

УДК 616-092.9

DOI: 10.35693/2500-1388-2021-6-3-56-62

Структурные изменения сухожилия при экспериментальной тендинопатии и введении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы

Д.А. Маланин^{1, 2}, Л.Н. Рогова¹, Н.В. Григорьева¹, М.Р. Экова¹, В.Н. Поветкина¹,И.Г. Ласков¹, М.В. Демещенко^{1, 2}, И.А. Сучилин^{1, 2}, А.В. Воронина¹¹ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»

Минздрава России (Волгоград, Россия)

²ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр» (Волгоград, Россия)

Аннотация

Цель — оценить структурные изменения ткани пяточного сухожилия в условиях экспериментальной тендинопатии под влиянием аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы.

Материал и методы. Исследование проводилось на 20 половозрелых крысах линии Wistar, разделенных на 5 групп. Во всех группах выполнялось экспериментальное моделирование тендинопатии пяточного сухожилия путем внутри- и околосухжильного введения 0,5 мл 10% суспензии стерильного талька. Далее в область тендинопатии вводили аутологичную обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП), препарат гиалуроновой кислоты «Русвиск» (Россия) или их последовательное сочетание. Результаты исследования оценивали через 10 недель, аутопсийные препараты изучали с помощью световой микроскопии и морфометрии.

Результаты. Были выявлены характерные для тендинопатии гистологические признаки: дезорганизация коллагеновых структур, мукоидная и липоидная дегенерация, неоваскуляризация, лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация. Инъекционное введение в область смоделированной тендинопатии ОТП, ГК или их последовательного сочетания между собой приводило к изменениям гистологической картины ткани. В результате коллагеновый матрикс имел меньшие признаки дезорганизации и менее выраженные дегенеративные изменения, равно как и проявления воспалительного процесса в перитеноне и окружающих сухожилие мягких тканях по сравнению с гистологическим профилем, наблюдавшимся в микропрепаратах у животных с тендинопатией, которым никаких манипуляций не выполняли.

Заключение. Введение ОТП в область пяточного сухожилия в условиях экспериментальной тендинопатии уменьшало проявления воспалительного процесса, дезорганизации коллагенового матрикса, способствовало усилению синтеза коллагена клетками и в конечном итоге процессов ремоделирования ткани.

Ключевые слова: тендинопатия, тендинит, тендиноз, гиалуроновая кислота, обогащенная тромбоцитами плазма.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Маланин Д.А., Рогова Л.Н., Григорьева Н.В., Экова М.Р., Поветкина В.Н., Ласков И.Г., Демещенко М.В., Сучилин И.А., Воронина А.В. Структурные изменения сухожилия при экспериментальной тендинопатии и введении аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы. Наука и инновации в медицине. 2021;6(3):56-62. doi: 10.35693/2500-1388-2021-6-3-56-62

Сведения об авторах

Маланин Д.А. — д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и ВПХ. ORCID: 0000-0001-7507-0570. E-mail: malanin67@mail.ru

Рогова Л.Н. — д-р мед. наук, профессор, заведующая кафедрой патофизиологии, клинической патофизиологии. ORCID: 0000-0003-1046-0329. E-mail: rogovaln@mail.ru

Григорьева Н.В. — д-р мед. наук, профессор кафедры патологической анатомии. ORCID: 0000-0002-7707-6754. E-mail: ngrigorievavsmu@gmail.com

Экова М.Р. — канд. мед. наук, ассистент кафедры патологической анатомии. ORCID: 0000-0001-8655-1441. E-mail: maria.ekova@mail.ru

Поветкина В.Н. — канд. мед. наук, ассистент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии. ORCID: 0000-0002-0910-5584. E-mail: vnpovetkina@gmail.com

Ласков И.Г. — внешний соискатель кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ. ORCID: 0000-0002-8095-022X. E-mail: laskov.ilya@gmail.com

Демещенко М.В. — канд. мед. наук, ассистент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ. ORCID: 0000-0003-1797-2431. E-mail: demmax34@gmail.com

Сучилин И.А. — канд. мед. наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ. ORCID: 0000-0001-7375-5365. E-mail: omnio@mail.ru

Воронина А.В. — внешний соискатель кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии. ORCID: 0000-0003-1705-8244. E-mail: ms.xxzz@mail.ru

Автор для переписки

Маланин Дмитрий Александрович
Адрес: Волгоградский государственный медицинский университет, пл. Павших борцов, 1, г. Волгоград, Россия, 400131. E-mail: malanin67@mail.ru

ОТП — обогащенная тромбоцитами плазма; ГК — гиалуроновая кислота; Г — группа.

Рукопись получена: 07.06.2021

Рецензия получена: 20.08.2021

Решение о публикации принято: 24.08.2021

Structural changes of the tendon in experimental tendinopathy and administration of autologous platelet-rich plasma

Dmitrii A. Malanin^{1,2}, Lyudmila N. Rogova¹, Natalya V. Grigorieva¹, Mariya R. Ekova¹, Victoriya N. Povetkina¹, Ilya G. Laskov¹, Maksim V. Demeshchenko^{1,2}, Ilya A. Suchilin^{1,2}, Aleksandra V. Voronina¹

¹Volgograd State Medical University (Volgograd, Russia)

²Volgograd Medical Research Center (Volgograd, Russia)

Abstract

Objectives – assessment of structural changes in the calcaneal tendon tissue in experimental tendinopathy under autologous platelet-rich plasma.

Material and methods. Twenty mature Wistar rats, selected for the study, were divided into 5 groups. Rats of all groups received intra- and peritendinous injections of 0.5 ml of 10% sterile talc suspension to provide the experimental modeling of tendinopathy of the calcaneal tendon. Then the tendinopathy area was treated by injections of autologous platelet-rich plasma (PRP), a hyaluronic acid preparation "Rusvisk" (Rusvisk, Russia) and their sequential combination. The results were evaluated after 10 weeks in the autopsy preparations using a light microscopy method and morphometry.

Results. The histological signs characteristic of tendinopathy were revealed, such as the disorganization of collagen structures, mucoid and lipid degeneration, neovascularization, lymphoid and histiocytic infiltration. The injection of PRP, hyaluronic acid, or their sequential combination in the area of simulated tendinopathy led to changes in the histological presentation of the tissue. As a result, the collagen matrix had less signs of disorganization and less pronounced degenerative changes, as well as manifestations of the inflammatory process in the peritenon and the soft tissues surrounding the tendon, in comparison with the histological profile, which was observed in micropreparations in animals with tendinopathy who had no treatment.

Conclusion. The introduction of PRP into the area of the calcaneal tendon has reduced the manifestations of the inflammatory process, disorganization of the collagen matrix, promoted the enhancement of collagen synthesis by cells and, ultimately, the processes of tissue remodeling.

Keywords: tendinopathy, tendinitis, tendinosis, hyaluronic acid, platelet-rich plasma.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Malanin DA, Rogova LN, Grigorieva NV, Ekova MR, Povetkina VN, Laskov IG, Demeshchenko MV, Suchilin IA, Voronina AV. **Structural changes of the tendon in experimental tendinopathy and administration of autologous platelet-rich plasma.** *Science and Innovations in Medicine.* 2021;6(3):56-62. doi: 10.35693/2500-1388-20201-6-3-56-62

Information about authors

Dmitrii A. Malanin – PhD, Professor, Head of the Department of Traumatology, orthopedics and MFS. ORCID: 0000-0001-7507-0570. E-mail: malanin67@mail.ru

Lyudmila N. Rogova – PhD, Professor, Head of the Department of Pathophysiology, clinical pathophysiology. ORCID: 0000-0003-1046-0329. E-mail: rogova.ln@mail.ru

Natalya V. Grigorieva – PhD, Professor of the Department of Pathological anatomy. ORCID: 0000-0002-7707-6754. E-mail: ngrigorievavsmu@gmail.com

Mariya R. Ekova – PhD, assistant of the Department of Pathological anatomy. ORCID: 0000-0001-8655-1441. E-mail: maria.ekova@mail.ru

Victoriya N. Povetkina – PhD, Assistant of the Department of Pathophysiology, clinical pathophysiology. ORCID: 0000-0002-0910-5584. E-mail: vnpovetkina@gmail.com

Ilya G. Laskov – external PhD student, Department of Traumatology, orthopedics and MFS. ORCID: 0000-0002-8095-022X. E-mail: laskov.ilya@gmail.com

Maksim V. Demeshchenko – PhD, assistant of the Department of Traumatology, orthopedics and MFS. ORCID: 0000-0003-1797-2431. E-mail: demmax34@gmail.com

Ilya A. Suchilin – PhD, Associate professor, Department of Traumatology, orthopedics and MFS. ORCID: 0000-0001-7375-5365. E-mail: omnio@mail.ru

Aleksandra V. Voronina – external PhD student of the Department of Pathophysiology, clinical pathophysiology. ORCID: 0000-0003-1705-8244. E-mail: ms.xzz@mail.ru

Corresponding Author

Dmitrii A. Malanin
Address: Volgograd State Medical University,
1 Pavshikh bortsov sq., Volgograd, Russia, 400131.
E-mail: malanin67@mail.ru

Received: 07.06.2021

Revision Received: 20.08.2021

Accepted: 24.08.2021

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время понимание патологических процессов и реальных механизмов развития тендинопатий с незавершенным ремоделированием сухожилий и накоплением невосстанавливающихся нарушений структуры ткани все еще остается на невысоком уровне [1, 2, 3].

В качестве этиологических факторов тендинопатий рассматриваются гипоксия, гипертермия, апоптоз, воздействие медиаторов воспаления, молочной кислоты («окислительный стресс»), дисбаланс матричных металлопротеиназ и ряд других обстоятельств, каждое из которых в отдельности или совокупности являются предметом обсуждения [4–7].

Согласно данным морфологических исследований, ключевую роль на ранних стадиях тендинопатий играет воспаление, тогда как в последующем развиваются процессы дегенеративного ремоделирования и происходит накопление так называемых внутренних структурных повреждений [5, 8, 9]. Ограниченные метаболические

возможности для восстановления бессосудистой ткани сухожилий на фоне продолжающихся механических перегрузок обуславливают привлечение дополнительных источников реваккуляризации и сопутствующей ей иннервации, преимущественно из паритенона и окружающих тканей. Однако последние процессы создают иную структуру сухожилия, характеризующуюся присутствием резидентных клеток, повышенным содержанием коллагена III типа и фрагментированного фибронектина в матриксе, что может стимулировать развитие хронического воспаления с иммунным компонентом [1, 3, 10].

Общепринятые методы лечения тендинопатий предполагают использование нестероидных противовоспалительных препаратов, которые оказывают патогенетическое действие только в начальной острой стадии заболевания, но в дальнейшем проблему изменения структуры и нарушения репаративного процесса не решают, а лишь маскируют их хронизацию и прогрессирование [11].

Порода животных		Крысы линии Wistar			
Возраст		Половозрелые			
Масса		265±2,2 г			
Вводимый препарат	10% суспензия стерильного талька, 0,5 мл	0,9% раствор NaCl, 0,2 мл	ОТП, 0,2 мл	ГК, 0,2 мл	ОТП+ГК, 0,2 мл
Группы					
Группа 1 (Г1)	-				
Группа 2 (Г2)	+	+			
Группа 3 (Г3)	+		+		
Группа 4 (Г4)	+			+	
Группа 5 (Г5)	+				+
Сроки выведения животных из эксперимента	-	10 недель	10 недель	10 недель	10 недель

Таблица 1. Характеристика животных и экспериментальных групп

Table 1. Characteristics of animals and experimental groups

Локальное инъекционное введение аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП) при отдельных нозологических формах тендинопатий показало обнадеживающие результаты в клинической практике. Ряд экспериментальных исследований свидетельствует о наличии у ОТП выраженного противовоспалительного эффекта, способности стимулировать пролиферативную и синтетическую активность теноцитов, миграцию стволовых клеток. Однако патогенетические механизмы происходящих при этом процессов, морфогенез тканей сухожилий на фоне введения ОТП изучены далеко не в полной мере [12–16].

ЦЕЛЬ

Оценить структурные изменения ткани пяточного сухожилия в условиях экспериментальной тендинопатии под влиянием аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование носило экспериментальный характер и включало работу с лабораторными животными. Все требования, изложенные в правилах лабораторной практики (GLP), «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и приказе Минздрава РФ от 19.06.2003 №267 «Об утверждении правил лабораторной практики», были соблюдены.

В исследование вошли 20 половозрелых крыс линии Wistar массой 250–350 г, манипуляции с которыми выполняли под общим обезболиванием препаратом «Рометар» (Bioveta, Чешская Республика).

Лабораторные животные были разделены на 5 групп (Г1–Г5) по 4 крысы в каждой группе. Первая группа (Г1) являлась контрольной и оставалась интактной на протяжении всего исследования. Животным остальных групп (Г2–Г5) осуществляли моделирование тендинопатии пяточного сухожилия путем внутри- и околосухожильного введения 0,5 мл 10% суспензии стерильного талька в течение 6 недель кратностью по 2 инъекции в неделю (**таблица 1**).

После формирования модели тендинопатии животным экспериментальных групп путем инъекций вводили 0,2 мл сравниваемых препаратов в область пораженного сухожилия. В Г2 вводили физиологический раствор NaCl, в Г3 – ОТП, в Г4 – препарат гиалуроновой кислоты (ГК) «Русвиск» (Россия) с молекулярным весом 3–3,5×10⁶ Да, в Г5 – комбинацию ОТП и ГК. В каждой группе было выполнено 3 инъекции с интервалом в 1 неделю, а в Г5 – 2 инъекции ОТП и 1 инъекция ГК. Все вышеуказанные препараты, а также суспензию стерильного талька на этапе моделирования тендинопатии вводили в область сухожилия на 0,5 см от места его прикрепления к пяточной кости (**рисунок 1**).

Для получения ОТП забирали 1,2 мл цельной крови из бедренной вены животных в шприц с предварительно набранными 0,4 мл 5% раствора цитрата натрия и затем использовали методику двойного центрифугирования [17].

На протяжении всего периода экспериментального исследования, начиная с формирования модели тендинопатии и затем последующего лечения, осуществляли тщательное наблюдение за животными: отмечали изменения общего состояния, локальные изменения в области инъекций, степень участия вовлеченной конечности в нагрузке и движениях.

По прошествии недели с момента выполнения последней лечебной инъекции животным Г3–Г5, через 4 недели после завершения моделирования тендинопатии в Г2, спустя 10 недель с момента начала эксперимента в Г1 животных выводили из исследования.

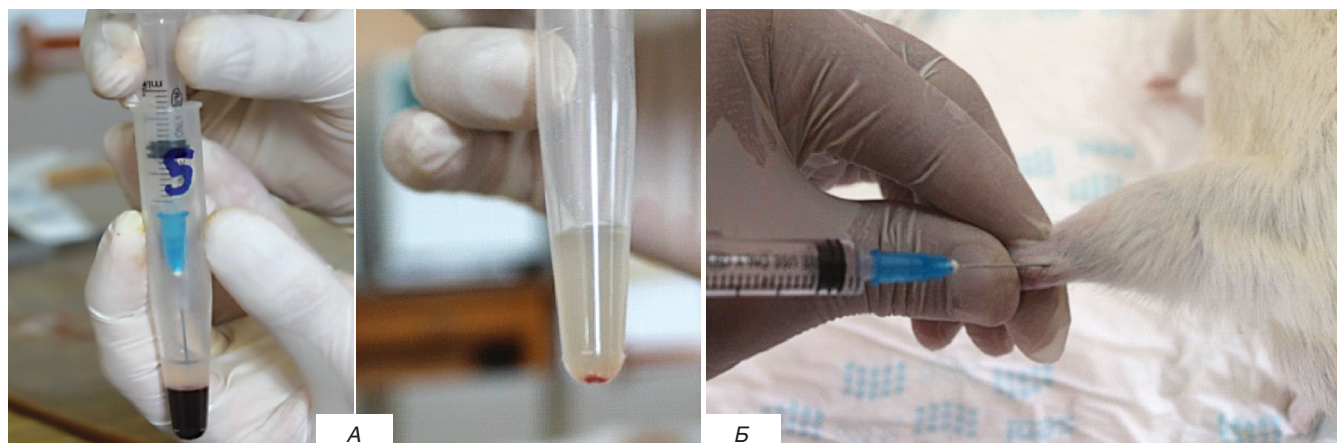


Рисунок 1. Получение ОТП (А) и введение ее в область пяточного сухожилия (Б).
Figure 1. Obtaining PRP (A) and introducing it into the area of the calcaneal tendon (B).

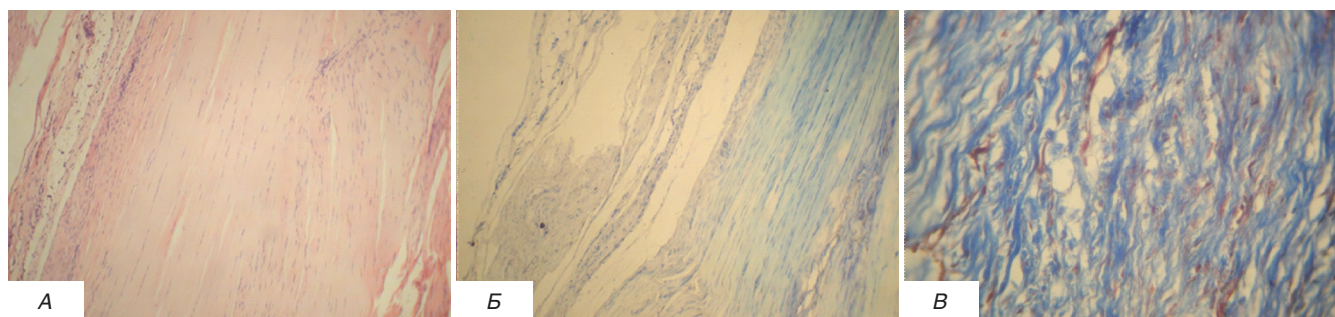


Рисунок 2. Пяточное сухожилие животного с экспериментальной тендинопатией. Пучки коллагеновых волокон с участками разволокнения, с очаговой мукоидной и липоидной дегенерацией, очаговой перифокальной лимфо-гистиоцитарной инфильтрацией. А – окраска гематоксилином и эозином, ув. х 100, Б – окраска толуидиновым синим, ув. х 400, В – окраска по Массону, ув. х 100.

Figure 2. Calcaneal tendon of an animal with experimental tendinopathy. Bundles of collagen fibers with areas of disorganization and, with focal mucoïd and lipoid degeneration, with focal perifocal lympho-histiocytic infiltration. A – staining with hematoxylin and eosin, x100, B – staining with toluidine blue, x400, B – Trichrome (Masson) staining, x100.

введением летальной дозы препарата «Рометар». Конечной точкой эксперимента во всех группах животных явились 10 недель.

Для проведения гистологического исследования вычленили костно-сухожильно-мышечные блоки, фиксировали их в 10% нейтральном растворе забуференного формалина, проводили по батарее спиртов возрастающей концентрации и заливали в парафин. Затем изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм и окрашивали их гематоксилином и эозином, толуидиновым синим, по Массону.

Световую микроскопию выполняли на микроскопе Micros (Австрия) при увеличении x100 и x400 с последующим фотографированием фотокамерой Olympus (Япония).

При проведении морфометрии учитывали следующие параметры: концентрация клеток (количество клеток в 1 мкм²), абсолютная площадь ядра клеток, ширина коллагеновых волокон (мкм), доля дезорганизованного матрикса (%).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 10 (StatSoft, USA). Обобщенные данные представляли в виде медианы (Me) с указанием интерквартильного интервала (LQ-UQ), где LQ – 25 процентиль, UQ – 75 процентиль. Различия между группами оценивали по критерию Краскала – Уоллиса с последующим сравнением групп с использованием апостериорного критерия Данна и считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По прошествии 10 недель эксперимента общее состояние животных всех групп не претерпевало каких-

либо изменений, а физическая активность оставалась на прежнем уровне. Животные из контрольной Г2 и из Г3–Г5 сравнения полностью опирались на подвергнувшуюся манипуляциям конечность, суставы которой не имели ограничений в подвижности. Местные изменения заключались в сохраняющейся небольшой отечности мягких тканей в области инъекций 10% суспензии талька и некотором утолщении самих сухожилий.

Структурные преобразования ткани сухожилий после моделирования тендинопатии у животных контрольной Г2 заключались в очаговом разволокнении и дезорганизации пучков коллагеновых волокон, мукоидной и липоидной дегенерации, проявляющейся метакромазией при окраске по Массону и толуидиновым синим, а также новообразовании сосудов (рисунок 2). Неоангиогенез, а также лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация с очагами скопления нейтрофильных лейкоцитов характеризовали главным образом участки прилежащего к сухожилию перитонеона, окружающие его жировую и мышечную ткани. Гораздо реже очаги воспаления можно было наблюдать непосредственно в самом сухожилии.

Средний показатель концентрации клеток у животных Г2 с тендинопатией пяточного сухожилия был почти вдвое больше по сравнению с аналогичным показателем в интактной Г1 ($p < 0,05$). Причем среднее значение абсолютной площади клеточного ядра в Г2 также в 2 раза превышала таковое в Г1 животных ($p < 0,05$). Ширина коллагеновых волокон в ткани сухожилий с тендинопатией на фоне выраженной дезорганизации матрикса, достигающей 49,3%, несколько превышала условно нормальное значение, однако эти различия не были статистически значимыми (таблица 2).

Показатель	Г1	Г2	Г3	Г4	Г5
Концентрация клеток, $\times 10^{-2}$ количество клеток/мкм ²	2,7 (2,2-3,5)	4,1 (2,6-6,3)*	2,8 (2,4-3,6)	2,6 (2,1-3,1)#	4,0 (3,5-5,1)
Абсолютная площадь ядра клетки, мкм ²	1,7 (1,5-2,1)	3,2 (2,4-3,8)*	3,5 (2,8-4,1)	3,6 (2,4-5,6)	2,4 (2,1-2,5)
Ширина коллагеновых волокон, мкм	88,9 (83,5-93,0)	96,1 (89,0-99,4)	132,2 (124,0-149,0)*#	144,6 (139,8-155,3)*#	166,4 (159,8-167,3)*#
Дезорганизация матрикса, %	0 (0-0)	49,3 (46,6-53,1)*	22,1 (19,4-31,2)#	33,4 (31,9-35,2)#	39 (37,4-40,4)

* $p < 0,05$ – по сравнению с Г1
$p < 0,05$ – по сравнению с Г2

Таблица 2. Сравнительная морфометрическая характеристика области тендинопатии пяточного сухожилия после локального введения ОТП, ГК или их сочетания, Me (LQ-UQ)

Table 2. Comparative morphometric characteristics of the tendinopathy area in the calcaneal tendon after local injection of PRP, HA or their combination, Md (LQ-UQ)

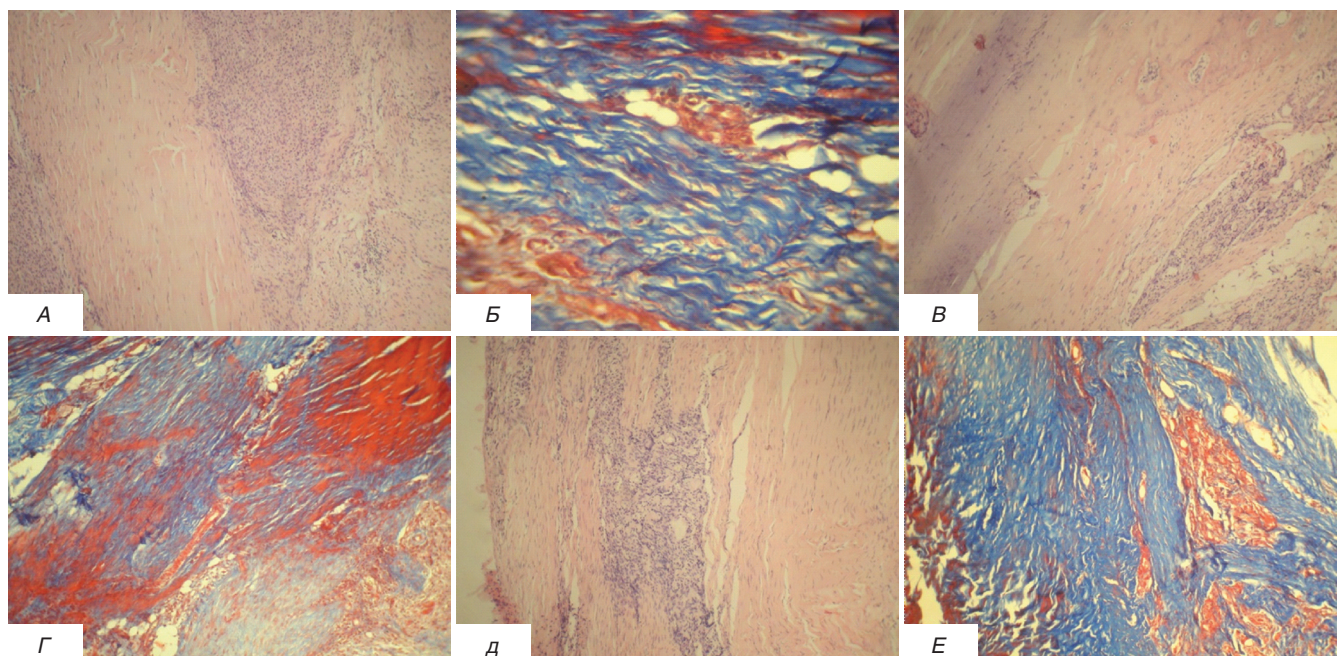


Рисунок 3. Модель тендинопатии пяточного сухожилия в условиях локального введения ОТП (А, Б), ГК (В, Г), ОТП+ГК (Д, Е):

А, Б – очаговая дезорганизация коллагеновых волокон, выраженная воспалительная лимфогистиоцитарная инфильтрация, очаговая липоидная дегенерация, очаговая неоваскуляризация, очаговый фиброз в участках коллагеновых волокон сухожилия и в окружающих мягких тканях.

В, Г – очаговая дезорганизация коллагеновых волокон (мукоидная дегенерация), очаговая липоидная дегенерация, очаговая умеренно выраженная воспалительная лимфогистиоцитарная инфильтрация, очаговая неоваскуляризация, скопления округлых, крупных сухожильных клеток.

Д, Е – очаговая дезорганизация коллагеновых волокон, очаговая, слабо выраженная воспалительная инфильтрация лимфоцитами и гистиоцитами, с небольшим количеством гигантских многоядерных клеток инородных тел, очаговая неоваскуляризация, очаговый, слабо выраженный фиброз.

Окраска гематоксилином и эозином, ув. х 100 (А, В, Д) и по Массону, ув. х 400 (Б, Г, Е).

Figure 3. Model of calcaneal tendinopathy with local injection of PRP (A, B), HA (B, G), PRP + HA (D, E):

А, Б – focal disorganization of collagen fibers, pronounced inflammatory lymph-histiocytic infiltration, focal lipoid degeneration, focal neovascularization, focal fibrosis in the areas of collagen fibers of the tendon and in the surrounding soft tissues.

В, Г – focal disorganization of collagen fibers (mucoid degeneration), focal lipoid degeneration, focal moderately pronounced inflammatory lympho-histiocytic infiltration, focal neovascularization, clusters of rounded, large tendon cells.

Д, Е – focal disorganization of collagen fibers, focal, mild inflammatory infiltration by lymphocytes and histiocytes, with a small number of giant multinucleated cells of foreign bodies, focal neovascularization, focal, mild fibrosis.

Staining with hematoxylin and eosin, x100 (A, B, D) and trichrome (Masson) staining, x400 (B, G, E).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленные гистологические изменения в ткани пяточного сухожилия у животных Г2 были инициированы микроповреждениями частицами введенной суспензии талька, которые активировали механизмы воспаления, включая цитокиновый каскад, металлопротеиназы, играющие, как известно, ключевую роль в ремоделировании матрикса большинства соединительнотканых структур [4, 7, 18].

Отмеченные на микроскопическом уровне нарушения в настоящее время рассматриваются в контексте механической теории развития острых и хронических заболеваний сухожилий, а для их обозначения используются термины тендинопатия, тендиноз или тендинит [9, 11].

Увеличение концентрации клеток в ткани сухожилия, а также площади клеточного ядра вполне можно объяснить присутствием привлеченной извне клеточной популяции, в том числе связанной с сосудистой инвазией из перитенона и окружающих тканей. С другой стороны, физическая связь теноцитов сухожилия с коллагеновыми волокнами, вероятно, играет важную роль в биологической реакции ткани на механические нагрузки. Дезорганизация коллагеновых волокон,

потеря ими естественного натяжения вызывают усиление пролиферативной и секреторной активности клеток, чем и обусловлено увеличение средней площади клеточного ядра. Влияние так называемых механизмов механотрансдукции на миграцию и дифференцировку клеток, их синтетическую активность в отношении секреции коллагеновых матриксных протеиназ, трансформирующего фактора роста - β было показано в ряде экспериментальных исследований на моделях заживления повреждений сухожилий [1, 19].

В целом выявленные в нашей экспериментальной модели гистологические признаки указанных выше патологических процессов подтвердили ее достаточное приближение к известной форме заболевания сухожилия – тендинопатии и адекватность для решения поставленных в исследовании задач.

Инъекционное введение ОТП в область смоделированной тендинопатии (Г3), гиалуроновой кислоты (Г4) или их последовательного сочетания (Г5) приводило к изменениям гистологической картины ткани. В результате коллагеновый матрикс имел меньшие признаки дезорганизации и менее выраженные дегенеративные изменения, равно как и проявления воспалительного процесса в перитеноне и окружающих сухожилие

мягких тканях, по сравнению с гистологическим профилем, наблюдавшимся в микропрепаратах у животных с тендинопатией из Г2, которым никаких манипуляций не проводили (**рисунок 3**).

Наиболее выраженная положительная динамика в отношении структуры ткани сухожилия характеризовала морфогенез тендинопатии в условиях введения ОТП, что также нашло подтверждение в результатах морфометрии (**таблица 2**).

Средняя концентрация клеток после введения ОТП в Г3 или ГК в Г4 достигала условно нормальных значений в интактном сухожилии (Г1), в то время как в Г5 после последовательного введения ОТП и ГК превышала их практически в 1,5 раза и была сравнима с таковым показателем в модели тендинопатии (Г2).

Средняя абсолютная площадь ядра клеток в препаратах животных после введения ОТП (Г3) и ГК (Г4) в отдельности оставалась в 2 раза выше, чем в интактной Г1 и сравнимой с площадью ядра в модели тендинопатии (Г2). На этом фоне средний показатель площади оказался меньше после последовательного введения ОТП и ГК, но несколько превышал условно нормальные значения, хотя различия были статистически не значимыми.

Средняя ширина коллагеновых волокон во всех «манипуляционных» группах (Г2–Г3) оказалась выше нормальных значений показателя у животных из интактной Г1. Но если при тендинопатии (Г2) различия с условно нормальными показателями были незначительными, то после введения ОТП, ГК или их последовательного применения различия оказались статистически значимыми и достигали максимальных значений почти в двукратным увеличением в Г5 (ОТП и ГК).

Степень дезорганизации матрикса, выраженная в процентах по отношению к нормальной гистологической картине в препаратах животных из интактной Г1, представлялась существенно меньшей (на 27%) после введения ОТП в Г3 по сравнению с моделью тендинопатии ($p < 0,05$) и более предпочтительной по отношению к этому показателю в Г4 и Г5 после введения ГК и последовательного применения ОТП и ГК соответственно.

Объяснение большинству полученных в нашем исследовании описательных и метрических данных заключалось в ряде взаимосвязанных биологических эффектов, развивающихся в сухожилии и окружающих его тканях под влиянием ОТП – противовоспалительном, тендопротективном и репаративном.

Проявление противовоспалительных свойств ОТП было вполне ожидаемым явлением, обусловленным главным образом факторами роста, содержащимися в α -гранулах тромбоцитов, способными оказывать регулирующее воздействие на все три фазы воспалительного процесса посредством взаимодействия с трансмембранными рецепторами клеток и инициации внутриклеточных сигналов [15, 20].

Не меньшего внимания оказались достойными защита ткани сухожилия от разрушения, дегенерации и восстановление его после повреждений. Развитие репаративных процессов в этом случае также находило объяснение с позиций участия факторов роста тромбоцитов ОТП, оказывающих влияние на экспрессию генов

в ядрах клеток с усилением синтеза белков, регулирующих их пролиферативную и синтетическую активность. Наряду с этим факторы роста тромбоцитов стимулируют хемотаксис, дифференциацию клеток и локальный ангиогенез, что, безусловно, имеет непосредственное отношение к процессам восстановления поврежденных сухожилий [15, 21]. В результате взаимодействия ОТП с тканью сухожилий происходит усиление пролиферации фибробластов, синтеза коллагена теноцитами и фибробластами, миграция клеток-предшественников из костного мозга в область повреждения сухожилий, увеличение размеров и прочности регенерата, улучшение гистологических и механических характеристик костно-сухожильного прикрепления [11, 14, 15, 21, 22].

Выявленные сравнительные изменения морфометрических показателей в нашем исследовании в той или иной степени свидетельствовали о развитии всех трех отмеченных выше биологических эффектов у животных «манипуляционных» Г3–Г5.

Увеличение клеточной популяции в области тендинопатии было наименьшим после введения ОТП, что до некоторой степени объясняет наименее выраженную дезорганизацию матрикса по отношению к остальным экспериментальным группам животных. В то же время сравнимое с последними увеличение абсолютной площади ядра клеток и ширины коллагеновых волокон подтверждали наше предположение об увеличении их синтетической активности под влиянием ОТП. Подобная тенденция в изменении структуры ткани сухожилия, но на фоне более высоких количественных показателей клеточной популяции, средней ширины коллагеновых волокон и при этом со сравнительно более значительной степенью дезорганизации матрикса сохранялась и в Г5 после последовательного введения ОТП и ГК.

Для сравнительной оценки модифицирующих структуру ткани сухожилий свойств ОТП животным Г4 в область тендинопатии вводили гиалуроновую кислоту, которая находит клиническое применение в лечении указанного заболевания. Последняя была выбрана в качестве сравнительного ортобиологического препарата в связи с наличием известного противовоспалительного действия и способности стимулировать синтез протеогликанов – одного из компонентов матрикса ткани сухожилия [22, 23]. Вероятно, результатом проявления этих свойств на клеточном уровне явился отмеченный в нашем исследовании тендопротективный эффект ГК. Дегенерация сухожилия у животных Г4 после введения ГК была выражена в меньшей степени по сравнению с подобными процессами, отмеченными через 10 недель с момента моделирования тендинопатии в Г2 ($p < 0,05$), но отличалась в худшую сторону от гистологической картины структурной организации сухожилий после инъекций ОТП. Дезорганизация матрикса у животных Г5 после последовательного введения ОТП и ГК была выражена несколько в большей степени, чем после инъекций каждого из этих ортобиологических препаратов в отдельности. Однако, принимая во внимание наиболее высокий показатель средней ширины коллагеновых волокон, свидетельствующий о выраженных процессах синтетической активности

с преимущественным формированием отличающихся большей толщиной коллагеновых волокон I типа, можно высказать предположение о продолжающемся ремоделировании ткани. Весьма вероятно, что дальнейшее упорядочение структуры сухожилия у животных Г5 наступает в более отдаленный период времени, чем обозначенные в нашем исследовании конечные сроки эксперимента.

Таким образом, на основании проведенного экспериментального исследования можно с уверенностью предположить, что ОТП, введенная в область пяточного сухожилия в условиях экспериментальной модели тендинопатии, обладает противовоспалительным эффектом, стимулирует коллагенообразующую синтетическую активность клеток, способствуя сохранению и, возможно, восстановлению его нарушенной структуры. В то же время репаративный потенциал ОТП, комбинации ОТП с ГК, последующие процессы вторичного ремоделирования ткани сухожилия представляются весьма интересными для дальнейшего изучения с более продолжительными сроками наблюдения.

Основным ограничением нашего исследования следует признать малое количество животных, представленных в каждой из экспериментальных групп.

Существенно объективизировать полученные данные помогли бы дополнительные исследования с более представительными группами сравнения, а также использование иммуногистохимического метода оценки морфогенеза ткани сухожилия при тендинопатии под влиянием ОТП.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальная модель, основанная на введении в область пяточного сухожилия крысы 0,5 мл 10% суспензии стерильного талька в течение 6 недель по 2 инъекции в неделю, характеризуется возникновением гистологических признаков тендинопатии, а именно: нарушения структуры тканей, очагового воспаления и сосудистой пролиферации.

Введение ОТП в область пяточного сухожилия в условиях экспериментальной тендинопатии уменьшает проявления воспалительного процесса, способствует усилению синтеза коллагена клетками и тем самым сохраняет и, возможно, восстанавливает его нарушенную структуру. ■

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Chisari E, Rehak L, Khan W, et al. Tendon healing in presence of chronic low-level inflammation: a systematic review. *Br Med Bull.* 2019;132(1):97-116. doi: 10.1093/bmb/ldz035
2. Millar N, Murrell G, McInnes I. Inflammatory mechanisms in tendinopathy – towards translation. *Nature reviews rheumatology.* 2017;13(2):110-122. doi: 10.1038/nrrheum.2016.213
3. Snedeker J, Foolen J. Tendon injury and repair – A perspective on the basic mechanisms of tendon disease and future clinical therapy. *Acta Biomater.* 2017;63:18-36. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.032
4. Riley G, Curry V, DeGroot J, et al. Matrix metalloproteinase activities and their relationship with collagen remodelling in tendon pathology. *Matrix Biology.* 2002;21(2):185-195. doi: 10.1016/S0945-053X(01)00196-2
5. Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006;6(2):181-190.
6. Werner R, Franzblau A, Gell N, et al. A longitudinal study of industrial and clerical workers: predictors of upper extremity tendinitis. *J Occup Rehabil.* 2005;15(1):37-46. doi: 10.1007/s10926-005-0872-1
7. Yuan J, Wang M, Murrell G. Cell death and tendinopathy. *Clin Sports Med.* 2003;22(4):693-701. doi: 10.1016/S0278-5919(03)00049-8
8. Khan K, Cook J, Bonar F, et al. Histopathology of common tendinopathies. *Sports Medicine.* 1999;27(6):393-408. doi: 10.2165/00007256-199927060-00004
9. Maffulli N, Wong J, Almekinders L. Types and epidemiology of tendinopathy. *Clin Sports Med.* 2003;22(4):675-692. doi: 10.1016/S0278-5919(03)00004-8
10. Lipman K, Wang C, Ting K, et al. Tendinopathy: injury, repair, and current exploration. *Drug Des Devel Ther.* 2018;Volume 12:591-603. doi: 10.2147/ddt.s154660
11. Kaux JF, Forthomme B, Goff CL, et al. Current opinions on tendinopathy. *J Sports Sci Med.* 2011;10(2):238-253.
12. Malanin D, Norkin A, Tregubov A, et al. PRP-therapy for tendinopathies of rotator cuff and long head of biceps. *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2019;25(3):57-66. (In Russ.). [Маланин Д.А., Норкин А.И., Трегубов А.С. с соавт. Применение PRP-терапии при тендинопатиях вращательной манжеты и длинной головки двуглавой мышцы плеча. *Травматология и ортопедия России.* 2019;25(3):57-66]. doi: 10.21823/2311-2905-2019-25-3-57-66
13. Centeno C, Pastoriza S. Past, current and future interventional orthobiologics techniques and how they relate to regenerative rehabilitation: a clinical commentary. *Int J Sports Phys Ther.* 2020;15(2):301-325. doi: 10.26603/ijsp20200301
14. Dolkart O, Chechik O, Zarfati Y, et al. A single dose of platelet-rich plasma improves the organization and strength of a surgically repaired rotator cuff tendon in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2014;134(9):1271-1277. doi: 10.1007/s00402-014-2026-4
15. Foster T, Puskas B, Mandelbaum B, Gerhardt M, Rodeo S. Platelet-Rich Plasma. *Am J Sports Med.* 2009;37(11):2259-2272. doi: 10.1177/0363546509349921
16. Tsikopoulos K, Tsikopoulos I, Simeonidis E, et al. The clinical impact of platelet-rich plasma on tendinopathy compared to placebo or dry needling injections: A meta-analysis. *Physical Therapy in Sport.* 2016;17:87-94. doi: 10.1016/j.ptsp.2015.06.003
17. Demkin SA, Malanin DA, Rogova LN, et al. An experimental study of the use of intraarticular platelet-rich autoplasmal therapy in rats with knee osteoarthritis. *Volgograd journal of medical research.* 2016;1:28-32. (In Russ.). [Демкин С.А., Маланин Д.А., Рогова Л.Н. и др. Экспериментальная модель остеоартроза коленного сустава у крыс на фоне внутрисуставного введения обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы. *Волгоградский научно-медицинский журнал.* 2016;1:28-32].
18. Bestwick C, Maffulli N. Reactive oxygen species and tendon problems: Review and hypothesis. *Sports Medicine and Arthroscopy Review.* 2000;8(1):616.
19. Lavagnino M, Wall M, Little D, et al. Tendon mechanobiology: current knowledge and future research opportunities. *Journal of Orthopaedic Research.* 2015;33(6):813-822. doi: 10.1002/jor.22871
20. Sundman E, Cole B, Karas V, et al. The anti-inflammatory and matrix restorative mechanisms of platelet-rich plasma in osteoarthritis. *Am J Sports Med.* 2013;42(1):35-41. doi: 10.1177/0363546513507766
21. Zhang J, Wang J. Platelet-rich plasma releasate promotes differentiation of tendon stem cells into active tenocytes. *Am J Sports Med.* 2010;38(12):2477-2486. doi: 10.1177/0363546510376750
22. Altman R, Bedi A, Manjoo A, et al. Anti-inflammatory effects of intra-articular hyaluronic acid: a systematic review. *Cartilage.* 2018;10(1):43-52. doi: 10.1177/1947603517749919
23. Litwiniuk M, Krejner A, Speyrer MS, et al. Hyaluronic acid in inflammation and tissue regeneration. *Wounds.* 2016;28(3):78-88. PMID: 26978861