

**БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ У СИРОВАТЦІ КРОВІ КРОЛІВ ЗА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕХАНІЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ КІСТКОВОЇ
ТКАНИНИ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ АЛОГЕННИХ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ
СТОВБУРОВИХ КЛІТИН**

Т. Л. САВЧУК*, аспірант* кафедри хірургії і патофізіології
ім. акад. І. О. Поваженка

А. Й. МАЗУРКЕВИЧ, доктор ветеринарних наук, професор кафедри
хірургії і патофізіології ім. акад. І. О. Поваженка

М. О. МАЛЮК, доктор ветеринарних наук, професор, завідувач кафедри
хірургії і патофізіології ім. акад. І. О. Поваженка

Ю. О. ХАРКЕВИЧ, кандидат ветеринарних наук, старший викладач
кафедри хірургії і патофізіології ім. акад. І. О. Поваженка

**Національний університет біоресурсів і природокористування
України**

E-mail: t_sav4uk@ukr.net

Анотація. Узагальнюючи результати попередніх досліджень з вивчення характеру оптимізації та стимулювання репаративного остеогенезу та перспективність вивчення цієї проблеми, нашою метою було простежити біохімічні зміни під час процесу репаративного остеогенезу в експериментально травмованій кістці за введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин.

Ушкодження кісткової тканини моделювали на кролях 3-місячного віку породи шиншила, в середній третині діафізу великогомілкової кістки. Відбір крові проводили з яремної вени перед проведенням оперативного втручання та на 3, 7, 14, 21, 28 доби після нанесення травми. Біохімічні дослідження робили за допомогою біохімічного аналізатора RT-9600. Отримані результати обробляли статистично.

Наведені результати досліджень біохімічних змін, а саме вмісту Са, Р і активність ЛФ у сироватці крові кролів після експериментального механічного пошкодження кісткової тканини та застосування алогенних мезенхімальних стовбурових клітин. Встановлено, що після введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин процеси регенерації кісткової тканини, де максимальне підвищення вміст Са, Р і активність ЛФ, настає швидше і скоріше приходить до норми порівняно із контрольною групою тварин, починаючи 3 добою і закінчуючи 28 добою дослідження. Це свідчить про те, що стовбурові клітини здатні диференціюватися в остеогенному напрямку та впливати на процеси регенерації кісткової тканини. А за введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин в місце експериментально травмованої кісткової

* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор А. Й. Мазуркевич
©Т. Л. САВЧУК*, А. Й. МАЗУРКЕВИЧ, М. О. МАЛЮК, Ю. О. ХАРКЕВИЧ, 2018

тканини процеси регенерації проходять більш інтенсивніше на відміну від введених аlogenних мезенхімальних стовбурових клітин у яремну вену.

Отримані дані можуть бути використані для розроблення методів і засобів попередження можливих ускладнень в процесі відновлення ушкодженої кісткової тканини, а також для подальших експериментальних досліджень.

Ключові слова: *репаративний остеогенез, кісткова мозоль, мезенхімальні стовбурові клітини, лужна фосфатаза, кальцій, фосфор, кров, сироватка, кістка*

Актуальність. Профілактика можливих розладів репаративного остеогенезу під час лікування тварин за переломів кісток не втратила своєї актуальності і сьогодні. Незважаючи на розвиток фундаментальних досліджень у сфері ветеринарної і гуманної медицини та постійне удосконалення хірургічних технологій, нерідко зустрічаються випадки порушення консолідації кісткових відламків, результатом лікування яких є уповільнення зрощення або незрощення кісткових відламків та утворення хибних суглобів [6].

Загоєння переломів є особливою формою запально-репаративного процесу, який характеризується диференціюванням клітин, їх проліферацією, ремоделюванням новоутвореної кісткової тканини, формуванням органічного позаклітинного матриксу та його мінералізацією [2]. Тому біохімічні показники крові в комплексній оцінці характеру репаративної регенерації можуть слугувати маркерами протікання цього патологічного процесу.

Успішне вирішення даного питання потребує від фахівця чіткого уявлення не тільки про техніку з'єднання та фіксацію відламків окремих кісток, але й фундаментальних знань щодо динаміки змін, які відбуваються в процесі репаративної регенерації, безумовного володіння методами її стимуляції і засобами попередження ускладнень.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Використання стовбурових клітин все більш застосовується у біологічних дослідженнях, з надією на успіх у лікуванні різних ран і травм, на які неможливо ефективно впливати сучасними методами лікування [4]. Вченими доведено, що червоний кістковий мозок містить мезенхімальні стовбурові клітини, які здатні до диференціювання в кісткову, хрящову, м'язову та інші види тканин, що дозволяє широко застосовувати такі клітини для прискорення регенерації різних тканин [8, 10].

У літературі найбільш широко представлені розробки з отримання та культивування стовбурових клітин кісткового мозку [8, 9]. Дослідники пов'язують можливість застосування стовбурових клітин за їх трансплантації на біосумісних носіях [4, 10].

Однак, для практичного застосування мезенхімальних стовбурових клітин необхідні додаткові дослідження, в тому числі з використанням їх у репаративній регенерації кісткової тканини, що і стало предметом даного дослідження.

На даний час є безліч методів контролю процесів регенерації кістки, хоча перевагу потрібно надавати неінвазивним методам [1]. Всі біохімічні реакції, які супроводжують процеси загоєння дефекту, опосередковані відповідними ферментами та гормонами і призводять до зсуву деяких констант крові. Сучасні методи дослідження дозволяють одночасно контролювати до 10 біохімічних параметрів метаболізму кісткової тканини, які характеризують ступінь синтезу та резорбції кісткової тканини [7], але найбільш доступними і показовими є контроль активності лужної фосфатази та вмісту кальцію і фосфору в крові тварин.

Водночас, науковці та практичні лікарі намагаються вплинути на перебіг репаративного процесу, приділяючи увагу, переважно, технічним питанням забезпечення умов активного перебігу репаративного остеогенезу [2, 5].

Тому поєднання технічних прийомів має базуватись на глибокому розумінні характеру ушкодження та індивідуальних особливостей організму тварини, є надзвичайно актуальним і перспективним для хірургів у вирішенні проблем оптимізації та стимулювання репаративного остеогенезу, а біохімічні дослідження дадуть нам відповіді на зміни, які відбуваються у кістковій тканині в різні терміни регенерації.

Мета дослідження – провести комплексну оцінку змін вмісту кальцію і фосфору та активності лужної фосфатази у сироватці крові кролів в різні терміни репаративної регенерації кістки за введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин.

Матеріали і методи дослідження. Експеримент проведений на 20 кролях-самках 3-місячного віку породи шиншила, масою тіла 2,5–3 кг. Утримання дослідних тварин та використання їх в експериментах відповідало вимогам «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (15.12.2009. Відомості ВР, 2010, №9).

Ушкодження кісткової тканини моделювали в середній третині діяфізу великогомілкової кістки, з медіальної поверхні у вигляді нанесення дірчастого дефекту. Дефект наносили за допомогою хірургічного свердла діаметром 2,5 мм під загальним наркозом тварини («Золетіл» з розрахунку 0,05 мг/кг ваги). В місці розрізу шкіри проводили місцеву анестезію 0,5 % розчином новокаїну. Оперативне поле розміром 2×2 см вибрили та дворазово обробляли 5 % розчином йоду (метод Філончикова). Всі процедури з оперативного втручання проводили відповідно до вимог асептики та антисептики. Після формування дефекту операційну рану зашивали, тварин виводили з наркозу та утримували в стаціонарних умовах кафедри хірургії і патофізіології ім. акад. І. О. Поваженка.

Тварини після формування у них дефекту були розділені на три групи по 5 тварин в кожній: контрольна група, яким на наступну добу після нанесення травми одноразово вводили фізрозчин; I дослідна група, яким вводили алогенні МСК у кровоносне русло на наступний день після нанесення травми одноразово в дозі $3,5 \times 10^6$; II дослідна група, яким

вводили алогенні МСК в місце дефекту на наступний день після нанесення травми одноразово в дозі $3,5 \times 10^6$. Також інтактна група, яка складалася з 5 клінічно здорових тварин.

Кров для аналізів у кролів відбирали з яремної вени перед проведенням оперативного втручання та через 3, 7, 14, 21, 28 діб після нанесення травми. Біохімічні дослідження проводили в ветеринарній лабораторії "Бальд", за допомогою біохімічного аналізатора RT-9600, з використанням комерційних наборів фірми «Филисит-Діагностика» (Україна) згідно інструкції [3].

Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми MS Excel 2007, із використанням критерію t° Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Нами було встановлено, що у дослідних тварин у вихідному стані досліджувані біохімічні показники сироватки крові не виходили за межі фізіологічних параметрів. Так вміст Са становив 2,87 ммоль/л, Р – 2,46 ммоль/л, активність ЛФ – 90 Од/л (табл. 1).

На 3 добу після нанесення травми динаміка біохімічних показників сироватки крові у кролів контрольної групи характеризувалася зменшенням вмісту Са на 15 % порівняно з інтактними тваринами, що очевидно, є наслідком втрати основного елемента кістки після нанесення дефекту (табл. 1).

1. Біохімічні показники сироватки крові кролів на 3 добу експерименту після застосуванні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин ($M \pm m, n = 5$)

Група тварин	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	ЛФ, Од/л
Клінічно здорові тварини (вихідний стан)	$2,87 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,03$	$90,0 \pm 6,52$
Інтактні тварини	$2,89 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,06$	$91,0 \pm 6,77$
Контроль (патологія)	$2,46 \pm 0,05^{***}$	$2,54 \pm 0,03$	$130,0 \pm 7,02^{**}$
I дослідна група – введення алогенних МСК в кровеносну судину (яремна вена)	$3,52 \pm 0,12^{***}$	$2,2 \pm 0,10^*$	$92,0 \pm 6,52^{**}$
II дослідна група – введення алогенних МСК в місце експериментального травмування	$3,63 \pm 0,09^{***}$	$2,32 \pm 0,09$	$94,0 \pm 2,76^{**}$

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Для тварин контрольної групи за контроль взято біохімічні показники крові інтактних тварин, для тварин дослідних груп – біохімічні показники крові у цей період тварин контрольної групи

Встановлено що у крові тварин контрольної групи зростає активність ЛФ на 30% порівняно з інтактними тваринами. Як відомо, цей фермент є мембранозв'язаним і знаходиться на поверхні остеобластів. Тому значне зростання його активності можна пояснити руйнуванням остеобластів в зоні травми та елімінацією в кровеносне русло, а також зростанням інтенсивності

проліферативних процесів. Показник Р в даний термін експерименту був невірогідний і тому не піддавався інтерпретації (табл.1).

У тварин I дослідної групи, яким вводили алогенні МСК в яремну вену, вміст Са був збільшений на 43 % порівняно з контролем та на 20 % - порівняно з інтактними тваринами в цей період досліджень, що можна пояснити формуванням тканинноспецифічних елементів кістки і мобілізацією макроелементу для забезпечення цих процесів, оскільки він є основним елементом кістки. Поряд із цим активність ЛФ знизилась на 29 % порівняно з контрольними тваринами та тільки на 1 % була вищою від інтактних тварин, що може бути ознакою розвитку відновлювальних процесів у пошкодженій тканині кістки. Також відмічалось зменшення Р на 13 % порівняно з контрольними тваринами і на 11 % порівняно з інтактними тваринами, що можна вважати використання даного елементу у відновленні місця дефекту (табл. 1).

У тварин II дослідної групи, яким вводили алогенні МСК в місце дефекту, вміст Са збільшився на 47 % порівняно з контролем та на 20 % - порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про більш виражену інтенсивність формуванням тканинноспецифічних елементів кістки і процесів утворення кісткового матриксу. Водночас активність ЛФ знизилась на 27 % порівняно з контрольною групою тварин та збільшилась всього на 3 % порівняно з інтактними тваринами, що можуть свідчити про розвиток відновлювальних процесів у пошкодженій тканині кістки. Дані Р були невірогідні і тому не піддавався інтерпретації (табл. 1).

На 7 добу після моделювання дефекту у тварин контрольної групи активність ЛФ зросла на 14 % порівняно з інтактними тваринами в цей період дослідження, що є показником зростання інтенсивності процесів осифікації в ділянці ушкодження структурної організації кістки. Разом з тим, вміст Са та Р в сироватці крові зросли на 7 % і 6 % порівняно з інтактними тваринами, що можна пояснити початком формування тканинноспецифічних елементів кістки і мобілізацією для цього зазначених макроелементів із депо материнської кістки (табл. 2).

У тварин I дослідної групи активність ЛФ підвищився на 38 % порівняно з тваринами контрольної групи і на 46 % - порівняно з інтактними тваринами в цей період, що свідчить про формування кісткової мозолі та інтенсивний остеогенез. Разом із тим, показники вмісту Са і Р у сироватці крові були невірогідні і тому не піддавалися інтерпретації (табл. 2).

У тварин II дослідної групи відмічалось значне підвищення активності ЛФ у 2,1 раза порівняно з контрольною групою та у 2,5 раза порівняно з інтактними тваринами в цей період, що свідчить про інтенсивний остеогенез і формування кісткової мозолі. А зниження вмісту Са на 14% порівняно з тваринами контрольної групи і на 7% порівняно з інтактними тваринами в цей період свідчить про інтенсивне використання даного макроелементу у відновленні структури кістки. Показники Р не піддавався інтерпретації так, як були невірогідні (табл. 2).

2. Біохімічні показники сироватки крові кролів на 7 добу експерименту після застосуванні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин ($M \pm m$, $n = 5$)

Група тварин	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	ЛФ, Од/л
Клінічно здорові тварини (вихідний стан)	$2,87 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,03$	$90,0 \pm 6,52$
Інтактні тварини	$2,87 \pm 0,04$	$2,44 \pm 0,05$	$90,0 \pm 6,01$
Контроль (патологія)	$3,09 \pm 0,04^{**}$	$2,6 \pm 0,08$	$105,0 \pm 6,52$
I дослідна група – введення алогенних МСК в кровоносну судину (яремна вена)	$3,05 \pm 0,08$	$2,9 \pm 0,15$	$168,0 \pm 9,27^{***}$
II дослідна група – введення алогенних МСК в місце експериментального травмування	$2,67 \pm 0,07^{**}$	$2,7 \pm 0,15$	$223,0 \pm 19,05^{***}$

Примітка * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Для тварин контрольної групи за контроль взято біохімічні показники крові інтактних тварин, для тварин дослідних груп – біохімічні показники крові у цей період тварин контрольної групи

На 14 добу у тварин контрольної групи відмічалася максимальна активність ЛФ, яка зросла у 3,6 раза порівняно з інтактними тваринами в цей період дослідження. Такі зміни можуть свідчити про активне формування кісткової мозолі, а збільшення вмісту Са на 21% і зменшення вмісту Р на 15% порівняно з інтактними тваринами, свідчить про інтенсивний остеогенез у травмованій кістці (табл. 3).

У тварин I дослідної групи відмічалася значне зниження активність ЛФ на 47 %, вміст Са – на 15 % і збільшення вмісту Р – на 32 % порівняно з контрольною групою тварин в цей період, але порівняно з інтактними тваринами біохімічні показники сироватки крові були підвищені: активність ЛФ – на 47%, вміст Са – на 7%, вміст Р на – 21%, що може свідчити про певну стадійність перебудови у кістковій тканині на місці дефекту та зменшення кісткової мозолі за введення алогенних МСК у кровоносне русло (табл. 3).

У тварин II дослідної групи також відмічалася значне зниження активність ЛФ – на 47 %, вмісту Са – на 14 % і збільшення вмісту Р – на 25 % відносно тварин контрольної групи в цей період, порівняно з інтактними тваринами біохімічні показники сироватки крові також були підвищені як і у тварин I дослідної групи, а саме: активність ЛФ – на 48%, вміст Са – на 8%, вміст Р на – 12%, що може свідчити про схожість процесів, які відбуваються в тварин I дослідної групи, але вже при веденні алогенних МСК в місце дефекту, які відрізнялися інтенсивнішим перебігом (табл. 3).

На 21 добу експерименту у тварин контрольної групи спостерігається завершальні етапи формування новоутвореної кістки та формування кісткової мозолі. Так, вміст Р та Са приходить до норми, активність лужної фосфатази різко знижується порівняно з 14 добою

експерименту, але ще вища відносно сироватки інтактних тварин на 32 % в цей період досліджень, що може свідчити про початок ремоделювання новоутвореного кісткового матриксу (табл. 4).

3. Біохімічні показники сироватки крові кролів на 14 добу експерименту після застосуванні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин ($M \pm m$, $n = 5$)

Група тварин	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	ЛФ, Од/л
Клінічно здорові тварини (вихідний стан)	$2,87 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,03$	$90,0 \pm 6,52$
Інтактні тварини	$2,88 \pm 0,33$	$2,46 \pm 0,03$	$92,0 \pm 5,51$
Контроль (патологія)	$3,64 \pm 0,03^{***}$	$2,10 \pm 0,05^{***}$	$331,0 \pm 25,06^{***}$
I дослідна група – введення алогенних МСК в кровеносну судину (яремна вена)	$3,09 \pm 0,04^{***}$	$3,10 \pm 0,05^{***}$	$174,0 \pm 4,26^{***}$
II дослідна група – введення алогенних МСК в місце експериментального травмування	$3,13 \pm 0,05^{***}$	$2,80 \pm 0,03^{***}$	$177,0 \pm 1,25^{***}$

Примітка * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Для тварин контрольної групи за контроль взято біохімічні показники крові інтактних тварин, для тварин дослідних груп – біохімічні показники крові у цей період тварин контрольної групи

У тварин I дослідної групи відмічалось зниження активності ЛФ на 28 % порівняно з тваринами контрольної групи в цей період досліджень та наближалася до показника інтактних тварин, що може свідчити про завершальні стадії у регенерації кісткової тканини, зменшення кісткової мозолі та ремоделювання регенерату. Показники вмісту Са та Р були невірні і не бралися до уваги. Водночас у тварин II дослідної групи відбувалися такі самі процеси, як і у тварин I дослідної групи, проте, з більш інтенсивнішим перебігом (табл. 4).

Вміст Р у сироватці крові тварин контрольної групи на 28 добу після експериментального травмування знизився на 19 % порівняно з інтактними тваринами, вміст Са та активність ЛФ була підвищена на 13 % і 35 % порівняно з інтактними тваринами в цей період досліджень, що може свідчити про завершальні стадії у регенерації кісткової тканини, мобілізацію для осифікації новоутвореного матриксу, зменшення кісткової мозолі та ремоделювання регенерату (табл. 5).

У тварин I дослідної групи біохімічні показники сироватки крові на 28 добу експерименту наближалися до показників інтактних тварин в цей період досліджень і порівняно з контрольною групою тварин активність ЛФ знизилась на 28 %, вміст Р збільшився на 13 %. Такі зміни можуть свідчити про зменшення кісткової мозолі, зміцнення новоутвореної кістки та завершальні стадії процесів регенерації кісткового дефекту. Показники вмісту Са були невірні і не бралися до уваги (табл. 5).

4. Біохімічні показники сироватки крові кролів на 21 добу експерименту після застосуванні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин ($M \pm m$, $n = 5$)

Група тварин	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	ЛФ, Од/л
Клінічно здорові тварини (вихідний стан)	$2,87 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,03$	$90,0 \pm 6,52$
Інтактні тварини	$2,86 \pm 0,05$	$2,48 \pm 0,04$	$89,0 \pm 6,27$
Контроль (патологія)	$2,91 \pm 0,15$	$2,40 \pm 0,13$	$131,0 \pm 10,53^*$
I дослідна група – введення алогенних МСК в кровоносну судину (яремна вена)	$3,19 \pm 0,07$	$2,60 \pm 0,10$	$94,0 \pm 4,26^*$
II дослідна група – введення алогенних МСК в місце експериментального травмування	$3,21 \pm 0,05$	$2,70 \pm 0,08$	$115,0 \pm 6,27$

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$. Для тварин контрольної групи за контроль взято біохімічні показники крові інтактних тварин, для тварин дослідних груп – біохімічні показники крові у цей період тварин контрольної групи

5. Біохімічні показники сироватки крові кролів на 28 добу експерименту після застосуванні алогенних мезенхімальних стовбурових клітин ($M \pm m$, $n = 5$)

Групи тварин	Са, ммоль/л	Р, ммоль/л	ЛФ, Од/л
Клінічно здорові тварини (вихідний стан)	$2,87 \pm 0,04$	$2,46 \pm 0,03$	$90,0 \pm 6,52$
Інтактні тварини	$2,87 \pm 0,05$	$2,46 \pm 0,05$	$90,0 \pm 6,27$
Контроль (патологія)	$3,31 \pm 0,04^{***}$	$2,0 \pm 0,08^{***}$	$138,0 \pm 1,01^{***}$
I дослідна група – введення алогенних МСК в кровоносну судину (яремна вена)	$3,19 \pm 0,04$	$2,3 \pm 0,08^*$	$99,0 \pm 3,26^{***}$
II дослідна група – введення алогенних МСК в місце експериментального травмування	$3,14 \pm 0,02^{**}$	$2,4 \pm 0,08^{**}$	$111,0 \pm 6,27^{**}$

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$. Для тварин контрольної групи за контроль взято біохімічні показники крові інтактних тварин, для тварин дослідних груп – біохімічні показники крові у цей період тварин контрольної групи

Зміни біохімічних показників сироватки крові у тварин II дослідної групи були подібними до тварин I дослідної групи і наближалися до показників інтактних тварин в цей період досліджень, тоді як відносно контрольної групи тварин активність ЛФ знизилась на 20 %, вміст Са знизився на 20 %, а вміст Р збільшився на 17 % (табл. 5).

Досліджено, що у тварин контрольної групи вміст Са та активність ЛФ досягли свого максимуму на 14 добу експерименту, Р досягав максимуму на 7 добу експерименту. У той же час у тварин першої дослідної групи, яким вводили алогенні МСК у яремну вену вміст Са досягав свого максимуму на 3 добу експерименту, а вміст Р та активність ЛФ – на 14 добу експерименту відповідно, що свідчить про швидший перебіг регенеративних процесів в травмованій тканині порівняно з контрольною групою тварин.

У тварин другої дослідної групи, яким вводили алогенні МСК у місце дефекту відмічали, що вміст Са досягав свого максимуму на 3 добу експерименту, активність ЛФ – на 7 добу експерименту, а вміст Р – на 14 добу експерименту. В свою чергу, це свідчить про більш інтенсивні процеси регенерації кісткової тканини порівняно з тваринами контрольної і першої дослідної групи.

Висновки і перспективи. Таким чином, результати біохімічних досліджень сироватки крові кролів свідчать, що процес регенерації кістки, а саме показники вмісту Са, Р та активність ЛФ є характерними для перебігу репаративного остеогенезу і можуть бути прогностичними критеріями процесів остеорепарації травмованої кісткової тканини.

Встановлено, що після введення алогенних мезенхімальних стовбурових клітин у кровоносне русло та в місце дефекту процеси регенерації прискорюються в порівнянні із контрольною групою тварин. Починаючи 3 добою і закінчуючи 28 добою дослідження. Процеси регенерації проходять більш інтенсивно за введення клітинного матеріалу місцево порівняно із системним введенням алогенних мезенхімальних стовбурових клітин.

В подальших дослідженнях планується дані біохімічних показників репаративного остеогенезу підтвердити гістологічними дослідженнями та проаналізувати дані зміни.

Список використаних джерел

1. Лисков, А. В. Новий підхід до стимуляції фізіологічної та репаративного остеогенезу / А. В. Лисков, Б. А. Фролов, С. А. Павловичев // Геній ортопедії. – 2010. – № 3. – С. 34–39.
2. Марков, Д. А. Стимуляція репаративного остеогенеза / Д. А. Марков, Ван Кай, К. К. Левченко // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2007. – № 3. – С. 79–84.
3. Мельничук, Д. О. Ветеринарна клінічна біохімія :навч. посібник /Д. О. Мельничук, В. А. Томчук, В. А. Грищенко, В. І. Цвіліховський, С. Д. Мельничук, І. В. Калінін, В. Г. Спиридонов. – К. : НУБіП України, 2014. – 456 с.
4. Петренко, О. Ф. Особливості переломів кісток у домашніх тварин / О. Ф. Петренко // Ветеринарна медицина України. – 2002. – № 5. – С. 16–17.
5. Петренко, А. Ю. Стовбурові клітини. Властивості та перспективи клінічного застосування / А. Ю. Петренко, Ю. А. Хунов, Е. Н. Іванов. – Луганськ : Прес-експрес, 2011. – С. 365.
6. Ролік, О. В. Незрощення довгих кісток (аналіз, фактори ризику, лікувальна тактика) / О. В. Ролік, І. А. Засаднюк // Ортопедія, травматологія і протезування. – 2005. – № 2. – С. 61–64.

7. Appan, S. Management of diaphyseal humeral fracture using plate rod technique in a dog / S. Appan, M. Shiju Simon, B. C. Das, A. Arun Prasad, R. Suresh kumar // *Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sciences* – 2011.–Vol. 7, Issue 1. – P. 35–38.
8. Clegg, P. D. Evidence-based medicine and stem cell therapy: how do we know such technologies are safe and efficacious / P. D. Clegg // *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.* – 2011. –Vol. 2. – P. 373–382.
9. Hamed, E. Multiscale damage and strength of lamellar bone modeled by cohesive finite elements / E. Hamed, I. Jasiuk // *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.* – 2013. –Vol. 28. – P. 94–110.
10. Thormann, U. Differences of bone healing in metaphyseal defect fractures between osteoporotic and physiological bone in rats / U. Thormann, T. El. Khawassna, S. Ray // *Injury, Int. J. Care Injured.* – 2014. – Vol. 45. – P. 487–493.

References

1. Lyskov, A. V., Frolov, B. A., Pavlovych, S. A. (2010). Novyi pidkhid do stymuliatsii fiziologichnoi ta reparatyvnoho osteohenezu [A new approach to the stimulation of physiological and reparative osteogenesis.]. *Henii ortopedii*, 3, 34–39.
2. Markov, D. A., Van Kay, Levchenko, K. K. (2007). Stymulyatsyya reparatyvnoho osteohenezu [Stimulation of reparative osteogenesis.]. *Saratovskyy nauchno-medytsynskyy zhurnal*, 3, 79–84.
3. Melnychuk, D. O., Tomchuk, V. A., Hryshchenko, V. A., Tsvilikhovskiy, V. I., Melnychuk, S. D., Kalinin, I. V., Spyrydonov, V. H. (2014). *Veterynarna klinichna biokhimiia* [Veterinary clinical biochemistry]. Kyiv : NUBiP Ukrainy, 456.
4. Petrenko, O. F. (2002). Osoblyvosti perelomiv kistok u domashnikh tvaryn [Features of broken bones in pets]. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*, 5, 16–17.
5. Petrenko, A. Yu., Khunov, Yu. A., Ivanov, E. N. (2011). Stovburovi klityny. Vlastyvosti ta perspektyvy klinichnoho zastosuvannya [Stem cells. Properties and prospects of clinical application]. Luhansk: Pres-ekspres, 365.
6. Rolik, O. V., Zasadniuk, I. A. (2005). Nezroshchennia dovhykh kistok (analiz, faktory ryzyku, likuvalna taktyka) [Nonunion of the long bones (analysis, risk factors, treatment)]. *Ortopedyia, travmatolohyia y protezyrovanye*, 2, 61–64.
7. Appan, S., Shiju Simon, M., Das, B. C., Arun Prasad, A., Sureshkumar, R. (2011). Management of diaphyseal humeral fracture using plate rod technique in a dog. *Tamilnadu J. Veterinary & Animal Sciences*, 7 (1), 35–38.
8. Clegg, P. D. (2011). Evidence-based medicine and stem cell therapy: how do we know such technologies are safe and efficacious. *Vet. Clin. North Am Equine Pract.*, 2, 373–382.
9. Hamed, E., Jasiuk, I. (2013). Multiscale damage and strength of lamellar bone modeled by cohesive finite elements. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 28, 94–110.
10. Thormann, U., Khawassna, T. El., Ray, S. (2014). Differences of bone healing in metaphyseal defect fractures between osteoporotic and physiological bone in rats. *Injury, Int. J. Care Injured*, 45, 487–493.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕХАНИЧЕСКОМ ПОВРЕЖДЕНИИ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Т. Л. Савчук, А. Й. Мазуркевич, М. А. Малюк, Ю. А. Харкевич

Аннотация. Обобщая результаты предыдущих исследований по изучению характера оптимизации и стимулирования репаративного остеогенеза и перспективность изучения этой проблемы, нашей целью было проследить биохимические изменения во время процесса репаративного остеогенеза в экспериментально травмированной кости при введении аллогенных мезенхимальных стволовых клеток.

Повреждения костной ткани моделировали на кроликах 3-месячного возраста породы шиншилла, в средней трети диафиза большеберцовой кости. Отбор крови проводили из яремной вены перед проведением оперативного вмешательства на 3, 7, 14, 21 и 28 сутки после нанесения травмы. Биохимические исследования производили при помощи биохимического анализатора RT-9600. Полученные результаты обрабатывали статистически.

Приведены результаты исследований биохимических изменений, а именно содержания Са, Р и активность ЩФ в сыворотке крови кроликов после экспериментального механического повреждения костной ткани и применения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток. Установлено, что после введения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток, процессы регенерации костной ткани, которые характеризуются максимальным повышением содержания Са, Р и активностью ЩФ, наступают быстрее и ткань быстрее приходит в норму по сравнению с контрольной группой животных, начиная с 3 суток и заканчивая 28 сутками исследования. Это свидетельствует о том, что стволовые клетки способны дифференцироваться в остеогенном направлении и влиять на процессы регенерации костной ткани. А при введении аллогенных мезенхимальных стволовых клеток в место экспериментально травмированной костной ткани процессы регенерации проходят более интенсивно в отличие от введенных алогенных мезенхимальных стволовых клеток в яремную вену.

Полученные данные могут быть использованы для разработки методов и средств предупреждения возможных осложнений в процессе восстановления поврежденной костной ткани, а также для дальнейших экспериментальных исследованиях.

Ключевые слова: репаративный остеогенез, костная мозоль, мезенхимальные стволовые клетки, щелочная фосфатаза, кальций, фосфор, кровь, сыворотка, кость

BIOCHEMICAL CHANGES IN SERUM OF RABBITS WITH EXPERIMENTAL MECHANICAL DAMAGE OF THE BONE TISSUE AFTER APPLICATION OF ALLOGENEIC MESENCHYMAL STEM CELLS

T. L. Savchuk, A. I. Mazurkevych, M. O. Maliuk, Y. A. Kharkevich

Abstract. Summarizing the results of previous studies on the nature of the optimization and stimulation of reparative osteogenesis and the potential of studying this problem, our goal was to trace the biochemical changes during