Малая сельскохозяйственная академия при МБОУ Краснообская СОШ №1

Конкурс «Юные исследователи окружающей среды»

секция:

«Зоотехния и ветеринария»

ВЛИЯНИЕ ПАРАКРИННЫХ МЕХАНИЗМОВ

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОСТНОЙ ТКАНИ

Автор: Козенёва Варвара

МБОУ Краснообская СОШ №1, 11 класс

Новосибирская обл., п. Краснообск

Научный руководитель:

Коптев Вячеслав Юрьевич,

кандидат ветеринарных наук,

старший научный сотрудник

ИЭВСиДВ СФНЦА РАН

Контактный телефон руководителя:

+7-903-901-25-33

Краснообск 2018 г

Оглавление

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 1. | Введение | 3 |
| 2. | Литературный обзор | 3 |
| 2.1 | Характеристика кости | 3 |
| 2.2 | Перелом кости. Классификация переломов | 4 |
| 2.3 | Патогенез и регенерация кости при переломе | 5 |
| 2.4 | Паракринные механизмы стволовых клеток | 7 |
| 2.5 | Цитокины | 7 |
| 2.6 | Материалы и методы | 8 |
| 3. | Собственные исследования | 9 |
| 3.1 | Результаты опыта | 9 |
| 3.2 | Анализ рентгеновских снимков поврежденной бедренной кости крыс | 10 |
| 3.3 | Расчет динамики минерализации области дефекта | 11 |
| 3.4 | Результаты биохимического анализа сыворотки крови подопытных крыс | 13 |
| 4. | Заключение | 17 |
| 5. | Список литературы | 18 |

**1.Введение**

Переломы костей является довольно распространённым типом травмы. Процесс регенерации костной ткани проходит достаточно долго. Длительность процесса регенерации зависит от ряда причин – в основном от тяжести костного дефекта при переломах и сопутствующих осложнений.Одним из решений проблемы может служить использование препаратов, содержащих в своем составе цитокины - факторы, выделяемые стволовыми клетками, так как они обладают выраженными регенеративными и противовоспалительными свойствами.

В НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского (г. Москва) был разработан препарат на основе кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток.

Нами было высказано предположение, что данный препарат может быть эффективен при терапии повреждения целостности кости.

Исходя из этого, **целью** нашей работы было:

-изучить влияние паракринных механизмов цитокинов, выделяемых мезенхимальными стволовыми клетками, на регенерацию костной ткани при терапии механических дефектов кости.

Для выполнения цели были поставлены следующие **задачи**:

1.Изучить влияние препарата на основе кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток на регенерацию костной ткани при терапии механических дефектов кости;

2. Изучить динамику биохимических показателей крови крыс при терапии механических дефектов кости препаратом на основе кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток.

**2. Литературный обзор**

**2.1 Характеристика костей**

Кость —[орган](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%80%D0%B3%D0%B0%D0%BD_(%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F)) живого организма. Кость выполняет [опорно-механическую](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D0%BF%D0%BE%D1%80%D0%BD%D0%BE-%D0%B4%D0%B2%D0%B8%D0%B3%D0%B0%D1%82%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D1%81%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BC%D0%B0) и защитную функции, является составной частью [эндоскелета](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BD%D0%B4%D0%BE%D1%81%D0%BA%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D1%82)[позвоночных](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D0%BE%D0%B7%D0%B2%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D1%87%D0%BD%D1%8B%D0%B5), производит [красные](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D1%80%D0%B8%D1%82%D1%80%D0%BE%D1%86%D0%B8%D1%82%D1%8B) и [белые](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B5%D0%B9%D0%BA%D0%BE%D1%86%D0%B8%D1%82%D1%8B) кровяные клетки. Кость может включать в свою структуру: [костный мозг](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%BD%D1%8B%D0%B9_%D0%BC%D0%BE%D0%B7%D0%B3), [эндост](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%AD%D0%BD%D0%B4%D0%BE%D1%81%D1%82), [надкостницу](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%B0%D0%B4%D0%BA%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B0), [нервы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9D%D0%B5%D1%80%D0%B2), [кровеносные сосуды](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D1%81%D0%BD%D1%8B%D0%B5_%D1%81%D0%BE%D1%81%D1%83%D0%B4%D1%8B), [хрящи](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D1%80%D1%8F%D1%89).[1]

Костная ткань — одна из разновидностей плотной соединительной ткани. Кость выполняет опорно-механическую и защитную функции, является составной частью эндоскелетапозвоночных, производит красные и белые кровяные клетки, сохраняет минералы. Кость может включать в свою структуру: костный мозг, эндост, надкостницу, нервы, кровеносные сосуды, хрящи.

Кости состоят из различных клеток костной ткани: [остеобласты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BE%D0%B1%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82)участвуют в создании и минерализации костей, [остеоциты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BE%D1%86%D0%B8%D1%82%D1%8B) поддерживают структуру, а [остеокласты](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BE%D0%BA%D0%BB%D0%B0%D1%81%D1%82%D1%8B) обеспечивают [резорбцию](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D1%81%D1%82%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D1%80%D0%B5%D0%B7%D0%BE%D1%80%D0%B1%D1%86%D0%B8%D1%8F) костной ткани. Минерализованная матрица костной ткани имеет органическую составляющую в основном из [коллагена](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BE%D0%BB%D0%BB%D0%B0%D0%B3%D0%B5%D0%BD) и неорганическую составляющую костной ткани из различных солей. [2]

Различают несколько видов костей: трубчатые, губчатые, плоские и смешанные кости. Они обладают разной структурой и выполняют различные функции в организме.

**2.2. Перелом кости. Классификация переломов**

Перелом кости*(fracture)*– механическоенарушениецелостностикостипри [нагрузке](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%85%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%BE%D0%B5_%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D1%80%D1%8F%D0%B6%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5), превышающей прочность травмируемого участка [скелета](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BA%D0%B5%D0%BB%D0%B5%D1%82). Переломы могут возникать как вследствие [травмы](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%BC%D0%B0), так и в результате различных патологий, разрушающих прочность костной ткани.В процессе восстановления костной ткани происходят сложные общие и местные биологические и биохимические изменения, которые зависят от кровоснабжения кости, возраста больного, общего состояния организма, а также качества лечения.[3]

Типы переломов классифицируют по нескольким критериям.В современных классификациях выделяют типы переломов в зависимости от следующих признаков:

1.По причине возникновения:

• Травматические — вызванные внешним воздействием.

• Патологические — возникающие при минимальном внешнем воздействии вследствие разрушения кости каким-нибудь патологическим процессом(например:опухолевый) .

2. По тяжести поражения

• Полные.

• Без смещения (например, под надкостницей).

3.Со смещением отломков.

• Неполные — трещины и надломы.

4. По форме и направлению перелома:

• Поперечные — линия перелома условно перпендикулярна оси трубчатой кости.

• Продольные — линия перелома условно параллельна оси трубчатой кости.

• Косые — линия перелома проходит под острым углом к оси трубчатой кости.

• Винтообразные — происходит вращение костных отломков, костные отломки «повёрнуты» относительно своего нормального положения.

• Оскольчатые — нет единой линии перелома, кость в месте повреждения раздроблена на отдельные отломки.

• Клиновидные — как правило возникает при переломах позвоночника, когда одна кость вдавливается в другую, образуя клиновидную деформацию.

• Вколоченные — костные отломки смещаются по оси трубчатой кости или располагаются вне основной плоскости губчатой кости.

• Компрессионные — костные отломки мелкие, чёткой, единой линии перелома нет.

5. По целостности кожных покровов:

• Закрытые — не сопровождаются ранениями тканей, проникающих к месту перелома, и не сообщаются с внешней средой.

• Открытые — переломы костей, сопровождающиеся ранениями мягких тканей и сообщающиеся с внешней средой.

6. По осложнениям:

• Осложнённые(с травматическим шоком, повреждением внутренних органов, кровотечением, жировой эмболией, раневой инфекцией, остеомиелитом, сепсисом).

• Неосложнённые.

**2.3. Патогенез и регенерация перелома кости.**

***Симптомы и диагноз перелома.*** Диагноз перелома определяется на основании различных признаков: боль, припухлостьвозле линии перелома, кровоизлияние, укорочение или деформация,ненормальная подвижность, нарушение функции конечности.

Перелом кости сопровождается повреждением прилежащих мягких тканей.Также перелом кости вызывает стрессовую сроитуацию, которая сопровождается местной и общей реакциями организма. [4]

***Процесс регенерации костной ткани.*** В синдроме перелома можно выделить две стадии:

* В первой стадии, катаболической, про­цессы распада доминируют над анаболическими изменениями. Катаболические реакции протекают во всех органах и системах, обеспечивая распределение энергетических ресурсов по всему организму.
* Во второй, анаболической стадии ка­таболические процессы затухают и доминируют реакции синтеза. Это приводит к обновлению тканей не только в области перелома, но и на расстоянии от него в других органах и системах.[3]

Так как скорость восстановления регенерата на разных участках поврежденной кости неопределенная, условно весь цикл восстановления костной ткани принято разделять на четыре фазы.

*Фаза катаболизма тканевых структур.* После травмы возникают омертвения поврежденных тканей и распад клеточных элементов [гематомы](http://www.eurolab.ua/dictionary/4034/).Организм немедленно реагирует на травму местной фагоцитарной реакцией. Наряду с этим продукты распада вместе с гормонами обусловливают репродукцию и пролиферацию различных специализированных клеток (остеоциты, гистиоциты, фиброциты, лимфоидные, жировые и эндотелиальные клетки), которая длится 6—10 дней.

*Фаза дифференцировки клеток.* длится 10—15 дней. Одновременно происходит три типа дифференцировки клеток: фибробластические, хондроидные и остеогенные. Это зависит от условий, при которых происходит репаративныйпроцесс.При идеальных репозиции и фиксации отломков и достаточном кровоснабжении сращение происходит по типу первичного остеогенеза. Дифференцировка большинства клеток сразу направлена на образование остеоидной ткани. Когда фиксация ненадежна или недостаточное кровоснабжение отломков вследствие тяжелых повреждений, дифференцировки клеток происходит путем фиброгенеза с последующей метаплазией в хрящевую и костную ткани.

*Фаза формирования первичного остеона*. образование ангиогенной костной структуры — происходит в течение 16—21 дней. Характеризуется она тем, что возникает полная реваскуляризадия первичной мозоли. Регенерат прорастает капиллярами и начинается минерализация его белковой основы.

*Фаза перестройки первичного регенерата или спонгиозации мозоли*. Это та стадия, на которой формируется пластинчатая костная ткань. Во время перестройки первичного регенерата костный пластинчатый остеон набирает ориентации над силовыми линиями нагрузки, появляется корковое вещество кости, надкостницы и восстанавливается костномозговая полость. Все это приводит к полному восстановлению структуры и функции переломанной кости. В зависимости от локализации [перелома](http://www.eurolab.ua/dictionary/6862/) процесс перестройки и восстановления может длиться от нескольких месяцев до 2—3 лет.[4]

Регенерация костной ткани при переломе в большей степени зависит от того, насколько сильно разрушена кость, местных условий (кровообращение, воспалительные процессы и т.д.), а также смещения отломков.

**2.4. Паракринные функции стволовых клеток**В последние годы все большее внимание уделяется факторам, выделяемым мезенхимальными стволовыми клетками в окружающую их среду, то есть исследуя их паракринную функцию. Неотъемлемое участиепаракринных факторов вкупировании патологического процесса четко показывает использование кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток для лечения острых патологических состояний вэкспериментах. Насегодняшний день известно, что данные паракринные факторы представляют собой различные группы цитокинов, определенный синтез которых могут модулировать стволовые клетки, реагируя на экзогенные воздействия.[5]

**2.5.Цитокины**

Цитокины представляют собой белковые молекулы,которые являются медиаторами межклеточных коммуникаций при иммунном ответе, гемопоэзе иразвитии воспаления, эффекторами некоторых реакций иммунитета и служат связующим звеном между иммунной идругими системами организма.

Различают интракринный, аутокринный, паракринный и эндокринный

механизмы действия цитокинов.Существует классификация, которая делит цитокины на группы по характеру действия:

1. Интерлейкины-регуляторы иммунной системы (обеспечивают взаимодействие в самой системе и ее связи с другими системами).
2. Интерфероны– противовирусные иммунорегуляторы.
3. Факторы некроза опухолей – обладают регуляторным и токсическим действием на клетки.
4. Хемокины – обеспечивают активное перемещение различных видов лейкоцитов и других клеток.
5. Факторы роста – обеспечивают и регулируют рост, дифференцировку и функциональную активность клеток.
6. Колониестимулирующие факторы – стимулируют дифференцировку, рост и размножение ростков гемопоэза (кроветворных клеток).[6]

**2.6 Материалы и методы**

Работа выполнялась в 2017 году на базе лаборатории болезней молодняка Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий РАН (ИЭВСиДВ СФНЦА РАН).

Объектом исследования был препарат на основе кондиционированной среды мезенхимальных стволовых клеток, изготовленный в НИИ скорой помощи им. Н.В.Склифосовского (г. Москва).

Опыт по изучению влияния данного препарата на регенерацию костной ткани при механическом повреждении кости, проводили на белых беспородных крысах линии «Вистар», разделенных по принципу аналогов на три группы(n=9)

Всем животным по правилам асептики и антисептики производилась операция по созданию стоматологическим буром костного дефекта диаметром 2 мм. Опытным группам вводился исследуемый препарат в дозе 300 микролитров каждые 48 часов в течение 20 суток. Третья группа служила контролем. На 7-ые и 21-е сутки производили рентгеноскопию области костного дефекта. Также еженедельноу всех животных производили взятие проб сыворотки крови для проведения биохимических исследований. Также животным всех групп проводились расчет объема дефекта кости и вычисление значения минерализации кости путем вычисления оптической плотности кости на 7-ые и 21-ые сутки с помощью «Image Tools 2.0».

**3. Собственные исследования**

**3.1Результаты исследования**

В качестве средства для общего наркоза использовался препарат «Золетил-100», при соблюдении правил антисептики и асептики, после обработки кожи животных спиртом скальпелем производили разрез кожи в зоне проекции бедренной кости. Методом тупойпрепаровки отслаивали мышцу и обнажали поверхность бедренной кости. Стоматологическим буром делали отверстие диаметром 2 мм в кости. Затем зашивали рану хирургическим шовным материалом «Поликон №2» и обрабатывали рану антисептическим средством «Арговит-спрей».(рис. 1)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| а | b | F:\научечка\научечка\NOkltzHO9oI.jpgc |

Рис.1:Этапы операции по созданию костного дефекта: а- оголение бедренной кости тупым методом препаровки, b-зашивание раны шовным материалом, с- внешний вид раны (1 сутки опыта)

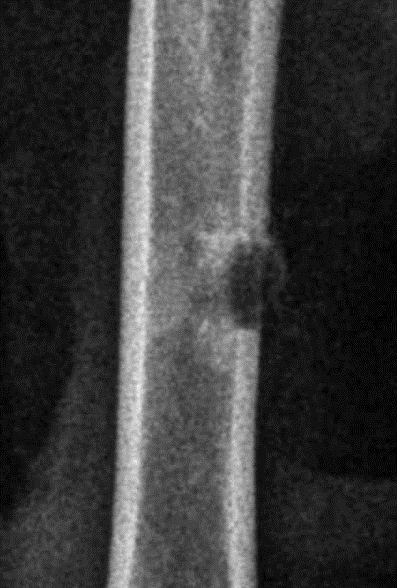
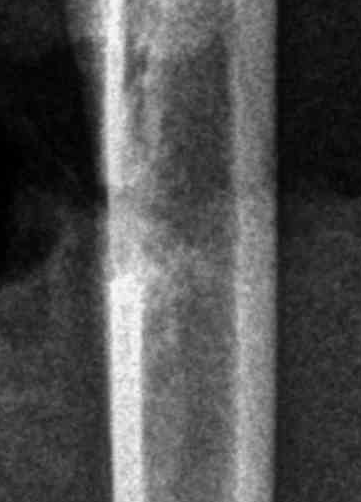
Животным 1-й опытной группы исследуемый препарат вводили подкожно в область раны, в дозе 300 микролитров с интервалом 48 часов в течение 20 суток.

Животным 2-й опытной группы внутримышечно вводили исследуемый препарат 300 микролитров с интервалом 48 часов в течение 20 суток.

Животные 3-й группы служили контролем.

За всеми животными вели ежедневное наблюдение: учитывали общее клиническое состояние, состояние раны и скорость ее заживления, наличие и отсутствие раневой инфекции или других осложнений.

**3.2.Анализ рентгеновских снимков поврежденной бедренной кости крыс.**



(а) (b) (с)

Рис.2: Рентген области костного дефекта на 7 сутки опыта. (а) – 1 группа, (b) – вторая группа, (с) – контроль

По результатам рентгеноскопии следует, что на 7 сутки опыта у первой группы процесс заживление костного дефекта протекает лучше, чем в других группах: наблюдается образование хрящевой мозоли и активизация процесса восстановления остеоидной ткани, что, по литературным данным,указывает на начало минерализации хрящевой мозоли и заполнения костного дефекта губчатым веществом(рис.2).[7] Во второй группе отчетливо прослеживается образование хрящевой мозоли на месте перелома, и наблюдается дифференцировка остеогенных клеток внутри дефекта. У контрольной группы соединительная хрящевая мозоль только начинает образовываться, не видно процессов восстановления компактного слоя кости.

На 21-е сутки опыта заметна разница между регенерацией костной ткани контрольной и опытных групп (рис.3). У животных первой группы отчетливо наблюдается более законченная регенерация компактного вещества, полноценное рассасывание костной мозоли и активизация процесса восстановления структуры кости.



(а) (b) (с)

Рис.3:Рентген области костного дефекта на 21 сутки опыта. (а) – 1 группа, (b) – вторая группа, (с) – контроль

Во второй группе прослеживается частичная оссификация остеоидной ткани и начало процесса восстановления структуры трубчатой кости. В контрольной группе наблюдается неполнаярегенерация компактной вещества и структуры трубчатой кости, выраженное фрагментарным замещением хрящевой мозоли.

**3.3. Расчет динамики минерализации области дефекта**

Расчет динамики объема дефекта с помощью денситометрии подтверждает полученные ранее результаты рентгенографических исследований (рис.4).

Исходя из данных морфометрического анализа видно, что у крыс первой группы на 7 сутки опыта объем костного дефекта на 85% меньше аналогичного показателя контрольной группы. Во второй опытной группе объем костного дефекта на 58% меньше, чем в контроле, но на 27% больше, чем в первой опытной группе.

На 21 сутки опыта у животных первой опытной группы отмечена полная регенерация костной ткани в зоне дефекта. Во второй группе костный дефект присутствует, но его объем меньше, чем в контроле на 74%.

Результаты денситометрии рентгенологических снимков указывают на то, что оптическая плотность дефекта на 7 и 21 сутки у животных первой группы выше, чем в остальных группах. Данный факт объясняется активизацией процесса минерализации кости у животных в первой опытной группе по сравнению с результатами второй опытной группы и в контроле (табл.1).

Рис.4: Объем дефекта бедренной кости (У.Е.)

На 7 сутки опыта средний показатель оптической плотности дефекта в первой группе был больше на 65% по сравнению со второй группой, и на 21% по сравнению с контролем. На 21 сутки, в первой группе оптическая плотность дефекта также выше, чем у животных остальных групп: на 31% в сравнении со второй группой и на 36% в сравнении с контролем.

**Табл.1: Оптическая плотность дефекта бедренной кости подопытных крыс**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Край дефекта справа | Дефект | Край дефекта слева |
|
| ***7 дней*** | | | |
| 1 группа (в область раны) | 228±10 | 173±24 | 208±12 |
| 2 группа (внутримышечно) | 140±22 | 48±10 | 143±22 |
| 3 группа (контроль) | 178±16 | 114±27 | 225±19 |
| ***21 день*** | | | |
| 1 группа (в область раны) | 220±26 | 178±24 | 176±31 |
| 2 группа (внутримышечно) | 190±20 | 110±28 | 168±38 |
| 3 группа (контроль) | 152±30 | 77±12 | 121±21 |

На 21 сутки в первой опытной группе процесс минерализации костного дефекта достиг 100%, в то время как во второй опытной группе он составил 70%, а в контроле 67%. (рис.5).

Рис.5: Минерализация костного дефекта (%)

**3.4.Результаты биохимического анализа сыворотки крови подопытных крыс**

Данные рентгеноскопии подтверждаются результатами биохимических исследований сыворотки крови опытных животных. Обмен минеральных веществ в организмево время регенерации костной ткани (табл.2)

**Табл.2:Биохимические показатели минерального обмена в сыворотке крови подопытных крыс**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Название анализов** | **кол-во дней** | **1 группа (в область раны)** | **2 группа (внутримышечно)** | **3 группа (контроль)** |
|
| Сa(mmol/L) | ***7 дней*** | 2,35±0,07\* | 2,11±0,02\* | 1,9±0,07 |
| PHO(mmol/L) | 1,76±0,2 | 1,53±0,03\* | 2,06±0,08 |
| Alp (E/L) | 1097,26±24,95\* | 779,76±38,24\* | 1216,67±23,89 |
| Сa(mmol/L) | ***14 дней*** | 2,02±0,06\* | 2,26±0,07\* | 1,9±0,02 |
| PHO(mmol/L) | 2,07±0,04\* | 1,88±0,08\* | 1,9±0,02 |
| Alp (E/L) | 903,3±41,55\* | 706,06±75,66\* | 1084,7±29,83 |
| Сa(mmol/L) | ***21 день*** | 1,05±0,006\* | 1,07±0,001\* | 0,91±0,2 |
| PHO(mmol/L) | 2,02±0,03\* | 2±0,06\* | 2,18±0,04 |
| Alp (E/L) | 7±2,3\* | 10,83±0,7\* | 13,86±0,1 |

*Примечание:\*- статистически достоверно по сравнению с контролем(P<0,05)*

На 7-е сутки у всех опытных групп наблюдается повышенное содержание кальция в крови.У животных 1-ой группы показатели общего белка повышены на 23% по сравнению с контролем, что связано с резорбцией минеральных веществ из костного дефекта в кровь. (рис.6)Также, такой вывод можно сделать исходя из повышенных показателей содержания фосфора в крови. Это доказывает, что процесс регенерации костного дефекта в 1-ой группе происходит быстрее, чем в остальных.



Рис.6:Уровень кальция в сыворотки крови животных (mmol/L)

На 14-е сутки опыта заметно повышение минерального обмена, поэтому в 1-ой и 2-ой группе наблюдается повышение кальция и фосфора на 18% и на 6% по сравнению с показателями животных контрольной группы. Но, по сравнению с результатами показателей 7-ых суток, заметна тенденция нормализации показателей.

На 21-е сутки опытанаблюдаетсяпонижение уровня кальция, повышение фосфора, обусловленная окончанием процесса регенерации костной ткани и нормализацией минерального обмена веществ в организме.

Рис.7: Уровень щелочной фосфатазы в сыворотки крови у животных(E/L)

Также на 7-е сутки опыта наблюдается высокое содержание щелочной фосфатазы указывает на активизацию работы остеобластов(рис.7). На 21-е сутки опыта уровень щелочной фосфатазы резко уменьшается, что указывает на нормализацию показателей минерального обмена.

Белковый обмен в организме во время регенерации костной ткани(табл.3)

**Табл.3: Биохимические показатели белкового обмена в сыворотке крови подопытных крыс**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Название анализов** | **кол-во дней** | **1 группа (в область раны)** | **2 группа (внутримышечно)** | **3 группа (контроль)** |
|
| TP(g/L) | ***7 дней*** | 46,82±1,37\* | 48,05±2,8\* | 57,05±3,33 |
| ALB(g/L) | 22,83±0,2\* | 23,44±0,1 | 26,22±1,01 |
| URE(mmol/L) | 5,47±0,05\* | 5,51±0,02\* | 8,13±0,08 |
| TP(g/L) | ***14 дней*** | 37,86±4,16\* | 59,85±0,9\* | 51,94±0,7 |
| ALB(g/L) | 14,98±12,1 | 21,83±0,1\* | 23,65±0,27 |
| URE(mmol/L) | 7,19±0,04\* | 6,27±0,15 | 6,29±0,09 |
| TP(g/L) | ***21 день*** | 43,97±2,6\* | 74,44±14,1 | 55,33±6,53 |
| ALB(g/L) | 21,83±0,4\* | 28,07±0,08\* | 27,31±0,05 |
| URE(mmol/L) | 5,65±0,2\* | 6,54±0,02\* | 6,94±0,16 |

*Примечание:\*- статистически не достоверно по сравнению с контролем(P>0,05)*

По результатам биохимического анализа сыворотки крови следует, что на 7-ые сутки опыта наблюдается понижение уровня белка в опытных группах, по сравнению с контрольной группой (рис.8). На основании литературных данных, мы предположили, что этот процесс происходит из-за активизации процесса образования костной мозоли. В 1-ой группе, кроме понижения белка, который на 18% ниже результата контрольной группы, наблюдается понижение уровня альбуминов(на 13%).



Рис.8:Уровень кальция в сыворотки крови животных (mmol/L)

На 14 сутки опыта наблюдается понижение общего белка и альбумина в 1-ой группе на 27% и на 37% соответственно по сравнению с показателями контрольной группы. Результаты 14-х суток 1-ой группы ниже,чем результаты 7 суток, что, по литературным данным, связано с окончанием образования костной мозоли и с переходом организма к активной регенерации компактного и губчатого веществ кости.[8]В контроле и во 2-ой группе такая тенденция не наблюдается, что указывает на то, что процесс создания костной мозоли только начинается.

На 21 сутки происходит нормализация белкового обмена, обусловленная повышением показателей анализов во всех группах, по сравнению с 7-ми и 14-ми сутками, что указываетна окончаниепроцесса регенерации костной ткани.



Рис.9:Уровень мочевины в сыворотке крови животных(mmol/L)

Также, кроме понижения белка, на 7-е и 14-е стуки опыта наблюдается понижение уровня мочевины в опытных группах(рис.9). Пониженное содержание мочевины у опытных групп на 7-е сутки опыта, по сравнению с контрольной группой, указывает на замедление процесса выведения белка из организма.

**4.Заключение**

Цитокины мезенхимальных стволовых клеток за счет действия паракринных механизмов оказывают выраженное влияние на регенерацию костной ткани.

При терапии костных механических дефектов применение препарата на основе культуральной среды мезенхимальных стволовых клеток активизирует процесс минерализации костной ткани, что сопровождается уменьшением объема дефекта и стимулирует процессы дифференцировки остеогенных клеток, регенерацию губчатого и компактного вещества и восстановление структуры кости за счет активизации работы остеобластов. Также при применении данного препарата наблюдается повышения уровня кальция и фосфора в крови. Максимальный эффект достигается при введении исследуемого препарата в дозе 0,3 мл подкожно в поврежденную конечность, с интервалом 48 ч.

**Список литературы.**

1.Кости // Энциклопедический словарь Брокгауза и Ефрона : в 86 т. (82 т. и 4 доп.). — СПб., 1890—1907.

2.«Анатомия человека»: учебник для студ.высш.учеб. заведений/ [Привес М.Г., Лысенков Н.К., Бушкович В.И]; под ред. М.Г.Привеса. —9-е издание перераб. и доп.—М.: Издательский центр «Медицина»-1985.

3.Травматология и ортопедия: Учебник / Под ред. проф. В. М. Шаповалова, проф. А. И. Грицанова, доц. А. Н. Ерохова. — СПб: ООО «Издательство Фолиант», 2004. — 544 с.: ил.

4. Травматология и ортопедия : учебник для студ. высш. учеб, заведений / Т65 [Г. М. Кавалерский, Л. Л. Силин, А. В. Гаркави и др.] ; под ред. Г. М. Кавалерского. — 2-е изд., перераб. и доп. — М. : Издательский центр «Академия», 2008. — 624 с.

5. М.Ш.Хубутия, А.В. Вагабов, А.А.Темнов, А.Н.Склифас. -Паракринные механизмы противовоспалительного и органопротективного действия при трансплантации мезенхимальных стволовых клеток.

6. Симбирцев А.С. Цитокины новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. — 2002.

7.Изменение биохимический показателей крови при травмах у *laruscanus*

—Пономарев В.А., Клетикова Л.В., Пронин В.В., Якименко Н.Н.

8. СПРАВОЧНИК.Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных—[Т.В.Абрашова, Я.А.Гущин, М.А.Ковалева, А.В.Рыбакова, А.И. Селезнева, А.П. Соколова, С.В. Ходько]; под ред. В.Г Макарова, М.Н Макаровой.—СПБ.:Издательство «Лема»-2013.-116 с.