісткової тканини виявлена з боку дефекту у губчастій кістці. Кісткові трабекули характеризувалися високою щільністю остеоцитів на їхній поверхні розташовувалися остеобласти (рис. 6.8, а).

Аналогічну ситуацію виявлено й у 12-місячних щурів (рис. 6.9, а). За результатами гістоморфометрії в них відносна площа кісткових трабекул була меншою в 1,8 раза ($p = 0,002$), а алоімплантата більшою в 1,5 раза ($p < 0,001$), ніж у 3-місячних щурів (табл. 6.2).

У щурів обох вікових груп за результатами гістоморфометрії відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту виявилася більшою (в 4,6 раза, $p < 0,001$), а новоутворених кісткових трабекул і кісткового мозку — меншою (3-місячні щури — у 2,2 і 1,7 раза ($p < 0,001$) відповідно; 12-місячні — 2,8 і 1,9 раза, $p < 0,001$), ніж у відповідній віковій групі Алоімплантат. У 12-місячних щурів відносна площа алоімплантата була більшою в 1,6 раза ($p < 0,001$) порівняно з групою з Алоімплантат цього віку (див. табл. 3.1, табл. 6.2).

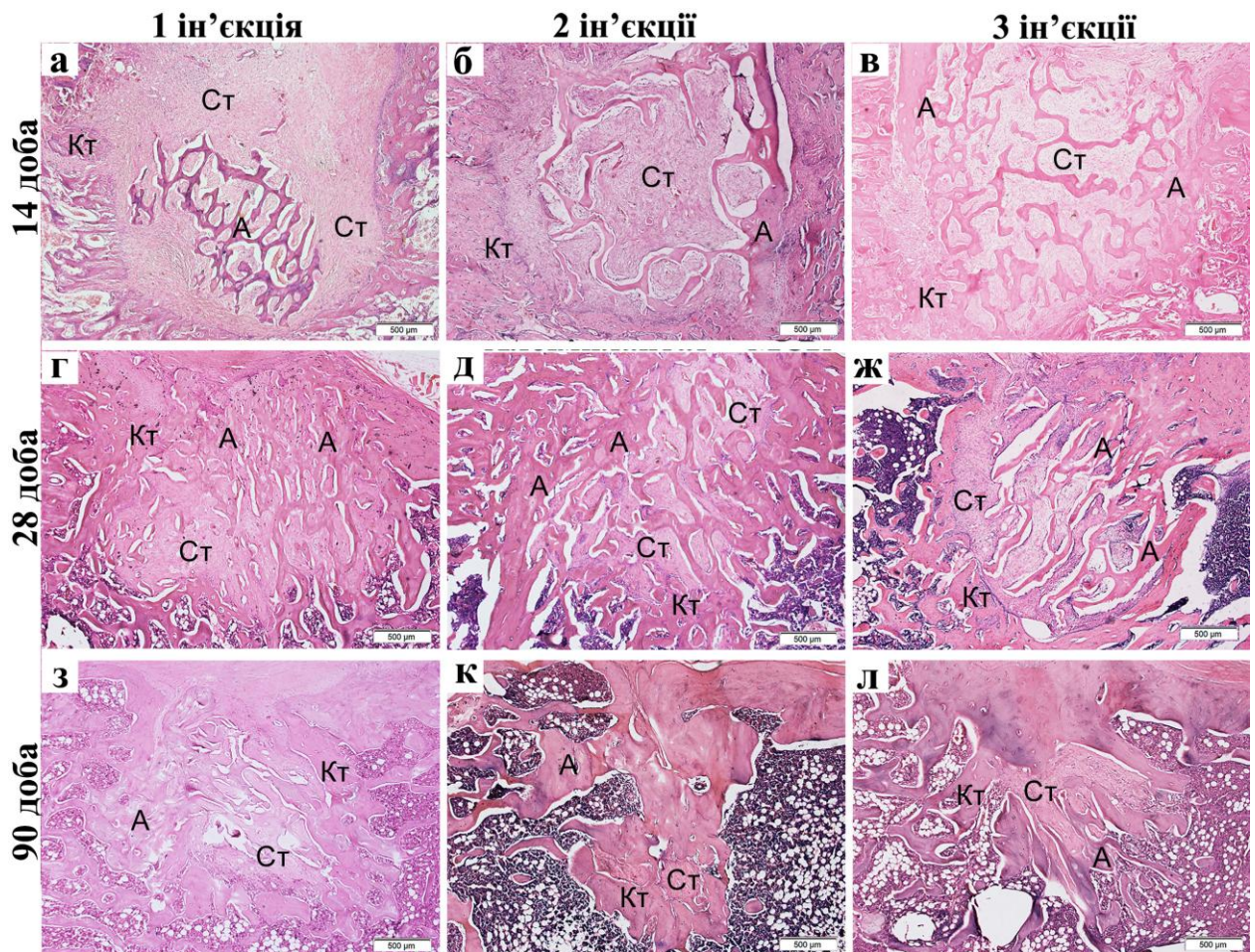


Рисунок 6.8 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістки 3-місячних щурів через 14 (а–в), 28 (г–ж) і 90 (з–л) діб після встановлення алоімплантата (А) з МСК та 1, 2 або 3 локальних ін'єкцій факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, сполучну (Ст) та новоутворену кісткову (Кт) тканини. Гематоксилін та еозин.

Порівняно з відповідними віковими групами Алоімплантат+1 ін'єкція ФР відносна площа алоімплантата була меншою (3-місячні щури — в 1,6 раза, $p = 0,002$; 12-місячні — в 1,3 раза $p = 0,003$), а сполучної тканини — більшою. Відносна площа кісткових трабекул у 3-місячних щурів не відрізнялася, у 12-місячних щурів була меншою (табл. 6.1, 6.2).

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів сполучна тканина переважала в зоні дефекту (рис. 6.8, б), розміщуючись навколо залишків алоімплантата. Її відносна площа була більшою в 3,5 раза ($p < 0,001$) порівняно з групою Алоімплантат

цього віку та перевищувала показник в групі Алоімплантат+2 ін'єкції ФР. Новоутворені грубоволокнисті кісткові трабекули розташовувались по периметру дефекту, на межі з материнського губчастою кісткою. На їхній поверхні розміщувалися остеобласти та поодинокі остеокласти, що свідчить про ремоделювання кісткового регенерату. На поверхні материнського кортексу визначено утворення хондроїду, як і в групі Алоімплантат+МСК. Відносні площі новоутворених кісткових трабекул та кісткового мозку виявилися меншими в 1,5 раза ($p = 0,021$) та 1,3 раза ($p < 0,001$) відповідно порівняно з групою Алоімплантат цього віку, але більшими та порівнянними с групою Алоімплантат+2 ін'єкції ФР. Показник площі алоімплантата не відрізнявся від групи Алоімплантат, але був меншим в 1,6 раза ($p < 0,001$), ніж у групі Алоімплантат+2 ін'єкції ФР (рис. 6.8, б; табл. 3.1, 6.1, 6.2).

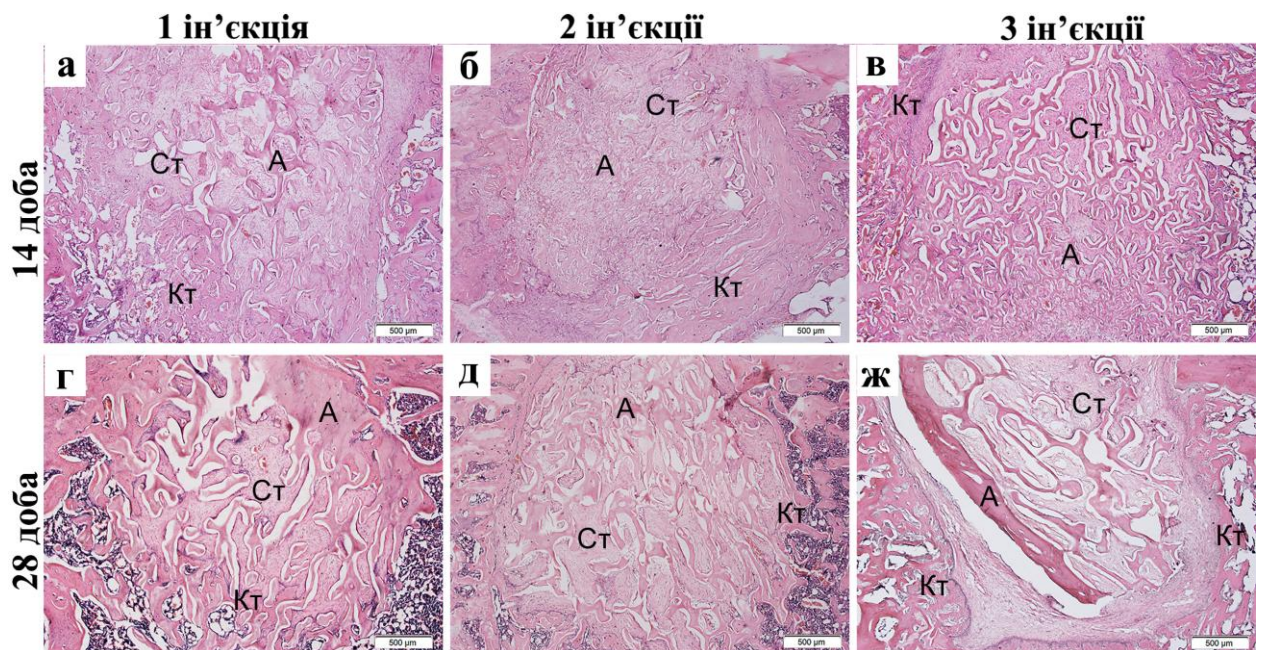


Рисунок 6.9 — Гістологічна картина ділянки дефекту в метафізі стегнової кістки 12-місячних щурів через 14 (а–в) і 28 (г–ж) діб після встановлення алоімплантата (А) з МСК та 1, 2 або 3 локальних ін'єкцій факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, сполучну (СТ) та новоутворену кісткову (КТ) тканини. Гематоксилін та еозин.

У 12-місячних щурів виявлено таку саму гістологічну картину, як і в 3-

місячних (рис. 6.9, б). Проте порівняно 3-місячними щурами відносна площа кісткових трабекул була меншою в 39,8 раза ($p < 0,001$), а алоімплантата — більшою у 2,2 раза ($p < 0,001$), площа сполучної тканини та кісткового мозку в зоні дефекту не відрізнялися. Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту була більшою в 3,3 раза ($p < 0,001$) (також перевищувала показник в групі Алоімплантат+2 ін'єкції ФР — у 27,3 раза, $p < 0,001$), алоімплантата — у 2,0 раза ($p < 0,001$) (але більшою в 1,6 раза ($p < 0,001$) порівняно з групою Алоімплантат+2 ін'єкції ФР), новоутворених кісткових трабекул — меншою в 41,8 ($p < 0,001$) (порівняно з групою Алоімплантат+2 ін'єкції — у 27,3 раза, $p < 0,001$), кісткового мозку — в 1,5 раза ($p < 0,001$) (табл. 4.1, 6.1, 6.2).

З ін'єкції факторів росту плазми крові

У щурів обох вікових груп у зоні дефекту виявлено залишки кісткового імплантата, між трабекулами якого розташовувалась сполучна тканина. Щільна сполучна тканина заповнювала ділянку дефекту в кортексі, грубоволокнисті кісткові трабекули містилися по периметру дефекту в губчастій кістці. У них виявлено густо розташовані остецити, на зовнішній поверхні — функціонально активні остеобласти (рис. 6.8, в; 6.9, в). Установлено, що у 12-місячних щурів відносні площі кісткових трабекул і кісткового мозку були меншими в 3,3 раза ($p < 0,001$) і 1,2 раза ($p = 0,004$) відповідно, а алоімплантата — більшою в 1,2 раза ($p = 0,008$), ніж у 3-місячних, площі сполучної тканини та кісткового мозку не відрізнялися (табл. 6.2).

Порівняно з відповідними віковими групами Алоімплантат відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту виявилася більшою (3-місячні щури — в 3,8 раза, $p < 0,001$, 12-місячні — 4,1 раза, $p < 0,001$), а новоутворених кісткових трабекул і кісткового мозку — меншою (3-місячні — в 1,6 раза ($p = 0,021$) та 1,7 раза ($p < 0,001$) відповідно, 12-місячні — 3,7 і 1,7 раза ($p < 0,001$) відповідно). Відносна площа алоімплантата в 3-місячних щурів не відрізнялася, у 12-місячних — була більшою в 1,6 раза ($p < 0,001$).

Порівняною з групами Алоімплантат+3 ін'єкції на це термін дослідження відносна площа алоімплантата не відрізнялась у щурів обох вікових груп, сполучної тканини — була більшою, кісткового мозку — меншою, кісткових трабекул — меншою у 12-місячних щурів і порівняною — в 3-місячних (див. табл. 3.1, табл. 6.1, 6.2).

28 діб після операції

1 ін'єкція факторів росту плазми крові

У щурів обох вікових груп у ділянці критичного дефекту виявлено сполучну тканину, яка розміщувалася між тонкими трабекулами алоімплантата та займала частину дефекту в кортексі. Грубоволокнисті кісткові трабекули містилися по периметру дефекту в губчастій кістці та частково в кірковій (рис. 6.8, г; 6.9, г). Порівняно з 14-ою добою спостереження в 3- та 12-місячних щурів відносна площа сполучної тканини зменшилася в 1,5 і 2,4 раза відповідно ($p < 0,001$), а кісткових трабекул і кісткового мозку — збільшилася в 1,6 і 3,1 раза ($p < 0,001$) та 1,3 і 1,6 раза ($p = 0,001$) відповідно. У 3-місячних щурів площа алоімплантата значуще не змінилася, а у 12-місячних — зменшилася в 1,4 раза ($p = 0,012$). Порівняно з 3-місячними щурами на цей термін дослідження у 12-місячних відносна площа сполучної тканини була меншою в 1,8 раза ($p < 0,001$), а кісткового мозку — більшою в 1,3 раза ($p = 0,001$), відносні площі алоімплантата та кісткових трабекул не відрізнялися. (табл. 6.2, 6.3).

Порівняно з відповідними групами Алоімплантат на цей термін спостереження у 3-місячних щурів відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту була більшою в 13,6 раза ($p < 0,001$), у 12-місячних — у 3,3 ($p < 0,001$); кісткового мозку — меншою в 1,6 і 1,3 раза відповідно ($p < 0,001$), алоімплантата та кісткових трабекул — не відрізнялися. Порівняно з групами Алоімплантат+1 ін'єкція ФР площа сполучної тканини була більшою в 3-місячних щурів, у 12-місячних — порівнянна, алоімплантата — була більшим у 2,5 раза у 3-місячних щурів ($p < 0,001$), у 12-місячних — порівнянна, кісткових трабекул — не відрізнялася в обох

вікових групах (див. табл. 3.1, табл. 6.1, 6.3).

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У щурів обох вікових груп ділянка дефекту якісно не відрізнялася за складом. А саме: містила залишки імплантата, сполучну та новоутворену кісткову тканини, які розташовувалися в дефекті і губчастої, і кіркової кістки (рис. 6.8, д; 6.9, д). За кількісним складом встановлено більшу відносну площу алоімплантата (1,9 раза, $p < 0,001$), меншу — сполучної тканини (1,3 раза, $p = 0,029$) у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними. Порівняно з 14-ою добою спостереження зафіксовано зменшення відносної площі алоімплантата (3 місячні щури — в 1,2 раза, $p = 0,038$; 12-місячні — 1,4 раза, $p = 0,001$) та сполучної тканини (3-місячні — 1,3 раза, $p = 0,026$; 12-місячні — 1,4 раза, $p < 0,001$), а збільшення площі кісткового мозку в молодших щурів в 1,2 раза ($p = 0,003$), кісткових трабекул у 36,5 раза ($p < 0,001$) — у старших (табл. 6.2, 6.3).

Порівняно з відповідними віковими групами Алоімплантат у 3-місячних щурів відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту виявилася більшою в 11,8 раза ($p < 0,001$), а алоімплантата та кісткового мозку — меншою в 1,6 раза ($p = 0,015$) і 1,3 раза ($p = 0,003$) відповідно, відносна площа кісткових трабекул не відрізнялася порівняно з групою з алоімплантатом цього віку. У 12-місячних щурів, аналогічно встановленому для 3-місячних, відносна площа сполучної тканини була більшою в 4,0 раза ($p < 0,001$), а кісткового мозку — меншою в 1,4 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул — не відрізнялася, а алоімплантата — була більшою в 1,5 раза ($p = 0,027$). Порівняно з відповідними віковими групами Алоімплантат+2 ін'єкції ФР площа кісткових трабекул виявилася меншою в 3-місячних щурів в 1,5 раза ($p = 0,001$), інші показники — не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.1, 6.3).

3 ін'єкції факторів росту плазми крові

Як і у групах Алоімплантат+МСК+2 ін'єкції ФР, не виявлено різниці якісного складу в дефектах. У них, між залишками трабекул алоімплантата і

в частині дефекту кортекса, розташовувалася сполучна тканина. Новоутворена кісткова тканина пластинчастої структури зафіксована як в дефекті кортекса, так і у вигляді кісткових трабекул у зоні дефекту губчастої кістки (рис. 6.8, ж; 6.9, ж). Незважаючи на зменшення відносно 14-ї доби площі алоімплантата в 1,3 раза ($p < 0,001$) та збільшення площі кісткових трабекул у 2,8 раза ($p < 0,001$), за кількісним складом у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними на цей термін відносна площа алоімплантата залишилася більшою в 1,6 раза ($p < 0,001$), а кісткових трабекул — меншою в 1,5 раза ($p = 0,001$). Відносні площі сполучної тканини та кісткового мозку та не відрізнялися. У 3-місячних щурів порівняно з 14-ою добою спостереження відносні площі алоімплантата та сполучної тканини зменшилися в 1,8 раза ($p < 0,001$) і 1,2 раза ($p = 0,004$) відповідно, а кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилися в 1,3 раза ($p = 0,042$) і 1,4 раза ($p < 0,001$) відповідно (табл. 6.2, 6.3).

Порівняно з відповідними віковими групами Алоімплантат відносна площа сполучної тканини в зоні дефекту у 3- та 12 місячних щурів залишилась більшою в 13,6 і 6,5 раза відповідно ($p < 0,001$), а кісткового мозку — меншою в 1,5 і 1,7 раза відповідно ($p < 0,001$). У 3-місячних щурів відносна площа алоімплантата була меншою в 1,6 раза ($p = 0,021$), кісткових трабекул — не відрізнялася порівняно з групою з алоімплантатом цього віку. У 12-місячних щурів відносна площа кісткових трабекул була меншою в 1,4 раза ($p \leq 0,035$), а площа алоімплантата не відрізнялася (див. табл. 3.2, табл. 6.3).

90 діб після операції

І ін'єкція факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів у ділянці критичного дефекту виявлено сполучну тканину, яка розміщувалася між залишеними тонкими трабекулами алоімплантата та з боку дефекту кортекса. Новоутворена кісткова тканина пластинчастої структури частково перекривала дефект кортекса та заповнювала у вигляді кісткових трабекул периметр дефекту в губчастій кістці (рис. 6.8, з). Відмінністю у 12-місячних щурів була відсутність

кісткової тканини в дефекті кіркового шару: він був заповнений сполучною тканиною (рис. 6.10).). Порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася в 3- та 12-місячних щурів в 3,6 і 3,8 раза ($p < 0,001$) відповідно, сполучної тканини — у 2,4 і 2,9 раза ($p < 0,001$); кісткових трабекул — збільшилася у 2,4 і 4,0 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — в 1,8 і 1,9 раза ($p < 0,001$) відповідно. Площа сполучної тканини і на цей термін залишилась більшою в 3,6 раза ($p < 0,001$) у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними (табл. 6.2–6.4).

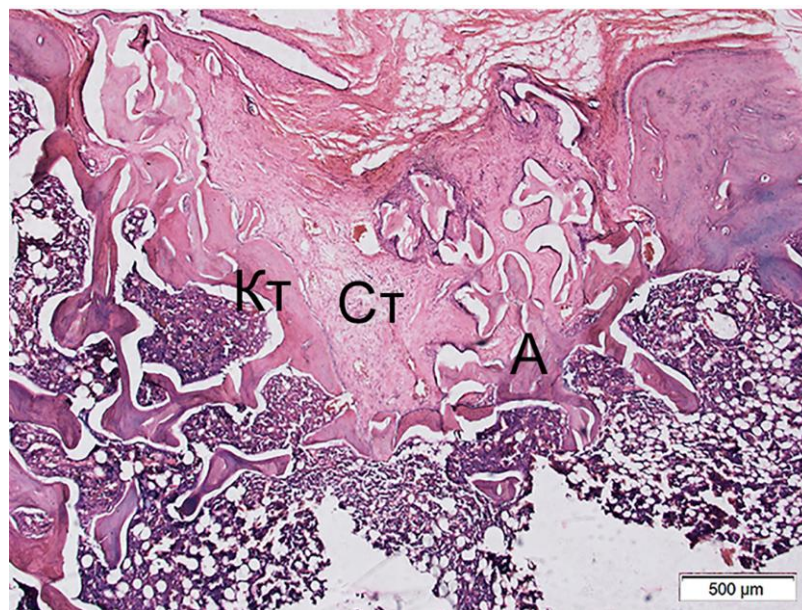


Рисунок 6.10 — Ділянка дефекту в метафізі стегнової кістки 12-місячного щура через 90 діб після встановлення алоімплантата (А) з МСК та 1 локальної ін'єкції факторів росту плазми крові. Показано фрагменти алотрансплантата, сполучну (Ст) та новоутворену кісткову (Кт) тканини. Гематоксилін та еозин.

Порівняно з відповідними віковими групами Алоімплантат на цей термін у 3-місячних щурів відносна площа алоімплантата в зоні дефекту була меншою у 2,5 раза ($p < 0,001$), кісткового мозку — в 1,3 раза ($p < 0,001$), а сполучної тканини — більшою в 95,6 раза ($p < 0,001$). Площа кісткових трабекул не відрізнялася. У 12-місячних щурів, так само як і у 3-місячних, щурів відносна площа алоімплантата була меншою в 1,5 раза ($p = 0,020$),

кісткового мозку — в 1,2 раза ($p = 0,003$), сполучної тканини — більшою в 3,6 раза ($p < 0,001$), площа кісткових трабекул не відрізнялася. Порівняно з відповідними віковими групами Алоімплантат+1 ін'єкція ФР в молодших щурів виявилася більшою площа сполучної тканини та кісткових трабекул, а кісткового мозку — меншою. Решта показників — не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.1, 6.3)

2 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів новоутворена кістка пластинчастої структури виявлена як з боку кортексу, так і губчастої кістки. Щільна сполучна тканина невеликими острівцями розташовувалася між залишками алоімплантата. (рис. 6.8, к). Порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася у 2,9 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — в 19,5 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилася в 1,6 і 1,8 раза ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з 28-ю добою відносні площі алоімплантата та сполучної тканини зменшилися в 2,4 і 14,9 раза ($p < 0,001$) відповідно, кісткового мозку та кісткових трабекул — збільшилися в 1,4 раза ($p = 0,012$) і 1,5 раза ($p < 0,001$) відповідно. При цьому порівняно з групою Алоімплантат відносна площа алоімплантата в зоні дефекту виявилася меншою у 2,3 раза ($p < 0,001$), а сполучної тканини — більшою у 8,7 раза ($p = 0,010$), площі кісткових трабекул та кісткового мозку не відрізнялися (див. табл. 3.1, табл. 6.2–6.4).

3 ін'єкції факторів росту плазми крові

У 3-місячних щурів дефект був заповнений переважно новоутвореними кістковими трабекулами, сполучна тканина розташовувалась між залишками кісткових трабекул алоімплантата (рис. 6.8, л). Порівняно з 14-ю добою спостереження відносна площа алоімплантата зменшилася в 3,8 раза ($p < 0,001$), сполучної тканини — у 2,8 раза ($p < 0,001$), кісткових трабекул та кісткового мозку — збільшилася у 2,2 і 1,8 раза ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з 28-ю добою відносні площі алоімплантата та сполучної тканини зменшилися у 2,1 раза ($p = 0,002$) і 2,3 раза ($p < 0,001$) відповідно, площі

кісткового мозку та кісткових трабекул — збільшилися в 1,7 і 1,3 рази ($p < 0,001$) відповідно. Порівняно з групою Алоімплантат цього віку відносна площа алоімплантата в зоні дефекту була меншою у 2,0 рази ($p < 0,001$), кісткового мозку — в 1,3 рази ($p < 0,001$), сполучної тканини — більшою в 65,4 рази ($p < 0,001$), кісткових трабекул — в 1,5 рази ($p < 0,001$) (див. табл. 3.1, табл. 6.2–6.4).

Таким чином, за результатами гістологічного аналізу встановлено, що локальне введення факторів росту через 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата, насиченого МСК (*1 ін'єкція*), призводить у молодших щурів до скорішої його перебудови на 90-у добу порівняно з групою Алоімплантат, але без відмінностей порівняно з групою Алоімплантат+1 ін'єкція ФР. При цьому відмічено утворення значної кількості сполучної тканини в щурів обох вікових груп. Позитивний ефект на кісткоутворення не встановлений.

За локального введення факторів росту через 3 та 7 діб після операції (*2 ін'єкції*) в обох вікових групах визначено надлишкове утворення сполучної тканини на всі терміни спостереження, яке супроводжувалося прискореною перебудовою алоімплантата починаючи з 28-ї після операції порівняно з групами Алоімплантат і Алоімплантат+ 2 ін'єкції ФР. Оптимізації репаративного остеогенезу не встановлено.

Локальне введення факторів росту через 1, 3 та 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата, насиченого МСК (*3 ін'єкції*) призвело у молодших щурів до скорішої перебудови остеопластичного матеріалу, ніж у групах Алоімплантат і Алоімплантат+ФР, починаючи з 28-ї доби. Але цей процес супроводжувався утворенням значно більшої кількості сполучної тканини та затримкою кісткоутворення в дефектах щурів обох вікових груп.

Тобто, у всіх випадках відносні площі сполучної тканини за умов використання алогенних кісткових імплантатів із МСК (незважаючи на додаткове введення факторів росту плазми крові в післяопераційному періоді) у щурів обох вікових груп були більшими, ніж у разі застосування алоімплантатів окремо або з додатковим введенням факторів росту. Це може

бути пов'язано з імунною відповіддю на введення алогенних МСК, яка опосередкована функціонуванням Т- та В-лімфоцитів, що призводить до пригнічення формування кістки [94]. Окрім того, введення МСК відразу після гострої травми може спричинити пригнічення або зміну місцевих і системних відповідей (запальних реакції) через вивільнення імуносупресивних факторів, таких як трансформувальний фактор росту β , простагландин E_2 та індолеамін-2,3-діоксигеназа 1 [98]. Також МСК секретують білок SDF-1 (stromal cell-derived factor), який впливає на неоагіогенез [99] та, разом іншими цитокінами, змінює типи імунних клітин, які залучаються до місця ушкодження [98]. Зазначене може призвести як до стимуляції утворення кістки, так і власне сполучної тканини, що ми й побачили в нашому дослідженні. До того ж, ми спостерігали уповільнення кісткоутворення. Усе зазначене робить недоцільним використання комбінації алогенних МСК із алогенним кістковим імплантатом (навіть за умов стимуляції за допомогою локального введення факторів росту плазми крові в післяопераційному періоді) на ранніх стадіях репаративного остеогенезу та без застосування остеоіндукції клітин під час культивування або імуносупресорів.

6.5 Оцінка мінеральної щільності кісткової тканини стегнових кісток щурів різного віку за умов використання для пластики дефекту критичного розміру алогенних кісткових імплантатів із мезенхімальними стромальними клітинами або факторами росту плазми крові та подальшим їхнім введенням у вигляді місцевих ін'єкцій

Проаналізовано показник МЩКТ стегнової кістки через 14, 28 і 90 діб після ушкодження (табл. 6.5).

Порівняно з групою Алоімплантат одного віку на однаковий термін дослідження визначено, що у *3-місячних щурів* на 14-ту добу спостереження показник МЩКТ був нижчим у групах Алоімплантат+1 ін'єкція ФР та Алоімплантат+3 ін'єкції ФР — в 1,2 раза ($p = 0,016$), у групах Алоімплантат+2 ін'єкції ФР та Алоімплантат+ФР+1 ін'єкція ФР — в 1,1 раза ($p = 0,016$), в інших групах — не відрізнявся.

Таблиця 6.5 — Показники МЩКТ стегнової кістки щурів різного віку після моделювання дефекту в дистальному метафізі, заповнення його алоімплантатом у комбінації з МСК або ФР та введенням їх у післяопераційному періоді

Термін спостереження (доба)	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні	12-місячні	3-місячні	12-місячні	3-місячні	12-місячні
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
	Група щурів Алоімплантат					
14	0,144 (0,138; 0,145) $p_1 = 0,008$	0,176 (0,162; 0,204) $p_1 = 0,690$ $p_2 = 0,016$	0,162 (0,157; 0,163) $p_1 = 0,016$	0,196 (0,179; 0,220) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,016$	0,144 (0,119; 0,153) $p_1 = 0,008$	0,187 (0,180; 0,188) $p_1 = 0,548$ $p_2 = 0,008$
28	0,126 (0,117; 0,135) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,151$	0,177 (0,174; 0,194) $p_1 = 0,841$ $p_2 = 0,016$ $p_3 = 1,000$	0,171 (0,166; 0,177) $p_1 = 0,151$ $p_3 = 0,032$	0,194 (0,192; 0,200) $p_1 = 0,151$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$	0,166 (0,151; 0,178) $p_1 = 0,310$ $p_3 = 0,151$	0,199 (0,198; 0,202) $p_1 = 0,095$ $p_2 = 0,095$ $p_3 = 0,056$
90	0,200 (0,188; 0,207) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	0,188 (0,183; 0,193) $p_1 = 0,413$ $p_2 = 0,413$ $p_3 = 0,730$ $p_4 = 0,413$	0,190 (0,189; 0,193) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	0,195 (0,165; 0,219) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,841$ $p_3 = 0,905$ $p_4 = 1,000$	0,171 (0,168; 0,173) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,690$	0,213 (0,213; 0,236) $p_3 = 0,036$ $p_4 = 0,143$

Продовження табл. 6.5

1	2	3	4	5	6	7
	Група щурів Алоімплантат+МСК					
14	0,153 (0,137; 0,172) $p_1 = 0,310$	0,188 (0,180; 0,194) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,032$	0,167 (0,165; 0,173) $p_1 = 0,421$	0,184 (0,173; 0,189) $p_1 = 0,247$ $p_2 = 0,126$	0,164 (0,160; 0,168) $p_1 = 0,310$	0,158 (0,157; 0,180) $p_1 = 0,151$ $p_2 = 0,841$
28	0,174 (0,157; 0,180) $p_1 = 0,056$ $p_3 = 0,310$	0,209 (0,195; 0,210) $p_1 = 0,095$ $p_2 = 0,032$ $p_3 = 0,151$	0,176 (0,162; 0,186) $p_1 = 0,095$ $p_3 = 0,548$	0,199 (0,188; 0,201) $p_1 = 0,310$ $p_2 = 0,151$ $p_3 = 0,247$	0,182 (0,166; 0,186) $p_1 = 0,151$ $p_3 = 0,548$	0,197 (0,195; 0,221) $p_1 = 0,056$ $p_2 = 0,016$ $p_3 = 0,032$
90	0,149 (0,141; 0,150) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,548$ $p_4 = 0,056$	0,217 (0,213; 0,222) $p_1 = 0,016$ $p_2 = 0,016$ $p_3 = 0,016$ $p_4 = 0,063$	0,139 (0,139; 0,142) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$		0,207 (0,207; 0,208) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,095$ $p_4 = 0,095$	
	Група щурів Алоімплантат+ФР					
14	0,152 (0,136; 0,156) $p_1 = 0,016$	0,196 (0,179; 0,204) $p_1 = 0,730,$ $p_2 = 0,063$	0,169 (0,169; 0,174) $p_1 = 0,421$		0,161 (0,156; 0,169) $p_1 = 0,095$	0,193 (0,192; 0,237) $p_1 = 0,310$ $p_2 = 0,008$

Продовження табл. 6.5

1	2	3	4	5	6	7
28	0,139 (0,137; 0,149) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,548$	0,192 (0,187; 0,196) $p_1 = 0,421$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,905$	0,129 (0,129; 0,193) $p_1 = 0,095$ $p_3 = 0,690$	0,212 (0,197; 0,216) $p_1 = 0,056$ $p_2 = 0,032$	0,142 (0,137; 0,146) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	0,200 (0,193; 0,209) $p_1 = 0,111$ $p_2 = 0,016$ $p_3 = 1,000$
90	0,189 (0,178; 0,207) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	0,174 (0,168; 0,181) $p_1 = 0,032$ $p_2 = 0,095$ $p_3 = 0,286$ $p_4 = 0,151$	0,180 (0,170; 0,194) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,310$ $p_4 = 0,421$	0,124 (0,122; 0,131) $p_1 = 0,004$ $p_2 = 0,004$ $p_4 = 0,008$	0,173 (0,145; 0,176) $p_1 = 0,008$ $p_3 = 0,095$ $p_4 = 0,310$	0,181 (0,179; 0,185) $p_1 = 0,151$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,095$ $p_4 = 0,063$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників МЦКТ з групою такого самого віку з використанням для пластики дефекту алоімплантата на однаковий термін спостереження (див. табл. 3.3).

Примітка 2. p_2 – порівняння показників МЦКТ стегнової кістки щурів різного віку на однаковий термін після хірургічного втручання

Примітка 3. p_3 – порівняння показників МЦКТ у щурів одного віку на різний термін спостереження з 14-ю добою.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників МЦКТ у щурів одного віку на різний термін спостереження з 28-ю добою.

На 28-му добу спостереження показник МЦКТ був нижчим у групі Алоімплантат+1 ін'єкція ФР в 1,7 раза ($p = 0,008$), у групах Алоімплантат+ФР+2 ін'єкції ФР і Алоімплантат+ФР+3 ін'єкції ФР — в 1,5 раза ($p = 0,008$), у інших групах — не відрізнявся. Через 90 діб після операції показник МЦКТ був нижчим у всіх групах 3-місячних щурів, а саме: у групі алоімплантат+МСК+2 ін'єкції ФР — в 1,6 раза ($p = 0,008$); алоімплантат+3 ін'єкції ФР й алоімплантат+ФР+3 ін'єкції ФР — в 1,3 раза ($p = 0,008$); алоімплантат+МСК+1 ін'єкція ФР, ало+ФР+1 ін'єкція ФР або + 2 ін'єкції ФР — в 1,2 раза ($p = 0,008$); в групах алоімплантат+1 або 2 ін'єкції ФР та алоімплантат+МСК+3 ін'єкції ФР ін. — в 1,1 раза ($p = 0,008$).

Порівняно з 14-ю добою на 28-му добу показник МЦКТ стегнової кістки у 3-місячних щурів збільшився у групі алоімплантат+2 ін'єкції ФР в 1,1 раза ($p = 0,032$), а у групі алоімплантат+ФР+3 ін'єкції ФР — зменшився в 1,1 раза ($p = 0,008$), в інших групах — значуще не змінився. Через 90 діб порівняно з 14-ю добою показник МЦКТ зменшився лише в групі алоімплантат+МСК+2 ін'єкції ФР в 1,2 раза ($p = 0,008$), а збільшився у групах алоімплантат+2 або 3 ін'єкції ФР, алоімплантат+ФР+1 ін'єкція ФР — в 1,2 раза ($p = 0,008$), ало+1 ін'єкція ФР — в 1,4 раза ($p = 0,008$), значуще не змінився у групах алоімплантат+МСК+1 або +3 ін'єкції ФР, алоімплантат+ФР+2 або +3 ін'єкції.

У 12-місячних щурів на 14-ту та 28-му доби спостереження показник МЦКТ не відрізнявся порівняно з групою Алоімплантат. На 90-ту добу спостереження показник МЦКТ був нижчим у групі алоімплантат+ФР+2 ін'єкції ФР в 1,6 раза ($p = 0,004$), + 1 ін'єкція ФР — в 1,1 раза ($p = 0,032$); вищим — у групі алоімплантат+МСК+1 ін'єкція — в 1,1 раза ($p = 0,016$), не відрізнявся у групах алоімплантат+1 або +2 ін'єкції ФР, алоімплантат+ФР+3 ін'єкції. Порівняно з 14-ю добою на 28-му добу показник МЦКТ стегнової кістки у 12-місячних щурів збільшився лише у групі алоімплантат+МСК+3 ін'єкції ФР в 1,2 раза ($p = 0,032$), а на 90-ту добу — в групі алоімплантат+3 ін'єкції ФР — в 1,1 раза ($p = 0,036$), групі алоімплантат+МСК+2 ін'єкції

ФР — в 1,2 раза ($p = 0,008$), а у інших групах значуще не змінився.

6.6. Вираженість маркерів кісткового метаболізму в сироватці крові щурів після заповнення дірчастих дефектів критичного розміру в метафазі стегнової кістки алогенним кістковим у комбінації з мезенхімальними стромальними клітинами або факторами росту плазми крові з їхнім післяопераційним введенням

6.6.1 Вивчення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на метаболізм кісткової тканини після пластики дефектів стегнових кісток щурів алогенним кістковим матеріалом

14-та доба спостереження

У щурів 3-місячного віку після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові вміст загального білка та кальцію був вище в 1,30 раза та в 1,15 раза відповідно ($p = 0,008$ для обох випадків), проте активність кислої фосфатази нижче в 2,0 раза, а інші показники не відрізнялися порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.6).

Після 2 ін'єкції факторів росту плазми крові також встановлено нижчий в 1,1 раза рівень глікопротеїнів ($p = 0,008$), проте вищий в 1,10 та 1,40 раза відповідно ($p = 0,008$) рівень загального білку та кальцію порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР. Останнє свідчить про дещо більшу інтенсифікацію процесів метаболізму.

Після 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові визначено нижчий в 1,24 раза ($p = 0,008$) вміст глікопротеїнів порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР, що можна розцінювати як меншу інтенсивність запального процесу у зоні дефекту кістки.

У 12-місячних щурів після встановлення алоімплантата і введення 1 ін'єкції факторів росту плазми крові виявлено менший в 1,20 раза рівень вмісту глікопротеїнів ($p = 0,008$), активності лужної фосфатази ($p = 0,008$) та кислої фосфатази ($p = 0,008$), а також в 1,34 раза ($p = 0,008$) більший вміст хондроїтинсульфатів в порівнянні 3-місячними щурами. Порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій без ФР відмінностей не встановлено (табл. 6.6).

Таблиця 6.6 — Біохімічні показники сироватки крові щурів різного віку після моделювання дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки на 14 добу, заповнення його алоімплантатом у комбінації з МСК або ФР та введенням їх у післяопераційному періоді (Me, (25 %; 75 %))

Показник	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні Щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Група щурів Алоімплантат						
глікопротеїни, г/л	0,92 (0,83; 0,96) $p_2 = 1,000$	0,73 (0,70; 0,78) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,116$	0,82 (0,72; 0,89) $p_2 = 0,008$	0,76 (0,62; 0,86) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,116$	0,74 (0,63; 0,89) $p_2 = 0,116$	0,65 (0,56; 0,79) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,116$
загальний білок, г/л	73,8 (69,2; 79,7) $p_2 = 0,008$	71,2 (63,9; 76,8) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,056$	77,1 (71,6; 80,0) $p_2 = 0,008$	62,1 (56,7; 69,6) $p_1 = 0,016$ $p_2 = 0,956$	65,7 (60,4; 69,4) $p_2 = 0,056$	65,5 (61,0; 73,0) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,116$
Са, ммоль/л	2,38 (2,23; 2,60) $p_2 = 0,016$	2,25 (2,14; 2,42) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,965$	2,44 (2,30; 2,56) $p_2 = 0,008$	2,31 (2,16; 2,48) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 1,000$	2,29 (2,12; 2,44) $p_2 = 0,256$	2,14 (2,02; 2,25) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,256$

Продовження табл. 6.6

1	2	3	4	5	6	7
хондроїтинсульфати, г/л	0,259 (0,227; 0,288) p ₂ = 0,116	0,347 (0,328; 0,361) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,265	0,287 (0,254; 0,315) p ₂ = 0,984	0,353 (0,331; 0,386) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,116	0,285 (0,222; 0,326) p ₂ = 0,956	0,362 (0,331; 0,388) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,965
активність лужної фосфатази, Од/л	429,0 (389,0; 443,5) p ₂ = 0,008	366,5 (345,0; 385,0) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,116	485,0 (435,5; 520,0) p ₂ = 0,256	356,8 (331,0; 378,9) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,008	449,0 (390,0; 529,0) p ₂ = 0,151	301,6 (268,4; 362,0) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,008
активність кислої фосфатази, Од/л	18,8 (15,8; 22,9) p ₂ = 0,008	19,2 (16,0; 25,1) p ₁ = 0,856 p ₂ = 0,116	28,4 (24,8; 33,4) p ₂ = 0,222	26,5 (22,8; 31,3) p ₁ = 0,116 p ₂ = 0,046	33,3 (30,5; 35,7) p ₂ = 0,151	28,6 (23,6; 33,0) p ₁ = 0,116 p ₂ = 0,008
Група щурів Алоімплантат + МСК						
глікопротеїни, г/л	0,89 (0,83; 0,96) p ₂ = 0,856	0,92 (0,84; 0,99) p ₁ = 0,456 p ₂ = 0,016	0,79 (0,72; 0,87) p ₂ = 0,008	0,84 (0,76; 0,92) p ₁ = 0,456 p ₂ = 0,965	0,72 (0,65; 0,78) p ₂ = 0,008	0,75 (0,70; 0,82) p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,274
загальний білок, г/л	75,3 (70,2; 79,7) p ₂ = 0,008	73,2 (66,2; 78,3) p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,056	74,2 (70,0; 79,3) p ₂ = 0,008	76,0 (71,0; 84,3) p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,008	72,3 (69,2; 78,0) p ₂ = 0,008	75,1 (70,6; 80,9) p ₁ = 0,856 p ₂ = 0,008

Продовження табл. 6.6

1	2	3	4	5	6	7
Са, ммоль/л	2,42 (2,38; 2,45) p ₂ = 0,008	2,38 (2,31; 2,45) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,965	2,35 (2,27; 2,41) p ₂ = 0,008	2,30 (2,20; 2,43) p ₁ = 0,456 p ₂ = 1,000	2,38 (2,30; 2,47) p ₂ = 0,008	2,41 (2,35; 2,46) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,056
хондроїтинсульфати, г/л	0,367 (0,332; 0,407) p ₂ = 0,056	0,391 (0,349; 0,442) p ₁ = 0,856 p ₂ = 0,856	0,355 (0,341; 0,393) p ₂ = 0,008	0,385 (0,323; 0,420) p ₁ = 0,456 p ₂ = 1,000	0,333 (0,336; 0,332) p ₂ = 0,456	0,370 (0,313; 0,415) p ₁ = 0,116 p ₂ = 0,456
активність лужної фосфатази, Од/л	287,0 (251,0; 322,0) p ₂ = 0,256	225,0 (201,6; 241,5) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,008	245,4 (217,0; 261,5) p ₂ = 0,008	211,6 (181,2; 235,0) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,008	256,0 (229,0; 291,0) p ₂ = 0,008	225,0 (201,0; 259,2) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,008
активність кислої фосфатази, Од/л	36,4 (31,3; 40,2) p ₂ = 0,256	32,0 (28,8; 35,6) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,008	34,8 (39,4; 38,6) p ₂ = 0,956	32,2 (29,3; 36,4) p ₁ = 0,656 p ₂ = 0,008	35,7 (31,8; 39,2) p ₂ = 0,456	30,6 (26,0; 34,6) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,008
Група щурів Алоімплантат + ФР						
глікопротеїни, г/л	0,83 (0,72; 0,88) p ₂ = 0,046	0,75 (0,65; 0,83) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,116	0,77 (0,72; 0,85) p ₂ = 0,008	0,73 (0,66; 0,81) p ₁ = 0,456 p ₂ = 0,116	0,82 (0,74; 0,89) p ₂ = 0,056	0,76 (0,71; 0,85) p ₁ = 0,456 p ₂ = 0,116

Продовження табл. 6.6

1	2	3	4	5	6	7
загальний білок, г/л	62,1 (54,3; 68,40) $p_2 = 0,151$	67,4 (60,9; 73,3) $p_1 = 0,645$ $p_2 = 0,865$	72,4 (65,5; 79,7) $p_2 = 0,008$	73,2 (67,3; 79,0) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,008$	63,0 (55,8; 69,9) $p_2 = 0,151$	65,2 (60,0; 72,2) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,965$
Са, ммоль/л	2,22 (2,16; 2,25) $p_2 = 0,008$	2,30 (2,25; 2,36) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 1,000$	2,38 (2,33; 2,43) $p_2 = 0,008$	2,41 (2,36; 2,47) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$	2,25 (2,21; 2,31) $p_2 = 0,008$	2,36 (2,29; 2,43) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,265$
хондроїтинсульфати, г/л	0,267 (0,248; 0,292) $p_2 = 0,865$	0,232 (0,200; 0,265) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$	0,242 (0,229; 0,272) $p_2 = 0,008$	0,295 (0,263; 0,331) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,008$	0,225 (0,204; 0,250) $p_2 = 0,841$	0,290 (0,253; 0,325) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,656$
активність лужної фосфатази, Од/л	584,0 (525,5; 641,5) $p_2 = 0,022$	406,8 (375,6; 442,1) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,016$	628,0 (580,5; 659,5) $p_2 = 0,008$	514,2 (473,0; 559,0) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,032$	396,0 (351,5; 481,5) $p_2 = 0,032$	350,6 (314,2; 380,8) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,032$

Продовження табл. 6.6

1	2	3	4	5	6	7
активність кислої фосфатази, Од/л	31,5 (24,9; 36,5) $p_2 = 1,000$	27,9 (23,2; 35,6) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,965$	32,4 (27,3; 38,0) $p_2 = 0,856$	26,4 (21,5; 34,8) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,865$	30,1 (23,9; 36,8) $p_2 = 0,151$	25,0 (20,3; 32,2) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,656$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників у щурів різного віку однакових умов впливу на однаковий термін після втручання.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників щурів одного віку на однаковий термін після втручання з групою з алоімплантатом без ін'єкцій факторів росту плазми крові (див. табл. 3.2).

Після 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними визначено в 1,10 раза менші значення вмісту у сироватці крові глікопротеїнів ($p = 0,008$), загального білку ($p = 0,008$) та в 1,20 раза ($p = 0,008$) – активності лужної фосфатази. У порівнянні з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР зафіксовано вищий в 1,15 раза рівень глікопротеїнів ($p = 0,008$), кальцію ($p = 0,008$), активності лужної фосфатази ($p = 0,008$), та в 1,44 рази – кислої фосфатази ($p = 0,008$) (табл. 6.6). Це вказує на активізацію обміну речовин.

Третє введення факторів росту плазми крові (3 ін'єкції) призвело, до ситуації близької до у 3-місячних щурів за рівнем глікопротеїнів, загального білку та кальцію. Водночас у 3-місячних щурів мало місце перевищення рівня хондроїтинсульфатів у сироватці крові у 1,27 разів ($p = 0,008$) та менший рівень активності лужної фосфатази в 1,47 разів ($p = 0,008$), що може бути оцінено як вікові особливості тварин.

Зазначене може свідчити про помірну ефективність одноразового введення факторів росту плазми крові у щурів після введення алоімплантата, з більшим проявом у 3-місячних щурів на 14-у добу дослідження. Результати триразової стимуляції були менш суттєвими, а результати дворазової мало відрізнялися від триразової.

28-ма доба спостереження

У щурів 3-місячного віку після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові виявлено вищий рівень глікопротеїнів у 1,34 раза ($p = 0,046$) в сироватці крові порівняно з показниками групи Алоімплантат без ін'єкцій ФР, що може свідчити про помірну активацію запальних процесів. Також встановлено менше в 1,31 раза ($p = 0,008$) значення активності кислої фосфатази, як ознака пригнічення процесів резорбції кісткової тканини остеокластами (табл. 6.7). У порівнянні з 14-ю добою зафіксовано зниження в 1,23 раза ($p = 0,008$) вмісту глікопротеїнів у сироватці крові та підвищення в 1,74 раза ($p = 0,008$) активності кислої фосфатази, що відображає активацію перебудови кісткової тканини (табл. 6.7).

Таблиця 6.7 — Біохімічні показники сироватки крові щурів різного віку після моделювання дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки на 28 добу, заповнення його алоімплантатом у комбінації з МСК або ФР та введенням їх у післяопераційному періоді (Me, (25 %; 75 %))

Показник	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні	12-місячні	3-місячні	12-місячні	3-місячні	12-місячні
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Група Алоімплантат						
глікопротеїни, г/л	0,75 (0,68; 0,82) $p_2 = 0,046$ $p_3 = 0,008$	0,83 (0,75; 0,90) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,216$	0,73 (0,65; 0,79) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,465$	0,81 (0,72; 0,91) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,459$	0,77 (0,71; 0,83) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,222$	0,98 (0,91; 1,08) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,008$
загальний білок, г/л	71,4 (65,5; 76,4) $p_2 = 0,151$ $p_3 = 0,222$	67,6 (61,2; 73,0) $p_1 = 0,465$ $p_2 = 0,986$ $p_3 = 0,256$	63,2 (56,9; 68,8) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,008$	68,4 (61,3; 75,0) $p_1 = 0,465$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,116$	73,4 (68,2; 79,1) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	74,6 (71,2; 81,2) $p_1 = 0,865$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$
Са, ммоль/л	2,37 (2,37; 2,38) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 1,000$	2,29 (2,14; 2,35) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,965$	2,25 (2,21; 2,31) $p_2 = 0,841$ $p_3 = 0,008$	2,31 (2,30; 2,37) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$	2,39 (2,38; 2,41) $p_2 = 0,032$ $p_3 = 0,008$	2,40 (2,36; 2,41) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,865$ $p_3 = 0,008$

Продовження табл. 6.7

1	2	3	4	5	6	7
хондроїтинсульфати, г/л	0,274 (0,254; 0,290) $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,456$	0,315 (0,296; 0,331) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,116$	0,265 (0,230; 0,290) $p_2 = 0,690$ $p_3 = 0,046$	0,325 (0,285; 0,344) $p_1 = 0,465$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,256$	0,272 (0,250; 0,290) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,965$	0,350 (0,335; 0,373) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,008$
активність лужної фосфатази, Од/л	438,0 (391,0; 467,5) $p_2 = 0,310$ $p_3 = 0,421$	301,6 (255,9; 331,8) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,008$	418,0 (341,0; 460,5) $p_2 = 0,690$ $p_3 = 0,116$	314,6 (286,4; 350,0) $p_1 = 0,056$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,256$	416,0 (394,5; 471,0) $p_2 = 0,151$ $p_3 = 0,841$	325,0 (291,6; 343,5) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,865$ $p_3 = 0,116$
активність кислої фосфатази, Од/л	32,7 (29,2; 36,0) $p_2 = 0,016$ $p_3 = 0,008$	26,4 (22,1; 31,2) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,008$	34,9 (28,5; 39,9) $p_2 = 0,046$ $p_3 = 0,690$	25,0 (20,2; 29,3) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,865$	31,5 (27,3; 35,9) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,310$	24,6 (20,3; 29,6) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,690$
Група Алоімплантат + МСК						
глікопротеїни, од.	0,73 (0,66; 0,79) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,086$	1,12 (1,01; 1,29) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,008$	0,95 (0,86; 1,01) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,016$	1,10 (0,99; 1,23) $p_1 = 0,046$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,008$	0,94 (0,86; 0,99) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,956$	1,25 (1,06; 1,36) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,008$

Продовження табл. 6.7

1	2	3	4	5	6	7
загальний білок, г/л	65,4 (61,6; 69,2) $p_2 = 0,056$ $p_3 = 1,000$	68,3 (63,0; 72,5) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,465$ $p_3 = 0,256$	75,3 (70,4; 79,0) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,456$	70,4 (63,2; 76,2) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,116$	74,6 (71,1; 79,4) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	71,2 (65,3; 76,1) $p_1 = 0,566$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,256$
Са, ммоль/л	2,30 (2,30; 2,40) $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,116$	2,35 (2,28; 2,41) $p_1 = 0,965$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,965$	2,40 (2,36; 2,48) $p_2 = 0,016$ $p_3 = 1,000$	2,38 (2,32; 2,46) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,846$	2,40 (2,23; 2,44) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$	2,41 (2,34; 2,46) $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$
хондроїтинульфати, г/л	0,345 (0,328; 0,371) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,856$	0,395 (0,351; 0,420) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,986$ $p_3 = 1,000$	0,362 (0,327; 0,396) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,656$	0,389 (0,361; 0,413) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,856$	0,344 (0,320; 0,376) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,856$	0,365 (0,322; 0,383) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,986$
активність лужної фосфатази, Од/л	307,5 (272,3; 350,0) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,856$	241,3 (217,6; 261,5) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$	242,0 (191,0; 286,0) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	238,2 (218,7; 251,9) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$	229,0 (201,0; 249,5) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	215,4 (200,9; 241,3) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$

Продовження табл. 6.7

1	2	3	4	5	6	7
активність кислої фосфатази, Од/л	36,8 (32,9; 40,2) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 1,000$	32,3 (29,6; 35,8) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$	36,5 (31,4; 40,0) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,856$	33,2 (30,2; 38,7) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	38,5 (33,8; 43,6) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,865$	34,3 (30,0; 37,4) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$
Група Алоімплантат + ФР						
глікопротеїни, од.	0,82 (0,75; 0,88) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,016$	0,87 (0,80; 0,96) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,865$ $p_3 = 0,856$	0,74 (0,68; 0,82) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,056$	0,90 (0,81; 0,99) $p_1 = 0,046$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,016$	0,68 (0,62; 0,74) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	0,95 (0,82; 1,08) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,046$ $p_3 = 0,016$
загальний білок, г/л	64,4 (60,3; 66,5) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,956$	68,9 (61,7; 77,3) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,965$	73,8 (65,5; 77,0) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,856$	70,1 (64,9; 76,8) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,956$	66,6 (61,8; 69,6) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,256$	69,3 (63,2; 75,6) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,265$ $p_3 = 0,421$
Са, ммоль/л	2,27 (2,18; 2,37) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,456$	2,30 (2,23; 2,37) $p_1 = 0,865$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 1,000$	2,39 (2,39; 2,48) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$	2,33 (2,29; 2,39) $p_1 = 0,865$ $p_2 = 0,665$ $p_3 = 0,116$	2,33 (2,30; 2,37) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,056$	2,39 (2,31; 2,47) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$

Продовження табл. 6.7

1	2	3	4	5	6	7
хондроїтинсульфати, г/л	0,224 (0,194; 0,256) $p_2 = 0,365$ $p_3 = 0,116$	0,241 (0,204; 0,275) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,465$	0,207 (0,175; 0,234) $p_2 = 0,656$ $p_3 = 0,056$	0,222 (0,195; 0,233) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,656$ $p_3 = 0,008$	0,212 (0,199; 0,226) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,256$	0,214 (0,182; 0,249) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,865$ $p_3 = 0,008$
активність лужної фосфатази, Од/л	553,0 (522,5; 585,5) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,841$	449,8 (431,4; 472,6) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$	544,0 (510,5; 577,5) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	465,4 (425,9; 496,8) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,116$	355,0 (332,0; 383,0) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,310$	301,0 (272,0; 343,0) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,116$
активність кислої фосфатази, Од/л	28,2 (22,1; 34,7) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,116$	23,4 (16,2; 28,4) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,956$	26,2 (22,2; 30,3) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 1,000$	22,6 (17,0; 27,6) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,256$	25,2 (20,3; 28,2) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,841$	21,2 (17,4; 25,6) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,116$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників у щурів різного віку однакових умов впливу на однаковий термін після втручання.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників щурів одного віку на однаковий термін після втручання з групою з алоімплантатом без ін'єкцій факторів росту плазми крові (див. табл. 3.2).

Примітка 3. p_3 – порівняння показників щурів з показниками груп на 14-у добу дослідження.

У щурів 12-місячного віку із одноразовою локальною стимуляцією виявлено менша у 1,50 раза ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази, ніж у 3-місячних щурів, що може вказувати на дещо більший рівень інтоксикації за рахунок загальної реакції організму на втручання. Порівняно з 14-ю добою у 12-місячних щурів встановлено у 1,21 меншу активність лужної фосфатази ($p = 0,008$) (табл. 6.7). Порівняння із даними групи Алоімплантат без ін'єкцій ФР не виявило статистично достовірних відмінностей.

В умовах введення 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові у 12-місячних щурів показано відсутність статистично достовірних розбіжностей порівняно з 3-місячними щурами та групою Алоімплантат, щурами цього віку на 14-ту добу експерименту (табл. 6.7).

У разі введення 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові у 12-місячних щурів зафіксовано вищий в 1,27 раза ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів у сироватці крові порівняно з 3-місячними. У порівнянні з показниками групи Алоімплантат без ін'єкцій ФР зафіксовано в 1,19 раза ($p = 0,008$) більший рівень загального білку. Порівнюючи показники аналізованої групи щурів з 28-ту добу, встановлено вищий рівень у сироватці крові глікопротеїнів – в 1,50 раза ($p = 0,008$), загального білку – в 1,14 раза ($p = 0,008$), кальцію – в 1,19 раза ($p = 0,008$), хондроїтинсульфатів – в 1,37 раза ($p = 0,008$) (табл. 6.7).

Загалом, на 28-у добу в групі щурів із алоімплантатом визначено досить помірну реакцію метаболізму сполучної тканини на локальне введення факторів росту плазми крові поблизу зони дефекту.

90-та доба спостереження

Група Алоімплантат

У 3-місячних щурів з алоімплантатами після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові визначено менший в 1,24 раза рівень хондроїтинсульфатів та нижчу в 1,28 раза активність лужної фосфатази ($p = 0,008$) порівняно з показниками групи Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.8).

Після 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові результати порівняно з показниками групи Алоімплантат без ін'єкцій ФР не відрізнялися. Порівняно

з 14-ю добою встановлено менший у 1,31 раза вміст хондроїтинсульфатів ($p = 0,008$), в 1,46 раза нижчу активність лужної фосфатази ($p = 0,008$). Порівняно з 28-ю добу досліджу показано зниження в 1,26 раза активності лужної фосфатази та в 1,56 раза активності кислої фосфатази ($p = 0,008$) (табл. 6.8).

Після 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові порівняно з 28-ю добою показано меншу в 1,47 раза активність активність кислої фосфатази ($p = 0,008$). Порівняно з показниками групи Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР та з 14-ю добою не відрізнялися.

У 12-місячних *щурів* з алоімплантатами після 1 *ін'єкції* факторів росту плазми крові на 90-у добу встановлено нижчу в 1,23 раза ($p = 0,008$) концентрацію глікопротеїнів у сироватці крові та в 1,65 разів ($p = 0,008$) – активність лужної фосфатази порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з показниками групи Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР результати не відрізнялися. Порівняно з 14-ю добою встановлено підвищення в 1,13 раза ($p = 0,008$) концентрації загального білку, кальцію – в 1,08 раза ($p = 0,008$) на фоні зменшення в 1,37 раза ($p = 0,008$) активності лужної фосфатази. Порівняно з 28-ю добою виявлено підвищення в 1,07 раза ($p = 0,008$) концентрації кальцію, глікопротеїнів – в 1,15 раза ($p = 0,008$), загального білка – в 1,16 раза ($p = 0,008$), та активності лужної фосфатази – в 1,33 рази ($p = 0,008$).

Після 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові у *щурів* з алоімплантатами визначено вищий в 1,30 раза ($p = 0,008$) рівень хондроїтинсульфатів порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з показниками групи Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР виявлено лише вищу в 1,43 раза ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази. Порівняно з 14-ю добою зафіксовано підвищення в 1,15 раза ($p = 0,008$) рівня загального білку, а зниження в 1,24 рази ($p = 0,008$) концентрації хондроїтинсульфатів та активності лужної фосфатази – в 1,62 раза ($p = 0,008$). Порівняно з 28-ю добою 28-у добу дослідження різниці не встановлено.

Таблиця 6.8 – Біохімічні показники сироватки крові щурів різного віку після моделювання дефекту в дистальному метафізі стегнової кістки на 90 добу, заповнення його алоімплантатом у комбінації з МСК або ФР та введенням їх у післяопераційному періоді (Me, (25 %; 75 %) (Me, (25 %; 75 %))

Показник	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні	12-місячні	3-місячні	12-місячні	3-місячні	12-місячні
1	2	3	4	5	6	7
група Алоімплантат						
глікопротеїни, од.	1,02	0,83	0,79	0,91	0,85	0,83
	(0,96; 1,11)	(0,76; 0,89)	(0,77; 0,85)	(0,84; 0,96)	(0,81; 0,90)	(0,76; 0,89)
	p ₂ = 0,008	p ₁ = 0,116	p ₂ = 1,000	p ₁ = 0,056	p ₂ = 0,286	p ₁ = 0,456
	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,022	p ₃ = 1,000	p ₂ = 1,000	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,056
	p ₄ = 0,008	p ₃ = 0,116	p ₄ = 0,116	p ₃ = 0,016	p ₄ = 0,116	p ₃ = 0,008
загальний білок, г/л	87,7	81,0	67,8	71,2	76,0	78,3
	(82,4; 93,9)	(74,3; 86,8)	(62,1; 75,2)	(66,5; 79,2)	(71,6; 81,1)	(72,6; 82,3)
	p ₂ = 0,116	p ₁ = 0,256	p ₂ = 0,116	p ₁ = 0,256	p ₂ = 1,000	p ₁ = 0,456
	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,865	p ₃ = 0,056	p ₂ = 0,865	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,860
	p ₄ = 0,256	p ₃ = 0,008	p ₄ = 0,116	p ₃ = 0,008	p ₄ = 0,486	p ₃ = 0,008
		p ₄ = 0,256	p ₄ = 0,456		p ₄ = 0,256	

Продовження табл. 6.8

1	2	3	4	5	6	7
Са, ммоль/л	2,58 (2,50; 2,64) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	2,44 (2,36; 2,50) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	2,35 (2,29; 2,40) $p_2 = 0,868$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,161$	2,41 (2,35; 2,47) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,946$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,116$	2,42 (2,33; 2,48) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,046$ $p_4 = 0,856$	2,36 (2,28; 2,47) $p_1 = 0,656$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,046$ $p_4 = 0,656$
хондроїтинсульфати, г/л	0,330 (0,300; 0,360) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	0,364 (0,331; 0,401) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,056$	0,220 (0,180; 0,245) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,956$	0,285 (0,250; 0,319) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,256$	0,244 (0,223; 0,272) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,556$ $p_4 = 0,456$	0,305 (0,271; 0,332) $p_1 = 0,046$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,046$
активність лужної фосфатази, Од/л	373,0 (324,0; 406,0) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,222$ $p_4 = 0,008$	226,8 (202,0; 251,3) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,456$	332,0 (291,5; 374,5) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	220,4 (194,3; 248,6) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 1,000$	255,5 (219,2; 307,5) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,256$	195,6 (176,0; 226,5) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$

Продовження табл. 6.8

1	2	3	4	5	6	7
активність кислої фосфатази, Од/л	24,9	17,9	22,4	19,8	21,5	20,6
	(20,9; 29,3)	(14,3; 21,7)	(19,1; 28,0)	(15,5; 23,1)	(18,3; 26,3)	(16,4; 25,2)
	p ₂ = 0,956	p ₁ = 0,256	p ₂ = 0,456	p ₁ = 0,956	p ₂ = 0,256	p ₁ = 0,456
	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,116	p ₃ = 0,256	p ₂ = 0,256	p ₃ = 0,016	p ₂ = 0,256
	p ₄ = 0,116	p ₃ = 0,116	p ₄ = 0,008	p ₃ = 0,116	p ₄ = 0,008	p ₃ = 0,046
						p ₄ = 0,116
група Алоімплантат + МСК						
глікопротеїни, од.	0,85	1,03	0,70	0,87	0,85	0,96
	(0,78; 0,92)	(0,92; 1,20)	(0,64; 0,77)	(0,81; 0,95)	(0,80; 0,92)	(0,85; 1,04)
	p ₂ = 0,151	p ₁ = 0,008	p ₂ = 0,056	p ₁ = 0,008	p ₂ = 0,256	p ₁ = 0,116
	p ₃ = 0,456	p ₂ = 0,256	p ₃ = 0,116	p ₂ = 0,046	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,256
	p ₄ = 0,016	p ₃ = 0,116	p ₄ = 0,856	p ₃ = 0,256	p ₄ = 0,256	p ₃ = 0,008
						p ₄ = 1,000
загальний білок, г/л	71,9	73,2	83,0	76,3	82,8	79,2
	(65,0; 78,4)	(66,9; 80,8)	(78,5; 91,0)	(71,7; 82,9)	(78,6; 86,2)	(72,3; 86,2)
	p ₂ = 0,690	p ₁ = 0,956	p ₂ = 0,690	p ₁ = 0,256	p ₂ = 0,865	p ₁ = 0,956
	p ₃ = 0,856	p ₂ = 0,116	p ₃ = 0,116	p ₂ = 0,456	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,865
	p ₄ = 1,000	p ₃ = 1,000	p ₄ = 0,008	p ₃ = 1,000	p ₄ = 0,008	p ₃ = 0,116
						p ₄ = 0,690

Продовження табл. 6.8

1	2	3	4	5	6	7
Са, ммоль/л	2,38 (2,30; 2,47) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 1,000$	2,41 (2,32; 2,49) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,256$	2,51 (2,43; 2,58) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,116$	2,55 (2,48; 2,59) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	2,50 (2,45; 2,56) $p_2 = 0,066$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,056$	2,44 (2,37; 2,51) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,956$ $p_4 = 0,841$
хондроїтинсульфати, г/л	0,364 (0,323; 0,400) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,841$ $p_4 = 1,000$	0,387 (0,347; 0,417) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 1,000$	0,330 (0,291; 0,372) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,956$ $p_4 = 0,456$	0,361 (0,335; 0,391) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,456$	0,330 (0,302; 0,357) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,456$ $p_4 = 1,000$	0,395 (0,366; 0,428) $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,656$ $p_4 = 0,965$
активність лужної фосфатази, Од/л	198,0 (142,0; 230,0) $p_2 = 0,548$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	215,9 (202,0; 247,4) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,456$ $p_4 = 0,256$	180,0 (157,5; 229,0) $p_2 = 0,032$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,116$	190,3 (169,3; 221,2) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,016$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,116$	191,0 (177,0; 220,5) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,256$	185,2 (165,4; 207,0) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,256$

Продовження табл. 6.8

1	2	3	4	5	6	7	
активність кислої фосфатази, Од/л	39,7 (35,4; 42,1) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,856$	35,6 (32,3; 39,6) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,456$ $p_4 = 0,656$	41,3 (36,9; 45,3) $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,256$	36,4 (33,2; 40,5) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,456$	39,0 (35,2; 43,9) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,116$	34,8 (31,2; 37,8) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 1,000$	
	група Алоімплантат + ФР						
	глікопротеїни, од.	0,87 (0,89; 0,94) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,856$	0,78 (0,70; 0,87) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,956$ $p_4 = 0,456$	0,75 (0,65; 0,83) $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 1,000$	0,85 (0,78; 0,95) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,656$	0,96 (0,88; 1,07) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,056$ $p_4 = 0,008$	1,07 (0,93; 1,15) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,116$
		загальний білок, г/л	83,3 (79,5; 88,1) $p_2 = 0,690$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	81,2 (75,2; 87,4) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,056$	72,5 (67,7; 78,2) $p_2 = 0,690$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 0,856$	70,6 (63,3; 77,2) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,590$ $p_3 = 0,456$ $p_4 = 0,856$	66,0 (61,7; 69,9) $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 1,000$

Продовження табл. 6.8

1	2	3	4	5	6	7
Са, ммоль/л	2,51 (2,40; 2,57) p ₂ = 0,151 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,008	2,38 (2,20; 2,44) p ₁ = 0,116 p ₂ = 1,000 p ₃ = 0,256 p ₄ = 0,256	2,38 (2,30; 2,47) p ₂ = 0,841 p ₃ = 1,000 p ₄ = 0,856	2,50 (2,38; 2,57) p ₁ = 0,456 p ₂ = 0,151 p ₃ = 0,656 p ₄ = 0,256	2,32 (2,21; 2,37) p ₂ = 0,151 p ₃ = 0,116 p ₄ = 1,000	2,41 (2,28; 2,49) p ₁ = 0,456 p ₂ = 0,690 p ₃ = 0,256 p ₄ = 0,890
хондроїтинсульфати, г/л	0,215 (0,201; 0,243) p ₂ = 0,256 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,056	0,255 (0,221; 0,300) p ₁ = 0,456 p ₂ = 0,116 p ₃ = 0,456 p ₄ = 0,008	0,172 (0,149; 0,198) p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,456	0,210 (0,183; 0,254) p ₁ = 0,116 p ₂ = 0,256 p ₃ = 0,866 p ₄ = 0,008	0,220 (0,192; 0,248) p ₂ = 0,256 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,256	0,250 (0,201; 0,255) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,456 p ₃ = 0,456 p ₄ = 1,000
активність лужної фосфатази, Од/л	349,0 (327,5; 390,6) p ₂ = 0,548 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,008	339,0 (270,7; 316,8) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,945 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,008	323,0 (286,0; 363,0) p ₂ = 0,256 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,690	321,5 (280,0; 334,9) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,834 p ₃ = 0,008 p ₄ = 0,656	352,0 (330,5; 401,5) p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,548 p ₄ = 1,000	314,2 (285,4; 331,9) p ₁ = 0,116 p ₂ = 0,956 p ₃ = 0,116 p ₄ = 0,956

Продовження табл. 6.8

1	2	3	4	5	6	7
	22,4	20,4	22,8	19,8	25,2	22,2
	(19,1; 26,4)	(15,5; 25,0)	(17,8; 26,5)	(16,4; 25,8)	(21,3; 30,1)	(18,2; 27,3)
активність кислої	$p_2 = 0,256$	$p_1 = 0,865$	$p_2 = 0,310$	$p_1 = 0,856$	$p_2 = 1,000$	$p_1 = 0,856$
фосфатази, Од/л	$p_3 = 0,421$	$p_2 = 0,656$	$p_3 = 0,256$	$p_2 = 0,456$	$p_3 = 0,856$	$p_2 = 0,656$
	$p_4 = 0,116$	$p_3 = 0,656$	$p_4 = 0,456$	$p_3 = 0,156$	$p_4 = 1,000$	$p_3 = 0,986$
		$p_4 = 0,856$		$p_4 = 0,008$		$p_4 = 0,046$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників у щурів різного віку однакових умов впливу на однаковий термін після втручання.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників щурів одного віку на однаковий термін після втручання з групою з алоімплантатом без ін'єкцій факторів росту плазми крові (див. табл. 3.2).

Примітка 3. p_3 – порівняння показників щурів з показниками груп на 14-у добу дослідження.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників щурів з показниками груп на 28-у добу дослідження.

Після 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові у щурів з алоімплантатами визначено вищий в 1,25 раза ($p = 0,008$) рівень хондроїтинсульфатів порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з показниками групи Алоімплантат без ін'єкцій ФР різниці не виявлено. Порівняно з 14-ю добою зафіксовано підвищення вмісту глікопротеїнів в 1,28 раза ($p = 0,008$) на фоні зниження активності лужної фосфатази в 1,54 раза ($p = 0,008$). Порівняно з 28-ю добою виявлено зниження в 1,18 раза ($p = 0,008$) вмісту глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів – в 1,15 раза ($p = 0,008$), активності лужної фосфатази – в 1,66 раза ($p = 0,008$).

6.6.2 Вивчення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на метаболізм кісткової тканини після пластики дефектів стегнових кісток щурів алогенним кістковим матеріалом у комбінації з МСК

14-та доба спостереження

У 3 місячних щурів з алоімплантатами насиченими МСК виявлено, що після введення 1 ін'єкції факторів росту плазми крові вищу в 1,20 раза концентрацію загального білку ($p = 0,008$) та кальцію ($p = 0,008$) на фоні зниження в 1,25 ($p = 0,008$) раза рівня глікопротеїнів порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР.

Після 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові біохімічний рельєф експериментальних щурів не змінювався. Визначено в сироватці крові нижчий в 1,25 раза ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів, в 1,70 раза — активність лужної фосфатази, вищий в 1,20 раза ($p = 0,008$) рівень загального білку та кальцію порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР. Єдиний показник, який змінився за цих умов — це зменшення в 1,18 раза вмісту хондроїтинсульфатів, що у сукупності із зменшенням активності фосфатаз, особливо лужної, вказує на можливе пригнічення процесів метаболізму сполучної тканини.

Введення 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові мало змінило

метаболический стан щурів. Залишалося вище в 1,20 рази ($p = 0,008$) концентрація загального білку та кальцію на фоні нижчого в 1,25 рази ($p = 0,008$) рівня глікопротеїнів, в 1,70 рази – активності лужної фосфатази порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР, що свідчить про менш активні репаративні процеси.

У 12-місячних щурів з алоімплантатами насиченими МСК після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові визначено нижчий, ніж у 3-місячних щурів рівень хондроїтинсульфатів – в 1,37 рази ($p = 0,008$), та нижчу в 1,10 рази активність лужної фосфатази ($p = 0,008$), а інші показники не відрізнялися. Порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР виявлено нижчу в 1,31 рази ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази і вищу в 1,33 рази ($p = 0,008$) активність кислої фосфатази, що демонструє переважання процесів руйнування кісткової тканини над її формуванням.

У результаті введення 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові не виявлено відмінностей порівняно з 3-місячними щурами. Водночас, у порівнянні з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР встановлено вищий в 1,1 рази рівень загального білку, вищу в 1,75 рази ($p = 0,008$) активність кислої фосфатази на фоні нижчої в 1,39 рази ($p = 0,008$) активності лужної фосфатази, що у сукупності може свідчити про меншу активність репаративного остеогенезу.

Введення 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові не спричинило істотних змін порівняно з показниками групи 3-місячних щурів. Водночас, у порівнянні з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР встановлено вищий в 1,33 рази ($p = 0,008$) рівень загального білку, активність кислої фосфатази – в 1,66 рази ($p = 0,008$) і нижчу в 1,16 рази активність лужної фосфатази ($p = 0,008$).

28-ма доба спостереження

У 3-місячних щурів з алоімплантатами насиченими МСК після введення 1 ін'єкції факторів росту плазми крові визначено лише вищу в 1,41 рази ($p = 0,008$) активність кислої фосфатази, а інші показники не відрізнялися

порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР. Також не виявлено відмінностей порівняно з показниками на 14-ту добу дослідження, що свідчить про повільне протікання метаболічних процесів на даний термін (табл. 6.7).

Після введення 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові в сироватці крові 3-місячних щурів на 28-му добу виявлено в 1,42 раза ($p = 0,008$) вищу концентрацію глікопротеїнів, в 1,17 раза — загального білку ($p = 0,008$), в 1,06 раза — кальцію ($p = 0,016$) порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.7). Також вищою в 1,40 раза ($p = 0,008$) була активність кислої фосфатази на фоні в 1,27 раза ($p = 0,008$), а нижчої в 1,27 раза ($p = 0,008$) — лужної, що є характерним для стану пригнічення процесів формування кісткової тканини із пришвидшенням її руйнування. Порівняно з 14-ю добою експерименту виявлено вищий в 1,16 раза рівень глікопротеїнів ($p = 0,008$) на фоні нижчої в 1,42 раза ($p = 0,008$) активності лужної фосфатази, що підтверджує гіпотезу про несприятливі умови для загоєння кісткового дефекту у цій групі щурів.

Після введення 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові показано вищий в 1,40 раза ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів, загального білку – в 1,17 раза ($p = 0,008$) та кальцію – в 1,19 раза ($p = 0,008$) порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР. Порівняно з 14-ю добою досліду встановлено вищий в 1,30 раза ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів, загального білку – в 1,17 раза ($p = 0,008$) та кальцію – в 1,18 раза ($p = 0,008$) (табл. 6.7).

У 12-місячних щурів з алоімплантатами насиченими МСК після введення 1 *ін'єкції* факторів росту плазми крові визначено вищий в 1,53 раза ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів у сироватці крові порівняно з 3-місячними щурами, що супроводжувалося в 1,27 раза ($p = 0,008$) нижчим рівнем активності лужної фосфатази, що вказує на меншу інтенсивність метаболізму сполучної тканини. Порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР виявлено в 1,42 раза ($p = 0,008$) вищу активність кислої фосфатази, та в 1,25 раза ($p = 0,008$) нижчу активність лужної фосфатази, що є ознакою більшої

активації катаболічного напрямку метаболізму кісткової тканини при пригніченні анаболічних процесів. Порівняно з 14-ю добою спостереження показано в 1,22 раз ($p = 0,008$) більший рівень глікопротеїнів у сироватці крові, що підтверджує розвиток процесу запалення протягом дослідження.

У разі 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними виявлено в 1,16 раз ($p = 0,008$) вищий рівень глікопротеїнів у сироватці крові. Порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР визначено в сироватці крові меншу в 1,27 раз активність лужної фосфатази та в 1,46 раз ($p = 0,008$) вищої активності кислоти, що може бути ознакою переважання катаболічних процесів у системі кісткової тканини організму щурів над анаболічними. Порівняно з 14-ю добою експерименту встановлено лише значуще перевищення концентрації у сироватці крові глікопротеїнів в 1,2 раз ($p = 0,008$), що є ознакою тривалого перебігу запального процесу.

Після введення 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними встановлено вищий в 1,33 раз ($p = 0,008$) рівень у сироватці крові глікопротеїнів, нижчу в 1,53 раз ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази, що може бути трактоване як менш ефективне формування кісткової тканини в зоні дефекту. Порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР встановлено в 1,41 раз ($p = 0,008$) нижчий рівень активності лужної фосфатази та в 1,21 раз ($p = 0,008$) вищий рівень кальцію, що вказує на пригнічення процесів формування кістки. Порівняно з 14-ю добою спостереження показано лише перевищення в 1,67 раз ($p = 0,008$) рівня глікопротеїнів у сироватці крові щурів на 28-му добу дослідження, що є ознакою тривалого перебігу запального процесу з достатньо інтенсивним проявом.

90-та доба спостереження

У 3-місячних щурів з алоімплантатами насиченими МСК, після 1 *ін'єкції* факторів росту плазми крові визначено вищу в 1,50 раз ($p = 0,008$) активність кислоти фосфатази порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР.

Зафіксовано зниження активності лужної фосфатази в 1,45 рази ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою, та в 1,55 рази ($p = 0,008$) – з 28-ю добою (табл. 6.8).

У щурів з алоімплантатами насиченими МСК після 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові зафіксовано нижчий рівень активності лужної фосфатази у сироватці крові в 1,54 рази ($p = 0,008$) порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР. Порівняно з 14-ю добою спостереження не виявлено відмінностей. Порівняно з 28-ю добою показано лише підвищення в 1,10 рази ($p = 0,008$) вмісту загального білку.

Після 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові із алоімплантатами, насиченими МСК, встановлено вищий рівень хондроїтинсульфатів в 1,29 рази ($p = 0,008$), вищу активність лужної фосфатази – в 1,46 разів ($p = 0,008$) та активність кислої фосфатази – в 1,47 рази ($p = 0,008$) порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР. Порівняно з 14-ю добою виявлено підвищення в 1,72 рази ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів, загального білку – в 1,15 а ($p = 0,008$) та зниження активності лужної фосфатази в 1,34 рази ($p = 0,008$). Порівняно з 28-ю добою не виявлено відмінностей.

У 12-місячних щурів з алоімплантатами насиченими МСК, після 1 *ін'єкції* факторів росту плазми крові зафіксовано вищий в 1,21 рази ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР та показниками на 14-у і 28-у доби відмінностей не виявлено (табл. 6.8).

У щурів з алоімплантатами насиченими МСК після 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові виявлено вищий в 1,24 рази ($p = 0,008$) рівень глікопротеїнів порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР зафіксовано вищий в 1,07 рази ($p = 0,008$) рівень кальцію на фоні нижчої в 1,64 рази ($p = 0,008$) активності лужної фосфатази. Показано підвищення рівня кальцію в 1,11 рази ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою, а з 28-ю добою – в 1,07 рази ($p = 0,008$).

У щурів з алоімплантатами насиченими МСК після 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові виявлено вищий в 1,20 рази ($p = 0,008$) рівень

глікопротеїнів порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР зафіксовано вищий в 1,45 раза ($p = 0,008$) рівень хондроїтинсульфатів на фоні зниження в 1,68 раза ($p = 0,008$) активності лужної фосфатази. Порівняно з 14-ю добою виявлено підвищення в 1,26 раза ($p = 0,008$) рівня глікопротеїнів. Порівняно з 28-ю добою відмінностей не виявлено (табл. 6.8).

6.6.3 Вивчення ефекту локального введення факторів росту плазми крові на метаболізм кісткової тканини після пластики дефектів стегнових кісток щурів алогенним кістковим матеріалом, насиченим факторами росту плазми крові

14-та доба спостереження

У 3-місячних щурів з алоімплантатами, насиченими ФР, після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові встановлено в 1,10 раза ($p = 0,008$) нижчий вміст глікопротеїнів та в 1,32 раза ($p = 0,022$) вищий рівень активності лужної фосфатази, а інші показники не відрізнялись порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР.

Після 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові зафіксовано вищий в 1,19 раза рівень глікопротеїнів, загального білка - в 1,10 раза ($p = 0,008$), кальцію - в 1,15 раза ($p = 0,008$), проте нижчий в 1,59 раза ($p = 0,008$) рівень хондроїтинсульфатів, а також вищу в 1,42 раза ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази та в 1,36 раза нижчу — кислої фосфатази порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР.

Після 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові не виникло суттєвих змін біохімічних показників щурів порівняно з дворазовою стимуляцією. Це виражалось, як і у попередній дослідженій підгрупі, в 1,10 раза ($p = 0,008$) вищим рівнем кальцію, ніж у групі Алоімплантат без ін'єкцій ФР, а інші досліджені показники не відрізнялись.

Вочевидь, у групі з алоімплантатами 1 ін'єкція факторів росту плазми

крові незначно вплинула на репарацію тканин у зоні дефекту і навколо неї, *2 ін'єкції* суттєво стимулювали репаративні процеси, а *3 ін'єкції* не змінювали ситуацію, можливо, внаслідок значного ступеня насичення рецепторів клітин-мішеней.

У *12-місячних щурів* з алоімплантатами, насиченими ФР, після *1 ін'єкції* факторів росту плазми крові спостерігали вищу в 1,37 раза ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази та менший в 1,66 раза вміст хондроїтинсульфатів ($p = 0,008$) у сироватці крові.

Після введення *2 ін'єкцій* факторів росту плазми крові зафіксовано різницю лише в 1,22 раза ($p = 0,008$) меншу активність лужної фосфатази порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР виявлено у 1,30 раза ($p = 0,008$) вищий рівень загального білку в сироватці крові, в 1,19 раза — кальцію ($p = 0,008$), в 1,28 раза — активності лужної фосфатази ($p = 0,008$) та нижчий в 1,40 раза рівень хондроїтинсульфатів ($p = 0,008$) (табл. 6.6). Ці зміни можуть відображати активний стимулюючий ефект локального введення факторів росту плазми крові поблизу зони дефекту.

Триразова локальна стимуляція факторами росту плазми крові (*3 ін'єкції*) призводила до більшого в 1,28 раза вмісту хондроїтинсульфатів та в 1,15 раза ($p = 0,008$) – кальцію порівняно з 3-місячними щурами.

28-ма доба спостереження

У *3-місячних щурів* з алоімплантатами, насиченими ФР, після введення *1 ін'єкції* факторів росту плазми крові виявлено вищий в 1,22 раза ($p = 0,008$) вміст глікопротеїнів та вищу в 1,56 раза активність лужної фосфатази порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР, що вказує на продовження активної перебудови кісткової тканини з переважанням її формування (табл. 6.7), а інші показники не відрізнялися. Порівняно з 14-ю добою також не виявлено відмінностей, що свідчить про досягнення в умовах даного виду лікування фізіологічного максимуму і подальший вплив не викликає

активації репаративного процесу по відношенню до рівня на 14-у добу.

Після 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові у 3-місячних щурів порівняно з групою Алоімплантат виявлено в 1,10 раза більший рівень глікопротеїнів ($p = 0,008$), в 1,19 раза — кальцію ($p = 0,008$), що вказує на активацію метаболічних процесів в умовах введення факторів росту плазми крові. Порівняно з 14-ю добою встановлено зниження активності лужної фосфатази в 1,15 раза ($p = 0,008$), що є ознакою затихання процесу формування кісткової тканини. Можливо, на цей термін завершується інтенсивна перебудова пограничної кісткової тканини, на межі з алоімплантатом, що зафіксовано на 14-у добу дослідження.

В умовах введення 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові показники не відрізнялись порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР. Порівняно з 14-ю добою виявлено зменшення у сироватці крові вмісту глікопротеїнів в 1,20 раза ($p = 0,008$), що свідчить про зменшення інтенсивності запалення.

У 12-місячних щурів з алоімплантатами, насиченими ФР, яким вводили локально 1 *ін'єкцію* факторів росту плазми крові на 28-у добу виявлено в 1,40 раза ($p = 0,008$) вищий рівень глікопротеїнів порівняно з 3-місячними щурами, що можливо є ознакою активнішого запального процесу. Порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР не виявлено різниці, що вказує на меншу ефективність дії локальної стимуляції у старших щурів порівняно з молодшими. Порівняно з 14-ю добою показано зниження в 1,82 раза ($p = 0,008$) вмісту хондроїтинсульфатів, що ймовірно є ознакою пригнічення формування хрящової та сполучної тканини у зоні дефекту (табл. 6.7).

Після введення 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові виявлено перевищення вмісту глікопротеїнів в 1,22 раза ($p = 0,008$) при нижчій в 1,17 раза ($p = 0,008$) активності лужної фосфатази у сироватці крові порівняно з 3-місячними щурами. Порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР зафіксовано вищу в 1,54 раза ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази. Порівняно 14-ю добою показано підвищення рівня глікопротеїнів в 1,17 раза ($p = 0,008$) та зниження вмісту хондроїтинсульфатів в 1,33 раза

($p = 0,008$). Зазначене вказує на досягнення в умовах експерименту активного загоєння зони дефекту з перебудовою алоімплантата шляхом формування кісткової тканини та пригніченням формування сполучної тканини.

В умовах введення *3 ін'єкцій* факторів росту плазми крові у 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними зафіксована меншу в 1,20 раза ($p = 0,008$) активність лужної фосфатази, що можливо пов'язане з віком. Порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР активність лужної фосфатази була більшою в 1,49 раза ($p = 0,008$). Порівняно 14-ю добою статистично значущих відмінностей не зафіксовано.

Отже на 28-у добу дослідження виявлено ознаки активного перебігу метаболічних процесів, зокрема, репараційних, з більшим проявом у 3-місячних щурів. Менший прояв, але, більший, ніж у інших досліджуваних груп вони мали у 12-місячних щурів за умов введення 1 ін'єкції факторів росту плазми крові. Водночас у 12-місячних щурів спостерігали переважання маніфестації маркерів формування кісткової тканини у поєднанні з помітним зниженням рівня маркерів формування сполучної, в тому числі, рубцевої тканини, що є ознакою активної перебудови зони дефекту з заповненням переважно кістковою тканиною. Позитивним результатом є збереження активності репаративних процесів порівняно з попереднім терміном дослідження (14 діб).

90-та доба спостереження

У 3-місячних щурів з алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові після *1 ін'єкції* факторів росту плазми крові не виявлено відмінностей порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР. Порівняно з 14-ю добою зафіксовано підвищення в 1,29 раза ($p = 0,008$) рівня загального білку, кальцію – в 1,13 раза ($p = 0,008$), хондроїтинсульфатів – в 1,24 раза ($p = 0,008$), активності лужної фосфатази – в 1,67 раза ($p = 0,008$). Порівняно з 28-ю добою виявлено підвищення в 1,29 разів рівня загального білку ($p = 0,008$), кальцію – в 1,10 раза ($p = 0,008$) на фоні зниження активності

лужної фосфатази в 1,58 раза ($p = 0,008$) (табл. 6.8).

Після 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові щурів з алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові виявлено нижчий в 1,48 раза ($p = 0,008$) рівень хондроїтинсульфатів порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР. Порівняно з 14-ю добою зафіксовано зниження в 1,41 раза ($p = 0,008$) рівня хондроїтинсульфатів та активності лужної фосфатази – в 1,94 раза ($p = 0,008$), останнє свідчить про поступове завершення процесів заповнення зони дефекту новоутвореної кістковою тканиною. Порівняно з 28-ю добою відмінностей не виявлено (табл. 6.8).

Після 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові щурів з алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові виявлено вищий в 1,20 раза ($p = 0,008$) глікопротеїнів, активність лужної фосфатази – в 1,27 раза ($p = 0,008$) порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР. Порівняно з 14-ю добою показано зниження в 1,48 раза концентрації хондроїтинсульфатів ($p = 0,008$), що може свідчити про зменшення інтенсивності формування хрящової тканини у зоні дефекту. Водночас порівняно з 28-ю добою зафіксовано підвищення в 1,41 раза ($p = 0,008$) концентрації хондроїтинсульфатів, що може бути наслідком продовження реакції організму на механічне ураження та стимуляцію репаративного процесу.

У 12-місячних щурів з алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові, після 1, 2 або 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові не виявлено відмінностей порівняно з групою Алоімплантат без *ін'єкцій* ФР та 3-місячними щурами. Після 1 *ін'єкції* факторів росту плазми крові виявлено підвищення активності лужної фосфатази в 1,20 раза ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою та в 1,33 раза ($p = 0,008$) – з 28-ю добою. Водночас після 2 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові активність лужної фосфатази знизилася в 1,71 раза ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою. Після 3 *ін'єкцій* факторів росту плазми крові показано підвищення в 1,41 раза ($p = 0,008$) рівня глікопротеїнів у сироватці крові стимульованих щурів та активності лужної фосфатази – в 1,25 раза ($p = 0,008$) (табл. 6.8).

6.6.4 Розрахункові біохімічні показники мінералізації

14 доба спостереження

Група Алоімплантат

У 3-місячних щурів зазначений показник *ступеня мінералізації* після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові не відрізнявся від групи Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.9). Величина співвідношення активності лужної до кислої фосфатаз у разі 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові достовірно перевищувала показники групи Алоімплантат в 1,62 раза і в 1,29 раза ($p = 0,008$) відповідно.

У 12-місячних щурів з алоімплантатами після 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові виявлено меншу в 1,28 і 1,27 раза ($p = 0,008$) величину співвідношення лужної та кислої фосфатаз відповідно порівняно з 3-місячними щурами, що свідчить про менші репаративні потенції у кістковій тканині і більшу спроможність її до резорбції.

За умов 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові у 12-місячних щурів встановлено вищий в 1,33 раза ($p = 0,008$) показник співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл.6.9), що є ознакою активації процесів загоєння кісткового дефекту саме кістковою тканиною.

Група Алоімплантат+МСК

У 3-місячних щурів після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові виявлено менший ступінь мінералізації в 1,08 раза ($p = 0,008$), 1,13 раза ($p = 0,008$) та 1,10 раза порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР. Також встановлено зниження величини співвідношення між активністю лужної та кислої фосфатаз в 1,34 раза ($p = 0,008$), 1,50 раза ($p = 0,008$) та 1,47 раза ($p = 0,008$) після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові відповідно порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.9), що свідчить про переважання у кістковій тканині катаболічних процесів над анаболічними.

Таблиця 6.9 — Співвідношення активності лужної до активності кислої фосфатази, а також ступінь мінералізації у щурів різного віку після моделювання дефекту критичного розміру в метафізі стегнової кістки щурів з використанням алогенних кісткових імплантатів та різних стимуляторів формування кісткової тканини (Me, (25 %; 75 %))

Показник	1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Група Алоімплантат						
14 доба						
ступінь мінералізації	1,29 (1,14; 1,46) · 10 ⁻³ p ₂ = 0,116	1,26 (1,10; 1,43) · 10 ⁻³ p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,116	1,27 (1,15; 1,41) · 10 ⁻³ p ₂ = 0,256	1,48 (1,20; 1,65) · 10 ⁻³ p ₁ = 0,348 p ₂ = 0,956	1,39 (1,22; 1,51) · 10 ⁻³ p ₂ = 0,956	1,31 (1,20; 1,48) · 10 ⁻³ p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,856
активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	18,54 (17,96; 19,37) p ₂ = 0,008	19,09 (17,75; 21,12) p ₁ = 0,256 p ₂ = 0,008	17,08 (15,19; 17,68) p ₂ = 0,008	13,46 (12,61; 14,98) p ₁ = 0,008 p ₂ = 0,116	13,48 (12,26; 14,15) p ₂ = 0,856	10,55 (9,39; 11,37) p ₁ = 0,008 p ₂ = 1,000

Продовження табл. 6.9

1	2	3	4	5	6	7
28 доба						
ступінь мінералізації	1,33 (1,18; 1,45) · 10 ⁻³ p ₂ = 0,856 p ₃ = 0,956	1,36 (1,23; 1,43) · 10 ⁻³ p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,956 p ₃ = 0,856	1,42 (1,34; 1,53) · 10 ⁻³ p ₂ = 1,000 p ₃ = 0,256	1,35 (1,29; 1,46) · 10 ⁻³ p ₁ = 0,856 p ₂ = 0,956 p ₃ = 0,656	1,30 (1,18; 1,47) · 10 ⁻³ p ₂ = 0,116 p ₃ = 0,856	1,29 (1,14; 1,32) p ₁ = 1,000 p ₂ = 0,008 p ₃ = 0,956
активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	14,01 (13,12; 15,23) p ₂ = 0,046 p ₃ = 0,008	11,42 (10,29; 13,49) p ₁ = 0,046 p ₂ = 0,116 p ₃ = 0,008	11,98 (10,57; 14,01) p ₂ = 1,000 p ₃ = 0,008	12,58 (11,24; 14,05) p ₁ = 0,656 p ₂ = 1,000 p ₃ = 0,256	13,21 (12,14; 14,89) p ₂ = 0,856 p ₃ = 0,965	13,21 (12,76; 14,18) p ₁ = 1,000 p ₂ = 0,856 p ₃ = 0,256
90 доба						
ступінь мінералізації	1,18 (1,07; 1,24) · 10 ⁻³ p ₂ = 0,856 p ₃ = 0,856 p ₄ = 0,656	1,20 (1,12; 1,37) · 10 ⁻³ p ₁ = 1,000 p ₂ = 0,856 p ₃ = 0,956 p ₄ = 0,656	1,39 (1,24; 1,50) · 10 ⁻³ p ₂ = 1,000 p ₃ = 1,000 p ₄ = 0,956	1,35 (1,23; 1,48) · 10 ⁻³ p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,956 p ₃ = 0,856 p ₄ = 1,000	1,27 (1,15; 1,42) · 10 ⁻³ p ₂ = 0,956 p ₃ = 0,456 p ₄ = 0,956	1,21 (1,11; 1,37) · 10 ⁻³ p ₁ = 0,956 p ₂ = 0,956 p ₃ = 0,856 p ₄ = 0,956

Продовження табл. 6.9

1	2	3	4	5	6	7
активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	14,98 (13,83; 16,28) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,956$	12,67 (11,36; 14,29) $p_1 = 0,056$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,016$ $p_4 = 0,956$	14,82 (13,06; 16,34) $p_2 = 0,056$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,856$	11,13 (10,84; 13,01) $p_1 = 0,046$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,456$ $p_4 = 0,956$	11,88 (10,48; 13,02) $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,656$	9,50 (8,26; 10,53) $p_1 = 0,046$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,456$ $p_4 = 0,008$
Група Алоімплантат + МСК						
14 доба						
ступінь мінералізації	1,29 (1,16; 1,35) · 10 ⁻³ $p_2 = 0,256$	1,30 (1,12; 1,40) · 10 ⁻³ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,256$	1,27 (1,10; 1,43) · 10 ⁻³ $p_2 = 0,008$	1,21 (1,11; 1,32) · 10 ⁻³ $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$	1,32 (1,20; 1,46) · 10 ⁻³ $p_2 = 0,008$	1,28 (1,16; 1,45) · 10 ⁻³ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,856$
активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	7,89 (7,44; 8,37) $p_2 = 0,008$	7,03 (6,73; 7,42) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,008$	7,05 (6,71; 7,48) $p_2 = 0,008$	6,57 (6,07; 7,96) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,008$	7,17 (6,84; 7,65) $p_2 = 0,008$	7,35 (7,13; 7,89) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,008$

Продовження табл. 6.9

1	2	3	4	5	6	7		
28 доба								
ступінь мінералізації	1,41 $(1,30; 1,55) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,856$	1,38 $(1,24; 1,52) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,856$	1,27 $(1,16; 1,41) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,865$ $p_3 = 1,000$	1,35 $(1,29; 1,52) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,656$ $p_3 = 0,856$	1,29 $(1,15; 1,40) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 1,000$	1,35 $(1,23; 1,46) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,865$ $p_3 = 0,986$		
	активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	8,36 $(8,04; 8,76)$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$	7,47 $(7,18; 7,84)$ $p_1 = 0,008$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$	6,63 $(6,36; 6,92)$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$	7,19 $(6,87; 7,37)$ $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,256$	5,95 $(5,44; 6,27)$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	6,28 $(5,91; 6,47)$ $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	
		90 доба						
		ступінь мінералізації	1,32 $(1,20; 1,43) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,956$ $p_4 = 0,856$	1,32 $(1,23; 1,41) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,656$ $p_3 = 0,956$ $p_4 = 0,856$	1,21 $(1,12; 1,34) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,256$	1,34 $(1,23; 1,45) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 1,000$	1,21 $(1,11; 1,40) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,856$	1,23 $(1,16; 1,37) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,656$

Продовження табл. 6.9

1	2	3	4	5	6	7
активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	5,00	6,07	4,36	5,23	4,90	5,32
	(4,61; 6,52)	(5,77; 6,73)	(4,04; 4,68)	(4,95; 5,59)	(4,66; 5,26)	(5,03; 5,75)
	p ₂ = 0,008	p ₁ = 0,008	p ₂ = 0,0086	p ₁ = 0,008	p ₂ = 0,008	p ₁ = 0,456
	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,008	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,008	p ₃ = 0,008	p ₂ = 0,008
	p ₄ = 0,008	p ₃ = 0,016	p ₄ = 0,008	p ₃ = 0,008	p ₄ = 0,008	p ₃ = 0,008
		p ₄ = 0,008		p ₄ = 0,008		p ₄ = 0,008
Група Алоімплантат + ФР						
14 доба						
ступінь мінералізації	1,43	1,36	1,31	1,32	1,43	1,45
	(1,31; 1,55) · 10 ⁻³	(1,24; 1,43) · 10 ⁻³	(1,23; 1,43) · 10 ⁻³	(1,22; 1,43) · 10 ⁻³	(1,32; 1,54) · 10 ⁻³	(1,35; 1,56) · 10 ⁻³
	p ₂ = 1,000	p ₁ = 0,956	p ₂ = 0,856	p ₁ = 1,000	p ₂ = 1,000	p ₁ = 1,000
		p ₂ = 0,856		p ₂ = 0,856		p ₂ = 0,956
активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	18,54	14,58	19,38	19,48	13,16	14,02
	(13,67; 15,28)	(13,37; 15,87)	(17,54; 21,06)	(18,84; 20,36)	(11,30; 14,36)	(13,63; 14,48)
	p ₂ = 0,008	p ₁ = 1,000	p ₂ = 0,008	p ₁ = 1,000	p ₂ = 0,008	p ₁ = 0,256
		p ₂ = 0,008		p ₂ = 0,008		p ₂ = 1,000

Продовження табл. 6.9

1	2	3	4	5	6	7	
28 доба							
ступінь мінералізації	1,41 $(1,23; 1,52) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 1,000$	1,34 $(1,25; 1,45) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$	1,30 $(1,21; 1,38) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,656$ $p_3 = 1,000$	1,33 $(1,24; 1,45) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,656$ $p_3 = 1,000$	1,40 $(1,30; 1,48) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 1,000$	1,38 $(1,29; 1,51) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,856$	
	активність лужної фосфатази/кислої фосфатази	19,61 $(18,85; 19,87)$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,008$	19,22 $(18,76; 19,76)$ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	20,76 $(19,83; 21,59)$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,256$	20,59 $(19,02; 20,94)$ $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,116$	14,09 $(13,12; 14,76)$ $p_2 = 0,678$ $p_3 = 0,456$	14,20 $(14,20; 15,49)$ $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,956$
	90 доба						
ступінь мінералізації	1,21 $(1,14; 1,31) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,256$ $p_4 = 0,455$	1,17 $(1,06; 1,24) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,008$ $p_4 = 0,008$	1,31 $(1,23; 1,43) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 1,000$	1,42 $(1,34; 1,57) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 0,456$ $p_4 = 0,656$	1,41 $(1,35; 1,56) \cdot 10^{-3}$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 1,000$	1,42 $(1,37; 1,54) \cdot 10^{-3}$ $p_1 = 1,000$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 0,956$	

Продовження табл. 6.9

1	2	3	4	5	6	7
	15,58	16,61	14,17	16,24	13,97	14,15
активність	(15,02; 16,09)	(16,05; 17,04)	(13,68; 14,72)	(15,67; 16,95)	(13,27; 14,48)	(13,87; 14,74)
лужної	$p_2 = 0,008$	$p_1 = 0,956$	$p_2 = 0,008$	$p_1 = 0,856$	$p_2 = 0,008$	$p_1 = 0,956$
фосфатази/кислої	$p_3 = 0,008$	$p_2 = 0,008$	$p_3 = 0,008$	$p_2 = 0,008$	$p_3 = 0,956$	$p_2 = 0,008$
фосфатази	$p_4 = 0,008$	$p_3 = 0,456$	$p_4 = 0,008$	$p_3 = 0,008$	$p_4 = 0,856$	$p_3 = 0,956$
		$p_4 = 0,008$		$p_4 = 0,008$		$p_4 = 0,256$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників у щурів різного віку однакових умов впливу на однаковий термін дослідження.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників щурів одного віку на однаковий термін дослідження з групою з алоімплантатом без ін'єкцій факторів росту плазми крові (див. табл. 3.2).

Примітка 3. p_3 – порівняння показників щурів одного віку та типу дефекту з показниками на 14-у добу дослідження.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників щурів одного віку та типу дефекту з показниками на 28-у добу дослідження.

У 12-місячних щурів визначено менший ступінь мінералізації в 1,09 разів ($p = 0,008$), у 1,17 разів ($p = 0,008$) та у 1,10 разів ($p = 0,008$) після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові порівняно з Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.9). Також зафіксовано нижче значення співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз у сироватці крові в 1,78 разів ($p = 0,008$), 1,85 разів ($p = 0,008$) та в 2,10 разів ($p = 0,008$) після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові відповідно порівняно з Алоімплантат без ін'єкцій ФР.

Група Алоімплантат + ФР

У 3-місячних щурів, з заповненням дефекту алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові, після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові за рахунок більш високої активності лужної фосфатази та низької активності кислої фосфатази спостерігалася вищий показник співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз в 1,77 разів ($p = 0,008$), в 1,85 разів, в 1,26 разів відповідно порівняно з групою Алотрансплантат без ін'єкцій ФР.

У 12-місячних щурів із алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР зафіксовано вищий показник співвідношенням активності лужної та кислої фосфатаз в 1,29 разів і в 1,36 разів ($p = 0,008$) відповідно. У 12-місячних щурів встановлено меншу здатність реагувати стимуляційні впливи і більшу ригідність досліджуваних показників обміну сполучної тканини.

28 доба спостереження

Група Алоімплантат

У 3-місячних щурів після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові додаткової локальної стимуляції зафіксовано в 1,32 разів ($p = 0,008$) менший рівень співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз порівняно з показниками 14-ї доби експерименту та після дворазової стимуляції — в 1,43 разів ($p = 0,008$).

У 12-місячних щурів після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові встановлено достовірне зменшення рівня відношення активності лужної до кислої фосфатаз в 1,67 раза ($p = 0,008$). Зазначене свідчить про поступове спадання активності формування кісткової тканини на 28-у добу у щурів із алоімплантатами без додаткової стимуляції незалежно від віку.

Група Алоімплантат + МСК

У 3-місячних щурів із алоімплантатами, збагаченими МСК, після після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові на 28-у добу виявлено вищі показники співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз в 1,69 раза ($p = 0,008$), в 2,13 раза ($p = 0,008$) та в 2,34 раза ($p = 0,008$) відповідно порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР. А також менший показник співвідношення лужної та кислої фосфатаз після 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові в 1,21 раза ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою. Виявлене свідчить про низьку активність репарації кісткової тканини за умов заповнення дефекту стегнової кістки критичного розміру алоімплантатами разом з МСК.

У 12-місячних щурів із алоімплантатами, збагаченими МСК, після 1 ін'єкції факторів росту плазми крові показано в 1,12 раза ($p = 0,008$) нижче значення співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз порівняно з 3-місячними щурами (табл. 6.9), та після 3 ін'єкцій - нижче в 1,17 раза ($p = 0,008$) – порівняно з 14-ю добою. Також спостерігалися нижчі значення співвідношення активності лужної та кислої фосфатази в 1,78 раза ($p = 0,008$), в 1,85 раза ($p = 0,008$) та в 2,12 раза після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові відповідно порівняно з групою Алотрансплантат без ін'єкцій ФР.

Використання алоімплантатів, насичених МСК, мало негативний вплив на виразність маркерів метаболізму кісткової тканини, особливо у 12-місячних щурів, що може відображати пригнічення швидкості повноцінного загоєння кістковою тканиною зони дефекту.

Алоімплантат + ФР

У 3-місячних щурів із алоімплантатами, насиченими факторами росту

плазми крові, *1 або 2 ін'єкцій* факторів росту плазми крові на 28-у добу спостерігалось вищий показник співвідношення активності лужної та кислої фосфатази в 1,39 рази ($p = 0,008$) та в 1,47 рази ($p = 0,008$), а у *12-місячних щурів* – в 1,45 рази ($p = 0,008$), в 1,55 рази ($p = 0,008$) та в 1,07 рази відповідно порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.9). Вказані співвідношення показників аналізованої групи є характерним для високої активності формування кісткової тканини і загоєння зони дефекту у стегновій кістці повноцінною кістковою тканиною.

90 доба спостереження

Група Алоімплантат

У *3-місячних щурів* на 90-ту добу після *3 ін'єкцій* факторів росту плазми крові встановлено вищий в 1,42 рази ($p = 0,008$) показник співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР, але нижчий в 1,23 рази ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою після *1 ін'єкції факторів росту плазми крові* (табл. 6.9).

У *12-місячних щурів* з алоімплантатами після *3 ін'єкцій* факторів росту плазми крові виявлено в 1,39 разів ($p = 0,008$) нижчий показник співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз порівняно з 28-ю добою. Отримані результати демонструють вірогідне закінчення активних репаративних процесів у кістковій тканині щурів на 90-ту добу і необхідність сильнішої додаткової стимуляції для повноцінного загоєння дефекту кістки.

Група Алоімплантат + МСК

У *3-місячних щурів* з алоімплантатами, насиченими МСК, після *1, 2 або 3 ін'єкцій* факторів росту плазми крові зафіксовано нижчі значення в 2,10 рази ($p = 0,008$), в 2,41 рази ($p = 0,008$) та в 2,14 рази співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз відповідно порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.9). Порівняно з 14-ю добою зазначені показники були нижчими в 1,58 рази ($p = 0,008$), в 1,62 рази ($p = 0,008$) та в 1,46 рази після *1, 2 або 3 ін'єкцій* факторів росту плазми крові відповідно, а порівняно з 28-ю добою: в 1,67 рази ($p = 0,008$), в 1,52 рази ($p = 0,008$) та в

1,21 раза ($p = 0,008$) відповідно (табл. 6.9).

У 12-місячних щурів з алоімплантатами, насиченими МСК, показник співвідношенням активності лужної та кислої фосфатаз був вищим в 1,20 раза ($p = 0,008$) порівняно з 3-місячними щурами лише після 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові, а для інших варіантів відмінностей не виявлено. Порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР зазначений показник був нижчим в 1,82 раза ($p = 0,008$), в 2,12 раза ($p = 0,008$) та в 2,08 раза відповідно після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові. Порівняно з 14-ю добою зазначені показники були нижчими в 1,16 раза ($p = 0,008$), в 1,26 раза ($p = 0,008$) та в 1,38 раза ($p = 0,008$) відповідно після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові, а порівняно з 28-ю добою: в 1,23 раза ($p = 0,008$), в 1,38 раза ($p = 0,008$) та в 1,18 раза ($p = 0,008$) відповідно (табл. 6.9).

Отже використання МСК у якості стимулювання формування кісткової тканини у зоні дефекту показало свою невідповідність задачам. Значення біохімічних маркерів формування кісткової тканини в умовах використання МСК є характерними для повільного неповноцінного загоєння дефекту кістки з більшим проявом у 12-місячних щурів.

Група Алоімплантат + ФР

У 3-місячних щурів на 90-ту добу із алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові, після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові показник співвідношення лужної та кислої фосфатаз був вищим в 1,49 раза ($p = 0,008$), в 1,35 раза ($p = 0,008$) та в 1,33 раза ($p = 0,008$) відповідно порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР (табл. 6.9). Порівняно з 14-ю та 28-ю добами після 2 ін'єкцій зазначені показники були нижчими в 1,37 раза ($p = 0,008$) та в 1,47 раза ($p = 0,008$) відповідно (табл. 6.9), що може свідчити про поступове зниження активності формування кісткової тканини у щурів, зокрема і в зоні дефекту. А після 1 ін'єкції також зафіксовано менші значення співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз в 1,14 раза ($p = 0,008$) та в 1,16 раза ($p = 0,008$) порівняно з

14-ю та 28-ю добами відповідно. Отже *1 ін'єкція* факторів росту плазми крові викликала кращі результати, оскільки введення стимулюючого агенту припадало на фазу регенерації кістки, коли кісткова тканина більш чутлива для такого впливу і сильніше реагує на дію факторів росту плазми крові. Окрім того, на 14-у та 28-у добу зафіксовано прояв запального процесу, що частково пригнічувало повноцінне загоєння дефекту і унеможливило весь прояв стимулюючого агенту.

У *12-місячних щурів* порівняно з групою Алоімплантат без ін'єкцій ФР виявлено вищі зазначені показники в 1,50 разів ($p = 0,008$), в 1,47 разів ($p = 0,008$) та в 1,28 разів ($p = 0,008$) після *1, 2 або 3 ін'єкцій* факторів росту плазми крові відповідно (табл. 6.9). Після *1 ін'єкції* виявлено низькі значення ступеню мінералізації в 1,19 разів ($p = 0,046$) та в 1,26 разів ($p = 0,022$) порівняно з 14-ю добу та 28-ю добами відповідно (табл. 6.9). Також після *1 ін'єкції* встановлено вищий показник співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз в 1,14 разів ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю добою, але нижчий в 1,16 разів порівняно з 28-ю добою ($p = 0,008$) (табл. 6.9). А після *2 ін'єкцій* виявлено нижчий показник співвідношення активності лужної та кислої фосфатаз в 1,14 разів ($p = 0,008$) та в 1,21 разів ($p = 0,008$) порівняно з 14-ю та 28-ю добами відповідно (табл. 6.9). Це свідчить про швидшу активацію загоєння дефекту порівняно з 3-місячними щурами, але й швидше зниження її активності.

6.6.5 Зміни вмісту остеокальцину в сироватці крові

14-а доба спостереження

Група Алоімплантат + МСК

У *3-місячних щурів* введенням алоімплантатів, насичених МСК, після *1, 2 або 3 ін'єкцій* факторів росту плазми крові вміст остеокальцину був більшим в 1,71 разів, в 1,67 разів, в 1,54 разів; ($p = 0,008$), а у *12-місячних щурів* - в 1,82 разів, в 1,79 разів; в 1,56 разів ($p = 0,008$) відповідно порівняно з групою Алоімплантат (табл. 6.10).

Таблиця 6.10 — Вміст остеокальцину у сироватці крові щурів різного віку після моделювання дефекту в метафізі стегнової кістки з використанням алогенних кісткових імплантатів та різних стимуляторів формування кісткової тканини (Me, (25 %; 75 %))

1 ін'єкція		2 ін'єкції		3 ін'єкції	
3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури	3-місячні щури	12-місячні щури
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>
Група Алоімплантат					
14 доба					
250,9 (231,7; 274,1) $p_2 = 0,046$	231,1 (208,8; 248,9) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,046$	235,6 (213,7; 257,1) $p_2 = 0,056$	218,1 (199,8; 234,9) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,045$	216,7 (193,2; 231,1) $p_2 = 0,856$	190,7 (173,5; 217,9) $p_1 = 0,456$ $p_2 = 0,956$
28 доба					
317,6 (296,5; 332,3) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	291,1 (275,3; 319,2) $p_1 = 0,865$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	305,7 (286,5; 317,3) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	275,6 (255,3; 299,2) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	246,9 (226,5; 267,3) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,116$	233,8 (215,3; 259,2) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,956$ $p_3 = 0,116$

Продовження табл. 6.10

1	2	3	4	5	6
90 доба					
280,6 (261,3; 302,7) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,656$	267,9 (242,5; 288,8) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,956$ $p_4 = 0,256$	275,6 (251,9; 297,8) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,656$	259,7 (231,5; 279,2) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,116$ $p_3 = 0,116$ $p_4 = 0,656$	254,5 (233,8; 284,6) $p_2 = 0,656$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 0,856$	231,3 (216,8; 253,7) $p_1 = 0,256$ $p_2 = 0,656$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,856$
група Алоїмплантат + МСК					
14 доба					
342,6 (316,7; 361,7) $p_2 = 0,008$	331,8 (317,2; 355,4) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$	335,8 (306,7; 351,7) $p_2 = 0,008$	326,8 (296,7; 341,7) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$	307,5 (286,7; 321,7) $p_2 = 0,008$	285,5 (263,3; 302,4) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$
28 доба					
345,9 (322,7; 362,3) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$	320,5 (301,5; 345,2) $p_1 = 0,656$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,956$	337,3 (316,3; 355,4) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$	309,8 (284,2; 323,8) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,956$	310,2 (290,3; 324,9) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$	290,3 (266,9; 307,8) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 1,000$

Продовження табл. 6.10

1	2	3	4	5	6
90 доба					
265,9 (225,7; 299,6) $p_2 = 0,865$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 0,865$	243,4 (206,8; 291,6) $p_1 = 0,656$ $p_2 = 0,656$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 0,865$	247,8 (211,0; 293,4) $p_2 = 1,000$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 1,000$	221,5 (195,2; 265,7) $p_1 = 0,656$ $p_2 = 0,856$ $p_3 = 1,000$ $p_4 = 0,865$	214,8 (209,9; 246,2) $p_2 = 0,456$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 1,000$	192,1 (171,0; 232,6) $p_1 = 0,656$ $p_2 = 0,256$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 1,000$
група Алоімплантат + ФР					
14 доба					
372,8 (356,7; 395,4) $p_2 = 0,008$	355,2 (342,7; 374,2) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,008$	365,4 (343,4; 390,1) $p_2 = 0,008$	342,0 (321,2; 365,6) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,008$	348,9 (315,0; 371,3) $p_2 = 0,008$	325,6 (301,5; 346,3) $p_1 = 0,116$ $p_2 = 0,008$
28 доба					
478,9 (455,0; 499,4) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,016$	421,3 (401,5; 446,3) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,008$	455,0 (335,0; 471,3) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,016$	418,7 (381,5; 436,3) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,016$	405,2 (375,0; 421,3) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,016$	388,2 (361,5; 416,3) $p_1 = 0,856$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,016$

Продовження табл. 6.10

1	2	3	4	5	6
90 доба					
408,9 (382,5; 424,7) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 0,008$	384,2 (362,7; 405,6) $p_1 = 0,965$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 0,116$	394,3 (375,2; 423,5) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,865$ $p_4 = 0,256$	372,5 (352,6; 399,0) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,656$ $p_4 = 0,456$	367,0 (347,6; 392,5) $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,116$	343,8 (322,8; 366,4) $p_1 = 0,956$ $p_2 = 0,008$ $p_3 = 0,856$ $p_4 = 0,256$

Примітка 1. p_1 – порівняння показників у щурів різного віку однакових умов впливу на однаковий термін після втручання.

Примітка 2. p_2 – порівняння показників щурів одного віку на однаковий термін після втручання з групою Алоімплантат.

Примітка 3. p_3 – порівняння показників щурів з 14-ю добою дослідження.

Примітка 4. p_4 – порівняння показників щурів з 28-ю добою дослідження

Група Алоімплантат + ФР

У 3-місячних щурів з алоімплантатами насиченими ФР, після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові на 28-у добу зафіксовано підвищення вмісту остеокальцину у сироватці крові в 1,97 раз; в 1,83 раз; в 1,72 раз (p = 0,008), а у 12-місячних щурів - в 1,87 раз; в 1,86 раз; в 1,72 раз (p = 0,008) відповідно порівняно з групою Алоімплантат. Порівняно з 14-ю добою у 3-місячних щурів після 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові показано вище значення остеокальцину в сироватці крові в 1,93 раз; в 1,25 раз; в 1,16 раз (p = 0,016), а у 12-місячних щурів - в 1,72 раз; в 1,86 раз; в 1,87 раз (p = 0,016) відповідно (табл. 6.10).

90-а доба спостереження

Група Алоімплантат

У 3-місячних щурів достовірних відмінностей за вмістом остеокальцину із групами порівняння не виявлено. Вміст остеокальцину у 12-місячних щурів з алоімплантатами та ін'єкціями факторів росту плазми крові не відрізнявся порівняно з 3-місячними щурами.

Група Алоімплантат + МСК

У 3-місячних та 12-місячних щурів, які отримували в якості лікування алоімплантати, насичені МСК, та ін'єкції факторів росту плазми крові не зафіксовано відмінностей порівняно з 14-ю та 28-ю добами, результатами у 3-місячних щурів і групою Алоімплантат.

Група Алоімплантат + ФР

У 3-місячних щурів, лікованих алоімплантатом, насиченим факторами росту 1, 2 або 3 ін'єкцій факторів росту плазми крові зафіксовано вищий рівень остеокальцину в 1,90 раз (p = 0,008), в 1,83 раз (p = 0,008) та в 1,70 раз (p = 0,008), а у 12-місячних щурів - в 1,88 раз (p = 0,008), в 1,83 раз (p = 0,008) та в 1,69 раз (p = 0,008) відповідно порівняно з групою Алоімплантат (табл. 6.10).

Найбільше підвищення вмісту остеокальцину - позитивного маркера формування кісткової тканини, зафіксовано у групі з алоімплантатом,

насиченим факторами росту плазми крові, та 1 ін'єкцією. Це свідчить про найбільшу активність даного режиму лікування серед досліджених.

Таким чином проведено порівняльне біохімічне дослідження показників метаболізму сполучної тканини сироватки крові у щурів із дефектом критичного розміру у метафізі стегнової кістки та лікуванням шляхом заповнення зони дефекту алоімплантатами, алоімплантатами+МСК і алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові, із подальшою додатковою локальною стимуляцією ін'єкційним введенням факторів росту плазми крові поблизу від зони дефекту через 1, 3 і 7 діб після операції.

У групі Алоімплантат зафіксовано помірну метаболічну активність із максимумом на 28-му добу досліду з паралельним збільшенням вираженості маркерів запалення, виявлялося підвищення маркерів формування кісткової і хрящової тканини.

У групі Алоімплантат+МСК із додатковою локальною стимуляцією виявлено різке підвищення маркерів запалення, низький рівень маркерів формування кісткової тканини, а також вищий рівень маркерів формування хрящової тканини на всі терміни дослідження, що свідчить про низьку інтенсивність загоєння зони дефекту переважно сполучною та хрящовою тканиною із пригніченням формування нової кісткової тканини.

У групі Алоімплантат+ФР із подальшою локальною ін'єкційною стимуляцією тими самими факторами росту плазми крові визначено активацію формування кісткової тканини, про що свідчить вищий рівень маркерів формування кістки та незначне підвищення маркерів формування хрящової тканини на фоні незначної маніфестації маркерів запальних процесів.

У 12-місячних щурів порівняно з 3-місячними показано меншу пластичність метаболізму сполучної тканини, що відображалося у менших змінах біохімічних показників під впливом локальної стимуляції факторами росту плазми крові,. У 3-місячних щурів головні зміни інтенсивності формування кістки мали місце після 2 ін'єкцій факторів росту плазми крові і

третє введення іноді не призводило до істотних змін рівня біохімічних маркерів формування кісткової тканини.

На основі результатів біохімічного дослідження маркерів формування кісткової, хрящової тканини, запальних процесів, слід зазначити, що серед досліджених режимів лікування дефектів критичного розміру у стегновій кістці щурів найбільшу ефективність показало заповнення її алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові. Додаткове локальне стимулювання на 1-й добі після операцій чинило в цій групі нейтральний вплив на процес загоєння зони дефекту, а на 3-й і 7-й (2 ін'єкції) — позитивний.

ВИСНОВКИ

1 Використання для пластики дефектів критичного розміру кісткових алоімплантатів сприяє утворенню кісткової тканини та збереженню анатомічної будови кістки незалежно від віку реципієнта. Але повної перебудови алоімплантатів не відбувається, а структура та мінеральна щільність сформованої кістки відрізняється від нормальної з більшим проявом у реципієнтів старшого віку. Підвищений рівень хондроїтинсульфатів та зниження активності лужної фосфатази у 12-місячних щурів через 14 діб після операції порівняно із 3-місячними відображує більший вміст у регенераті сполучної тканини та уповільнення процесів кісткоутворення. Через 90 діб після операції сформований кірковий шар у 3-місячних щурів був нерівномірної товщини, у 12-місячних – містив осередки сполучної тканини. Усе зазначене негативно відбивається на механічних якостях кістки та може спричинити повторний перелом.

2 На підставі вивчення гістологічних і метаболічних особливостей визначено, що введення МСК разом із алотрансплантатом відразу після травматичного ушкодження кістки спричинює уповільнення кісткоутворення незалежно від віку реципієнта та надлишкове формування сполучної тканини через 14 і 28 діб після операції, а в молодших щурів – і через 90 діб. Тому комбінацію алогенних МСК із алогенним кістковим імплантатом недоцільно використовувати на ранніх стадіях репаративного остеогенезу (у випадках свіжих травматичних ушкоджень кісток) без додаткової стимуляції та застосування імуносупресорів.

3 За допомогою імуноферментного аналізу доведено, що концентрацію фактору росту ендотелію судин (VEGF), трансформувального фактору росту β (TGF- β) і тромбоцитарного фактору росту (PDGF), які сприяють прискоренню ангіогенезу, міграції та проліферації клітин, в плазмі крові можна регулювати. Визначено режим центрифугування для отримання більшого вмісту зазначених факторів для оптимізації ранніх стадій репаративного остеогенезу.

4 Установлено, що пластика критичних дефектів кістки алоімплантатами, насиченими факторами росту плазми крові, сприяє скорішій їхній перебудові (порівняно з серією експерименту, де за остеопластичний матеріал використано лише алоімплантат) зі заміщенням на 90-ту добу кістковою тканиною пластинчастої структури незалежно від віку реципієнта. Проте надлишкове утворення сполучної тканини в ділянці дефекту через 14 і 28 діб (з найбільшим проявом у молодших тварин) може негативно позначитися на механічних властивостях кістки, що слід враховувати в клінічних умовах.

5 Визначено, що локальне введення факторів росту через 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата (1 ін'єкція) може бути рекомендовано для клінічного застосування, оскільки призводить у молодших реципієнтів до скорішої перебудови алоімплантата починаючи з 28-доби до повного заміщення кістковою тканиною пластинчастої структури на 90-у добу, водночас у старших - зменшення площі алоімплантата зафіксовано на 90-ту добу порівняно з групою Алоімплантат відповідного віку. Локальне введення факторів росту через 3 та 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата (2 ін'єкції) або 1, 3 та 7 діб (3 ін'єкції) призвело до надмірного утворення сполучної тканини на всіх термінах спостереження в дефектах щурів обох вікових груп. При цьому не відбулося покращення перебігу процесу утворення кісткової тканини. Відповідно, такий режим введення факторів росту плазми крові в післяопераційному періоді після встановлення алоімплантата є недоцільним.

6 У результаті виконання морфометричних, біохімічних і денситометричних досліджень доведено, що локальне введення факторів росту через 7 діб після операції зі встановлення алоімплантата (1 ін'єкція), насиченого факторами росту, сприяє скорішій його перебудові починаючи з 28-доби (порівняно з групою Алоімплантат) з повним заміщенням кістковою тканиною пластинчастої структури на 90-ту добу (скоріша перебудова порівняно з групами Алоімплантат і Алоімплантат+ФР) на 90-ту добу в

молодших реципієнтів та прискоренню кісткоутворення та реорганізації кісткового регенерату – в старших і може бути рекомендовано для використання в клінічних умовах. Режими введення факторів росту плазми крові через 1, 3 та 7 діб (3 ін'єкції) або 3 та 7 діб (2 ін'єкції) у післяопераційному періоді після встановлення алоімплантата+ФР є недоцільним.

7 Доведено, що відносні площі сполучної тканини за умов використання алогенних кісткових імплантатів із МСК (незважаючи на додаткове введення факторів росту плазми крові в післяопераційному періоді) у щурів обох вікових груп були більшими, ніж у разі застосування алоімплантатів окремо або з додатковим введенням факторів росту. Оптимізації репаративного остеогенезу не встановлено. Зазначене робить недоцільним використання комбінації алогенних МСК із алогенним кістковим імплантатом (навіть за умов стимуляції за допомогою локального введення факторів росту плазми крові в післяопераційному періоді) на ранніх стадіях репаративного остеогенезу та без застосування osteoіндукції клітин під час культивування або імуносупресорів.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАНЬ

1. Kazmirchuk A. Ukraine's Experience with Management of Combat Casualties Using NATO's Four-Tier «Changing as Needed» Healthcare System / A. Kazmirchuk, Y. Yarmoliuk, I. Lurin [et al.] // *World J. Surg.* — 2022. — Vol. 46 (12). — P. 2858–2862. <https://doi.org/10.1007/s00268-022-06718-3>
2. Holt E. Ukraine invasion: 6 months on / E. Holt // *Lancet* (London, England). — 2022. — Vol. 400 (10353). — P. 649–650. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)01635-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01635-X)
3. The role stem cells fracture healing and nonunion / C. H. Fayaz, P. V. Giannoudis, M. S. Vrahas [et al.] // *International Orthopaedics (SICOT)*. — 2011. — Vol. 35. — P. 1586–1597. — <https://doi.org/10.1007/s00264-011-1338-z>
4. Tibia shaft fractures: Costly burden of nonunions / E. Antonova, T. K. Le, R. Burge, J. Mershon // *BMC Musculoskelet Disord.* — 2013. — Vol. 14. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-14-42>.
5. Литвишко В. О. Закономірності утворення кісткового регенерату після діафізарного перелому за умов функціонального лікування з використанням пружно-стійкого з'єднання відламків : дис. ... д-ра мед. наук; 14.01.21 – травматологія та ортопедія / В. О. Литвишко. – Харків, 2018. — 351 с.
6. Profiles of Ageing 2017. World / United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division [Online source]. – 2017. —
— Retrieved from <https://population.un.org/ProfilesOfAgeing2017/index.html>
7. Bone Grafts and Substitutes Market Size, Share & Trends Analysis Report By Material Type (Natural, Synthetic), By Application Type (Spinal Fusion, Craniomaxillofacial, Long Bone), By Region, And Segment Forecasts, 2018 – 2025. [Online source] – 2018. – Retrieved from <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/bone-grafts->

substitutes-market

8. ISASS recommendations and coverage criteria for bone graft substitutes used in spinal surgery / C. Abjornson, A. Breceovich, T. Callanan et al. // *Int J Spine Surg.* – 2018. – Vol. 12. – P. 757–71. <https://doi.org/10.14444/5095>.
9. Histological comparison of an allograft, a xenograft and alloplastic graft as bone substitute materials / C. E. Nappe, A. B. Rezac, A. Montecinos [et al.] // *Journal of Osseointegration.* – 2016. – Vol. 8 (2). – P. 20–26. – <https://doi.org/10.23805/jo.2016.08.02.02>.
10. Sohn H. S. Review of bone graft and bone substitutes with an emphasis on fracture surgeries / H. S. Sohn, J.K. Oh // *Biomater Res.* – 2019. – Vol. 23. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0157-y>.
11. Autograft, Allograft, and Bone Graft Substitutes: Clinical Evidence and Indications for Use in the Setting of Orthopaedic Trauma Surgery / P. Baldwin, D. J. Li, D. A. Auston [et al.] // *J Orthop Trauma.* – 2019. – Vol. 33. – P. 203–213. <https://doi.org/10.1097/BOT.0000000000001420>.
12. Cryopreserved bone allograft for the treatment of shoulder instability with glenoid defect / M.M. Abdelshahed, S.D. Shamah, S.A. Mahure [et al.] // *J Orthop.* – 2018. – Vol. 15. – P. 248–252. <https://doi.org/10.1016/j.jor.2018.01.053>.
13. Reconstructed the bone stock after femoral bone loss in Vancouver B3 periprosthetic femoral fractures using cortical strut allograft and impacted cancellous allograft / D. Li, Q. Hu, P. Kang [et al.] // *Int Orthop.* – 2018. – Vol. 42. – P. 2787–2795. <https://doi.org/10.1007/s00264-018-3997-5>.
14. Use of Locking Plate and Strut Onlay Allografts for Periprosthetic Fracture Around Well-Fixed Femoral Components / Y. H. Kim, S. A. Mansukhani, J. S. Kim, J. W. Park // *J Arthroplasty.* – 2017. – Vol. 32. – P. 166–170. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2016.05.064>.
15. Allograft cortical strut for reconstruction of space-occupying bone lesions / J. C. Tank, M. F. Vignos, R. J. Wetzel, S. D. Weiner // *Orthopedics.* – 2014. – Vol. 37. <https://doi.org/10.3928/01477447-20131219-19>.

16. Comparison of cortical ring allograft and plate fixation with autologous iliac bone graft for anterior cervical discectomy and fusion / J. C. Lee, H. D. Jang, J. Ahn [et al.] // *Asian Spine J.* – 2019. – Vol. 13. – P. 258–264. <https://doi.org/10.31616/ASJ.2018.0174>.
17. Bone remodeling after impacted cancellous allograft in revision hip arthroplasty based on ^{99m}Tc-MDP bone scintigraphy / T. Hisatome, Y. Yasunaga, K. Takahashi, M. Ochi // *Arch Orthop Trauma Surg.* – 2004. – Vol. 124. – P. 52–55. <https://doi.org/10.1007/s00402-003-0589-6>.
18. Cancellous allograft versus autologous bone grafting for repair of comminuted distal radius fractures: A prospective, randomized trial / G. P. Rajan, J. Fornaro, O. Trentz, R. Zellweger // *J Trauma – Inj Infect Crit Care.* – 2006. – Vol. 60. – P. 1322–1329. <https://doi.org/10.1097/01.ta.0000195977.18035.40>.
19. Bone allograft provides bone healing in the medial opening high tibial osteotomy / V. Santic, A. Tudor, B. Sestan [et al.] // *Int Orthop.* – 2010. – Vol. 34. – P. 225–229. <https://doi.org/10.1007/s00264-009-0916-9>.
20. Faster union rate and better clinical outcomes using autologous bone graft after medial opening wedge high tibial osteotomy / W. H. Jung, R. Takeuchi, D. H. Kim, R. Nag // *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* – 2020. – Vol. 28. – P. 1380–1387. <https://doi.org/10.1007/s00167-019-05463-w>.
21. Treatment of femoral head osteonecrosis (stages 2B, 3 ficat) through open direct core decompression by allograft impaction and light bulb technique / S. S. Brojeni, H. Hesarikia, A. Rahimnia [et al.] // *Arch Bone Jt Surg* 2020. – Vol. 8. – P. 613–619. <https://doi.org/10.22038/abjs.2020.49380.2452>.
22. Wheeler D. L. Allograft bone decreases in strength in vivo over time / D. L. Wheeler, W. F. Enneking // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 2005. – P. 36–42. <https://doi.org/10.1097/01.blo.0000165850.58583.50>.
23. Preservation of allograft bone using a glycerol solution: A compilation

- of original preclinical research / B. Samsell, D. Softic, X. Qin [et al.] // *Biomater Res.* – 2019. – Vol. 23. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0154-1>.
24. Evaluation of glycerol-preserved bone allografts in cervical spine fusion: A prospective, randomized controlled trial / R. S. Graham, B. J. Samsell, A. Proffer [et al.] // *J Neurosurg Spine.* – 2015. – Vol. 22. – P. 1–10. <https://doi.org/10.3171/2014.9.SPINE131005>.
25. Kayurapan A. Decreasing strength of bone allograft after recovery and preservation / A. Kayurapan, T. Aresanasuwan, S. Waikakul // *J Med Assoc Thai.* – 2009. – Vol. 92, Suppl.5. – P. 76–80.
26. Nguyen H. Sterilization of allograft bone: Effects of gamma irradiation on allograft biology and biomechanics / H. Nguyen, D. A. F. Morgan, M. R. Forwood // *Cell Tissue Bank.* – 2007. – Vol. 8. – P. 93–105. <https://doi.org/10.1007/s10561-006-9020-1>.
27. Effects of ex vivo ionizing radiation on collagen structure and whole-bone mechanical properties of mouse vertebrae / M. M. Pendleton, S. R. Emerzian, J. Liu [et al.] // *Bone.* – 2019. – Vol. 128. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115043>.
28. Gamma Radiation Sterilization Reduces the High-cycle Fatigue Life of Allograft Bone / A. Islam, K. Chapin, E. Moore [et al.] // *Clin Orthop Relat Res* 2016. – Vol. 474. – P. 827–835. <https://doi.org/10.1007/s11999-015-4589-y>.
29. Reducing the radiation sterilization dose improves mechanical and biological quality while retaining sterility assurance levels of bone allografts / Nguyen H, Cassady AI, Bennett MB [et al.] // *Bone* 2013. – Vol. 57. – P. 194–200. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2013.07.036>.
30. The effect of ribose pre-treatment of cortical bone on γ -irradiation sterilization effectiveness / T. Attia, J. Tupy, D. Asker, [et al.] // *Cell Tissue Bank.* – 2017. – Vol. 18. – P. 555–560. <https://doi.org/10.1007/s10561-017-9662-1>.

31. Synergetic effect of freeze-drying and gamma irradiation on the mechanical properties of human cancellous bone / O. Cornu, J. Boquet, O. Nonclercq [et al.] // *Cell Tissue Bank*. – 2011. – Vol. 12. – P. 281–288. <https://doi.org/10.1007/s10561-010-9209-1>.
32. Assessment of the Defatting Efficacy of Mechanical and Chemical Treatment for Allograft Cancellous Bone and Its Effects on Biomechanics Properties of Bone / Hua K Chi, Feng J Tao, Yang X Gang [et al.] // *Orthop Surg*. – 2020. – Vol. 12. – P. 617–630. <https://doi.org/10.1111/os.12639>.
33. Porcine bone grafts defatted by lipase: Efficacy of defatting and assessment of cytocompatibility / N. Zhang, M. Zhou, Y. Zhang [et al.] // *Cell Tissue Bank*. – 2014. – Vol. 15. – P. 357–367. <https://doi.org/10.1007/s10561-013-9391-z>.
34. Hu K. The roles of vascular endothelial growth factor in bone repair and regeneration / K. Hu, B. R. Olsen // *Bone*. – 2016. – Vol. 91. – P. 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2016.06.013>.
35. Crane J. L. Bone marrow mesenchymal stem cells and TGF- β signaling in bone remodeling / J. L. Crane, X. Cao // *J Clin Invest*. – 2014. – Vol. 124. – P. 466–472. <https://doi.org/10.1172/JCI70050>.
36. Попсуйшапка К. О. Визначення ролі збагаченого тромбоцитами фібрину в процесі регенерації дефекту тіла хребця (експериментальне дослідження) / К. О. Попсуйшапка, Н. О. Ашукіна, В. О. Радченко // *Ортопедия, травматология и протезирование*. – 2017. – № 3 (608). – С. 32–38. <https://doi.org/10.15674/0030-59872017332-38>.
37. Wang W. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect repair: A review / W. Wang, K. W. K. Yeung // *Bioact Mater*. – 2017. – Vol. 2. – P. 224–247. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.05.007>.
38. Шамардин В. В. Опыт применения а-PRF и i-PRF в повседневной практике врача-стоматолога на хирургическом амбулаторном приеме / В. В. Шамардин // *Главный врач Юга России*. – 2017. – № 55. – С. 27–28.

39. Comparison of platelet-rich fibrin (PRF) produced using 3 commercially available centrifuges at both high (~ 700 g) and low (~ 200 g) relative centrifugation forces / R. J. Miron, H. Xu, J. Chai [etal.] // *Clin Oral Investig.* – 2020. – Vol. 24. – P. 1171–1182. <https://doi.org/10.1007/s00784-019-02981-2>.
40. Reduction of relative centrifugal forces increases growth factor release within solid platelet-rich-fibrin (PRF)-based matrices: a proof of concept of LSCC (low speed centrifugation concept) / K. El Bagdadi, A. Kubesch, X. Yu [et al.] // *Eur J Trauma Emerg Surg.* – 2019. – Vol. 45. – P. 467–479. <https://doi.org/10.1007/s00068-017-0785-7>.
41. Platelet-rich fibrin increases the osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- κ B ligand ratio in osteoblasts / R. Sumida, T. Maeda, I. Kawahara, [et al.] // *Exp Ther Med.* – 2019. – Vol. 18. – P. 358–365 <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7560>.
42. Combination of an allogenic and a xenogenic bone substitute material with injectable platelet-rich fibrin – A comparative in vitro study / S. Kyyak, S. Blatt, A. Pabst [et al.] // *J Biomater Appl.* – 2020. – Vol. 35. – P. 83–96. <https://doi.org/10.1177/0885328220914407>.
43. Cytokine Expression Pattern and Protein-Protein interaction network analysis of Leucocyte Rich Platelet Rich Fibrin and Injectable Form of Platelet Rich Fibrin / S. Jasmine, A. Thangavelu, R. Krishnamoorthy [et al.] // *Oral Maxillofac Surg.* – 2020. <https://doi.org/10.1007/s10006-020-00899-8>.
44. Regenerative Wound Healing: The Role of Interleukin-10 / A. King, S. Balaji, L. D. Le [et al.] // *Adv Wound Care.* – 2014. – Vol. 3. – P. 315–323. <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0461>.
45. IL-4 impairs wound healing potential in the skin by repressing fibronectin expression / A. P. M. Serezani, G. Bozdogan, S. Sehra [et al.] // *J Allergy Clin Immunol.* – 2017. – Vol. 139. – P. 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.07.012>.

46. Le Goff B. IL-6 is a critical cytokine for inflammatory bone loss in rheumatoid arthritis / B. Le Goff, E. Romas, N. C. Walsh // *Int J Clin Rheumtol.* – 2010. – Vol. 5. – P. 609–612. <https://doi.org/10.2217/ijr.10.54>.
47. Anti-inflammation effects of injectable platelet-rich fibrin via macrophages and dendritic cells / J. Zhang, C. Yin, Q. Zhao [et al.] // *J Biomed Mater Res. Part A.* – 2020. – Vol. 108. – P. 61–68. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36792>.
48. Injectable platelet rich fibrin: cell content, morphological, and protein characterization / H. A. Varela, J. C. M. Souza, R. M. Nascimento [et al.] // *Clin Oral Investig.* – 2019. – Vol. 23. – P. 1309–1318. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2555-2>.
49. Influence of fractionation methods on physical and biological properties of injectable platelet-rich fibrin: An exploratory study / P. Thanasrisuebwong, R. Surarit, S. Bencharit, N. Ruangsawasdi // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20. – P. 1657. <https://doi.org/10.3390/ijms20071657>.
50. Red and yellow injectable platelet-rich fibrin demonstrated differential effects on periodontal ligament stem cell proliferation, migration, and osteogenic differentiation / P. Thanasrisuebwong, S. Kiattavorncharoen, R. Surarit [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21. – P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/ijms21145153>.
51. Advanced platelet-rich fibrin: A new concept for cell- Based tissue engineering by means of inflammatory cells / S. Ghanaati, P. Booms, A. Orłowska [et al.] // *J Oral Implantol.* – 2014. – Vol. 40. – P. 679–689. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-D-14-00138>.
52. Choukroun J. Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept / J. Choukroun, S. Ghanaati // *Eur J Trauma Emerg Surg.* – 2018. – Vol. 44. – P. 87–95. <https://doi.org/10.1007/s00068-017-0767-9>.

53. Reduction of the relative centrifugal force influences cell number and growth factor release within injectable PRF-based matrices / S. Wend, A. Kubesch, A. Orłowska [et al.] // *J. Mater Sci Mater Med.* – 2017. – Vol. 28. – P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5992-6>.
54. A low-speed centrifugation concept leads to cell accumulation and vascularization of solid platelet-rich fibrin: an experimental study in vivo / A. Kubesch, M. Barbeck, S. Al-Maawi [et al.] // *Platelets.* – 2019. – Vol. 30. – P. 329–340. <https://doi.org/10.1080/09537104.2018.1445835>.
55. Effects of injectable platelet-rich fibrin in experimental periodontitis in rats / H. S. Aydinyurt, T. Sancak, C. Taskin [et al.] // *Odontology.* – 2020. <https://doi.org/10.1007/s10266-020-00557-1>.
56. A comparative evaluation of iliac crest bone graft with and without injectable and advanced platelet rich fibrin in secondary alveolar bone grafting for cleft alveolus in unilateral cleft lip and palate patients: A randomized prospective study / J. K. Dayashankara Rao, A. Bhatnagar, R. Pandey [et al.] // *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* – 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2020.07.007>.
57. Biological activation of bone grafts using injectable platelet-rich fibrin / R. Shah, T. M. Gowda, R. Thomas [et al.] // *J Prosthet Dent.* – 2019. – Vol. 121. – P. 391–393. <https://doi.org/10.1016/j.prosdent.2018.03.027>.
58. Obtenção da fibrina rica em plaquetas injetável (I-PRF) e sua polimerização com enxerto ósseo: Nota técnica / Almeida Barros Mourão CF De, H. Valiense, E. R. Melo [et al.] // *Rev Col Bras Cir.* – 2015.
59. Eriksen C. G. The expression of IL-6 by osteoblasts is increased in healthy elderly individuals: Stimulated proliferation and differentiation are unaffected by age / C. G. Eriksen, H. Olsen, L. B. Husted [et al.] // *Calcified Tissue International.* — 2010. — Vol. 87 (5). — P. 414–423. — <https://doi.org/10.1007/s00223-010-9412-x>
60. Is the expression of Transforming Growth Factor-Beta1 after fracture of long bones solely influenced by the healing process? / G. Kaiser, A. Thomas, J. Köttstorfer [et al.] // *International Orthopaedics.* — 2012. — Vol. 3 (10). — P. 2173–2179. <https://doi.org/10.1007/s00264-012-1575-9>

61. The influence of non-osteogenic factors on the expression of M-CSF and VEGF during fracture healing / J. Köttstorfer, G. Kaiser, A. Thomas [et al.] // *Injury*. — 2013. — Vol. 44 (7). — P. 930–934. <https://doi.org/10.1016/j.injury.2013.02.028>
62. Leptin-receptor-expressing mesenchymal stromal cells represent the main source of bone formed by adult bone marrow / B. O. Zhou, R. Yue, M. M. Murphy [et al.] // *Cell stem cell*. — 2014. — Vol. 15 (2). — P. 154–168. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.06.008>.
63. Identification and characterization of an injury-induced skeletal progenitor / O. Marecic, R. Tevlin, A. McArdle [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2015. — Vol. 112 (32). — P. 9920–9925. <https://doi.org/10.1073/pnas.1513066112>.
64. Aged skeletal stem cells generate an inflammatory degenerative niche / T. H. Ambrosi, O. Marecic, A. McArdle [et al.] // *Nature*. — 2021. — Vol. 597 (7875). — P. 256–262. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03795-7>.
65. Adipocyte accumulation in the bone marrow during obesity and aging impairs stem cell-based hematopoietic and bone regeneration / T. H. Ambrosi, A. Scialdone, A. Graja [et al.] // *Cell stem cell*. — 2017. — Vol. 20 (6). — P. 771–784.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2017.02.009>.
66. Bone marrow mesenchymal stem cells: Aging and tissue engineering applications to enhance bone healing / H. Lin, J. Sohn, H. Shen [et al.] // *Biomaterials*. — 2019. — Vol. 203. — P. 96–110. — <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.06.026>.
67. Bone Marrow Stromal Cells of Young and Adult Rats Respond Similarly to Platelet-Released Supernatant and Bone Morphogenetic Protein-6 In Vitro / S. Cei, B. Kandler, A. Fügl [et al.] // *Journal of Periodontology*. — 2006. — Vol. 77 (4). — P. 699–706. — <https://doi.org/10.1016/10.1902/jop.2006.050155>
68. Innovative methods for optimization of bone regeneration: mesenchymal bone cells (part 2) (literature review) / N. A. Korzh, P. M. Vorontsov, I. V.

- Vishnyakova, E. M. Samoilova // Orthopaedics, Traumatology and Prosthetics. — 2018. — No. 1. — P. 105–116. — <https://doi.org/10.15674/0030-598720181105-116>. (in Russian)
69. Roberts T. T. Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing / T. T. Roberts, A. J. Rosenbaum // *Organogenesis*. — 2012. — Vol. 8 (4). — P. 114–124. <https://doi.org/10.4161/org.23306>.
70. Changes in bone mass and bone turnover following distal forearm fracture / B. M. Ingle, S. M. Hay, H. M. Bottjer, R. Eastell // *Osteoporos Int*. — 1999. — Vol. 10. — P. 399–407. <https://doi.org/10.1007/s001980050246>.
71. Findlay S. C. Measurement of bone adjacent to tibial shaft fracture / S. C. Findlay, R. Eastell, B. M. Ingle // *Osteoporos Int*. — 2002. — Vol. 13. — P. 980–989. <https://doi.org/10.1007/s001980200136>.
72. Changes in bone mass and bone turnover following tibial shaft fracture / S. W. Veitch, S. C. Findlay, A. J. Hamer [et al.] // *Osteoporos Int*. — 2006. — Vol. 17. — P. 364–372. <https://doi.org/10.1007/s00198-005-2025-y>.
73. Quantifying postoperative bone loss in children / E. A. Szalay, D. Harriman, B. Eastlund, D. Mercer // *J Pediatr Orthop*. — 2008. — Vol. 28. — P. 320–323. <https://doi.org/10.1097/BPO.0b013e318168c75e>.
74. Changes in bone mineral density in the proximal femur after hip resurfacing and uncemented total hip replacement: A prospective randomised controlled study / J. M. H. Smolders, A. Hol, T. Rijnders, J. L. C. Van Susante // *J Bone Jt Surg. Ser B*. — 2010. — Vol. 92 B. — P. 1509–1514. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.92B11.24785>.
75. Gauthier L. Peri-acetabular bone mineral density in total hip replacement / L. Gauthier, L. Dinh, P. E. Beaulé // *Bone Joint Res*. — 2013. — Vol. 2. — P. 140–148. <https://doi.org/10.1302/2046-3758.28.2000173>.
76. Changes in periacetabular bone mineral density five years after resurfacing hip arthroplasty versus conventional total hip arthroplasty / D. M. J. M. Gerhardt, J. M. H. Smolders, E. A. Roovers [et al.] // *HIP Int*. —

2019. – Vol. 29. – P. 153–160. <https://doi.org/10.1177/1120700018808023>.
77. Incident fracture is associated with a period of accelerated loss of hip BMD: the Study of Osteoporotic Fractures / B. A. Christiansen, S. L. Harrison, H. A. Fink, N. E. Lane // *Osteoporos Int.* – 2018. – Vol. 29. – P. 2201–2209. <https://doi.org/10.1007/s00198-018-4606-6>.
78. Osipov B. Systemic Bone Loss After Fracture / B. Osipov, A. J. Emami, B. A. Christiansen // *Clin Rev Bone Miner Metab.* – 2018. – Vol. 16. – P. 116–130. <https://doi.org/10.1007/s12018-018-9253-0>.
79. Age Dependence of Systemic Bone Loss and Recovery Following Femur Fracture in Mice / A. J. Emami, C. A. Toupadakis, S. M. Telek [et al.] // *J Bone Miner Res.* – 2019. – Vol. 34. – P. 157–170. <https://doi.org/10.1002/jbmr.3579>
80. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. – Офіц. веб-сайт. – (Міжнародний документ Ради Європи). – Режим доступу до документа: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text (accessed November 26, 2020).
81. Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
82. A standardized critical size defect model in normal and osteoporotic rats to evaluate bone tissue engineered constructs / L. Poser, R. Matthys, P. Schawalder, [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2014. – Vol. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/348635>.
83. Local administration of aspirin with β -tricalcium phosphate/poly-lactic-co-glycolic acid (β -TCP/PLGA) could enhance osteoporotic bone regeneration / Z. S. Tao, X. J. Wu, W. S. Zhou [et al.] // *J Bone Miner Metab.* – 2019. – Vol. 37. – P. 1026–1035. <https://doi.org/10.1007/s00774-019-01008-w>.

84. Bone formation induced by strontium modified calcium phosphate cement in critical-size metaphyseal fracture defects in ovariectomized rats / U. Thormann, S. Ray, U. Sommer [et al.] // *Biomaterials*. – 2013. – Vol. 34. – P. 8589–8598. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.07.036>
85. Пат. 108813. Спосіб виготовлення біоматеріалу з кісткової тканини / М.О.Корж, О.Є.Вирва, П.М.Воронцов [та ін.]; а201403313; заявл. 01.04.2014, опубл. 25.11.2014. Бюл. № 22.
86. Histological evidence concerning the osseointegration of titanium implants in the fractured rabbit femur / B. A. Bumbu, A. Bumbu, V. Rus [et al.] // *J Histotechnol*. – 2016. – Vol. 39. – P. 47–52. <https://doi.org/10.1080/01478885.2016.1144842>.
87. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М.: Медицина, 1996. – 542 с.
88. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник в 2-х т. / В.С. Камышников. – Минск: Интерсервис, 2003. – Т. 1. – 495 с.
89. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские лабораторные технологии / под ред. А.И. Карпищенко – СПб.: Интермедика, 1999. – Т. 2. – С. 307.
90. The influence of biomechanical stability on bone healing and fracture-related infection: the legacy of Stephan Perren / A. L. Foster, T. F. Moriarty, C. Zalavras [et al.] // *Injury*. — 2021. — Vol. 52 (1). — P. 43–52. — DOI: 10.1016/j.injury.2020.06.044.
91. Structural bulk allografts in acetabular reconstruction: Analysis of two grafts retrieved at post-mortem / J. P. Hooten, C. A. Engh, R. D. Heekin, T. N. Vinh // *Journal of Bone and Joint Surgery - Series B*. — 1996. — DOI: 10.1302/0301-620x.78b2.0780270.
92. Cellular mechanisms responsible for success and failure of bone substitute materials / T. Rolvien, M. Barbeck, S. Wenisch [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2018. — Vol. 19 (10). —

- DOI: 10.3390/ijms19102893.
93. Incorporation of morselized bone grafts: A study of 24 acetabular biopsy specimens / S. Van Der Donk, P. Buma, T. J. J. H. Slooff [et al.] // *Clinical Orthopaedics and Related Research*. — 2002. — No. 396. — P. 131–141. — DOI: 10.1097/00003086-200203000-00022.
94. Suppression of the immune system as a critical step for bone formation from allogeneic osteoprogenitors implanted in rats / A. Chatterjea, V. L. LaPointe, J. Alblas [et al.] // *Journal of cellular and molecular medicine*. — 2014. — Vol 18 (1). — P. 134–142. — DOI: 10.1111/jcmm.12172.
95. Roberts T. T. Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing / T. T. Roberts, A. J. Rosenbaum // *Organogenesis*. — 2012. — Vol. 8 (4). — P. 114–124. — DOI: 10.4161/org.23306.
96. Талашова И. А. Показатели фосфатазной активности и электролитного обмена в условиях имплантации кальцийфосфатных материалов / И. А. Талашова, А. Г. Гасанова, Е. А. Ткачук // *Гений Ортопедии*. — 2010. — № 4. — С. 94–98.
97. Platelet-rich plasma combined with autologous grafting in the treatment of long bone delayed union or non-union: a meta-analysis / An, W., Ye, P., Zhu, T., [et al.] // *Frontiers in surgery*. — 2021. — Vol. 8. — Article ID: 621559. — DOI: 10.3389/fsurg.2021.621559.
98. Stromal cells and stem cells in clinical bone regeneration / W. L. Grayson, B. A. Bunnell, E. Martin [et al.] // *Nature reviews. Endocrinology*/ — 2015. — Vol. 11 (3). — P. 140–150. — DOI: org/10.1038/nrendo.2014.234.
99. SDF-1 secreted by mesenchymal stem cells promotes the migration of endothelial progenitor cells via CXCR4/PI3K/AKT pathway / X. Wang, H. Jiang, L. Guo [et al.] // *Journal of molecular histology*. — 2021. — Vol. 52 (6). — P. 1155–1164. — DOI: 10.1007/s10735-021-10008-y