

**Національна академія наук України  
Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України**

**ЛІХІЦЬКИЙ ОЛЕКСІЙ ОЛЕКСІЙОВИЧ**



УДК 616.361:618.46]:57.086.13:616.716.4-0015-007.234-003.9-092.4

**ЗАСТОСУВАННЯ  
КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ТКАНИНИ ПЛАЦЕНТИ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ  
ПРОЦЕСІВ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ НИЖНЬОЇ ЩЕЛЕПИ ПРИ  
АНГУЛЯРНОМУ ПЕРЕЛОМІ НА ТЛІ ОСТЕОПОРОЗУ  
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

14.01.35 – кріомедицина

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Харків – 2020

**Дисертацією є рукопис.**

Робота виконана у Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

**Науковий керівник:** академік НАН України,  
доктор медичних наук, професор  
**Гольцев Анатолій Миколайович,**  
Інститут проблем кріобіології і  
кріомедицини НАН України, м. Харків  
директор, завідуючий відділом  
кріопатофізіології і імунології.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор  
**Шепітько Володимир Іванович,**  
ВДНЗ України «Українська медична  
стоматологічна академія» МОЗ України,  
завідувач кафедри гістології,  
цитології та ембріології, м. Полтава;

доктор медичних наук, професор  
**Соколова Ірина Іванівна,**  
Харківський національний медичний університет,  
завідувач кафедри стоматології.

Захист відбудеться «31» березня 2020 р. о 13:30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 в Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61016 м. Харків, вул. Переяславська, 23.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України за адресою: 61016 м. Харків, вул. Переяславська, 23.

Автореферат розісланий «29» лютого 2020 р.

**Вчений секретар**  
**спеціалізованої вченої ради Д64.242.01**  
**кандидат біологічних наук**



**О.В. Фалько**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми.** Найбільші перспективи в галузі регенеративної медицини і біології пов'язані з розвитком кріобіології (Грищенко В. І., 2008; Гольцев А. Н., Юрченко Т. Н., 2013). Кріоконсервована тканина плаценти (КТП) застосовується для лікування різних захворювань, в етіопатогенезі яких є наявність запальних, імунологічних, ендокринних, метаболічних порушень. В клінічній практиці КТП використовують при лікуванні: інсулінозалежного цукрового діабету (Van Linthout S. et al., 2017), ішемічної хвороби серця (Roy R. et al., 2013), імунологічних форм невиношування вагітності, фетоплацентарної недостатності та гіпоксії плода (Грищенко Н. Г., Геродес А. Г., Перлыгин И. В., 2011; Кузнецова И. В. и др., 2013), подагричного артрита (Юрченко Т. Н., Капустянская А. А., Шепитько В. И., 2013), ниркової недостатності (Кондаков И. И. и др., 2012), тощо. Лікувальну дію КТК пов'язують з вмістом у її складі біологічно активних складових, а саме гормонів, факторів росту, вітамінів, цитокінів, стовбурових клітин, мікроелементів та ін. (Строна В. І., Юрченко Т. М., 2014; Garrod A. et al., 2013; Liu W. et al., 2014).

Встановлено, що застосування КТП при лікуванні травматичних ушкоджень кісток чинить активуючий вплив, який проявляється підвищенням утворенням остеобластів і їх переходом в остецити, прискоренням утворенням кісткової мозолі (Березка Н. И., 2011). Це дає підстави припустити доцільність використання КТП у якості коректора остеогенезу при переломах нижньої щелепи (ПНЩ) на тлі остеопорозу (ОП) може мінімізувати наслідки запальної і судинної реакції, біохімічних зрушень, порушення системного та локального імунного гомеостазу.

Існуючі хірургічні методи лікування ПНЩ, не дозволяють проводити повну репозицію і фіксацію кісткових відламків та уникнути післятравматичних і післяопераційних ускладнень (Копчак А. В., 2014; Фаренюк О. О., 2014; Taylor C. L. et al., 2017). Крім того ці методи переважно розраховані і застосовуються для лікування переломів, які виникають на кістці без ознак остеопорозу. Тим не менш, переломи нижньої щелепи, які зумовлені порушенням репарації і низьким рівнем кальцію, є достатньо поширеними і потребують застосування сучасних фармпрепаратів для підвищення щільності і нормалізацію структури кісткової тканини (Зекий А. О., Зекий О. Е., 2014; Dodd D. Z., Rowe D. J., 2013; Zhou H. H. et al., 2013). Однак застосування таких препаратів не є ефективним у випадку ПНЩ на тлі остеопорозу і результати лікування знаходять своє відображення у невтішній статистиці показників захворюваності, інвалідизації у пацієнтів обох статей і різних вікових груп (Arosarena O., Ducic Y., Tollefson T. T., 2012; Robbins J. A. et al., 2014). Особливою групою пацієнтів з складними травмами кісток щелепи є представники військового контингенту із зони АТО, які потребують високоефективної і якісної терапії яка б дозволила скоротити термін лікування (Гайда І. М., 2016).

З огляду на вищезазначене доцільним є дослідження ефективності застосування КТП окремо і у поєднанні зі сполуками, що містять кальцій, а саме – кальція цитратом (КЦ) на експериментальній моделі *in vivo*, яка є аналогом конкретної клінічної ситуації – ангулярного перелому нижньої щелепи на тлі остеопорозу (АПНЩ).

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Робота виконувалась в Інституті кріобіології і кріомедицини НАН України в рамках відомчої науково-дослідної роботи «Вплив кріоконсервованої тканини плаценти людини для корекції репаративного остеогенезу нижньої щелепи щурів на тлі остеопорозу» (№ державної реєстрації: 0118U003454).

**Мета дослідження.** Дослідити дію кріоконсервованої тканини плаценти людини як самостійно, так і у поєднанні з кальція цитратом на перебіг репаративного остеогенезу, обґрунтувати можливість їх використання в умовах розвитку експериментального травматичного процесу в кістці нижньої щелепи щурів на тлі остеопорозу.

Реалізація поставленої мети здійснювалась шляхом вирішення наступних завдань:

1. Відтворити моделі патологічних процесів у нижній щелепі експериментальних тварин (остеопороз, відкритий АПНЩ на тлі остеопорозу).

2. Визначити предикторні маркери перебігу репаративного остеогенезу у щурів з переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу.

3. Дослідити в динаміці методом рентгенаналіза зміни в зоні відкритого АПНЩ щурів на тлі остеопорозу та після застосування КТП – окремо і у комбінації з КЦ.

4. Встановити особливості гістологічних змін кісткової тканини нижньої щелепи щурів при відкритому АПНЩ на тлі остеопорозу та після застосування КТП – окремо та в поєднанні з КЦ.

5. Дослідити в порівняльному аспекті вплив окремо застосованої КТП або разом з КЦ на показники метаболічних маркерів стану кісткової тканини, показники імунзапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу в різні терміни репаративного остеогенезу у щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу.

6. Дослідити рівень вираженості імунзапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу за їх показниками в сироватці крові, а також маркерів метаболізму кісткової тканини в різні терміни репаративного остеогенезу у щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу.

*Об'єкт дослідження* – структурно-функціональний стан кістки нижньої щелепи щурів після травматичного ушкодження на тлі остеопорозу до та після застосування КТП – окремо та у поєднанні з КЦ.

*Предмет дослідження* – рентгенологічні, біохімічні, морфологічні показники стану кісткової тканини щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу і динаміка їх змін після застосування КТП - окремо та у поєднанні з КЦ.

*Методи дослідження:* рентгенографічний – для оцінки динаміки показників репаративного остеогенезу; гістологічного аналізу за даними світлової мікроскопії – для вивчення структурної організації кістки та матриксу досліджуваних тканин при травматичному ушкодженні нижньої щелепи, а також оцінки структурних змін у кістковій тканині під впливом кріоконсервованої тканини плаценти людини та у комбінації з кальція цитратом; імуноферментні та біохімічні методи – для оцінки ролі імунзапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу та показників метаболізму кісткової тканини в сироватці крові в різні терміни репаративного остеогенезу; методи математичної статистики – для статистичного

аналізу результатів імуноферментного та біохімічного дослідження.

**Наукова новизна отриманих результатів.** У роботі вперше визначена і експериментально обґрунтована можливість і ефективність застосування КТП, самостійно та у поєднанні з КЦ, для лікування відкритого ангулярного перелому нижньої щелепи на тлі остеопорозу; доведено стимулюючий вплив КТП на процеси проліферації та диференціювання клітинних та тканинних компонентів зони ушкодження, визначені структурні та функціональні зміни, які відбуваються в кістковій тканині в динаміці репаративного остеогенезу після травматичного ушкодження, до та після проведеного лікування.

Вперше визначено характер змін показників цитокінового профілю сироватки крові в різні строки репаративного остеогенезу у щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу. Встановлено, що вміст в сироватці крові прозапальних цитокінів – фактору некрозу пухлин  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ) та інтерлейкіну 8 (IL-8) зростає вже на першому тижні після перелому, досягає максимуму на 14-21 добу, після чого стрімко знижується. В той же час рівні васкуло-ендотеліального фактору росту (VEGF) та мультифункціонального трансформуючого фактору росту  $\beta$ 1 (ТФР- $\beta$ 1) починають зростати лише на 21 добу після перелому, досягають максимальних величин на 30 добу.

Вперше встановлено особливості перебігу оксидативного та нітрозативного стресу на різних строках репаративного остеогенезу у щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу. Показано, що активність вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів, а також продукції нітроген монооксиду та супероксидного аніон-радикалу (за участі НАДФН-оксидази) починає зростати вже на 7 добу після травми і досягає максимальних значень станом на 14-21 добу репаративного остеогенезу, після чого поступово знижується до норми. Натомість активність знешкодження супероксидного аніону за участі супероксиддисмутази починає знижуватись вже на 7 добу після перелому, а станом на 14-21 добу вона стає мінімальною.

Вперше визначено роль процесів окисної деструкції білків, нітрозативного стресу та дисбалансу в системі цитокінів ФНП- $\alpha$  та ТФР- $\beta$ 1 у метаболічних перетвореннях колагену за умов відкритого АПНЩ на тлі остеопорозу.

Вперше продемонстрована залежність активності процесів остеодеструкції та остеосинтезу за умов відкритого ангулярного ПНЩ на тлі остеопорозу від профілю таких цитокінів як ФНП- $\alpha$ , IL-8, VEGF та ТФР- $\beta$ 1, продукції супероксидного аніон-радикалу за участі НАДФН-оксидази, а також активності вільнорадикального окиснення протеїнів та ступеня нітрозативного стресу.

Вперше показано, що застосування КТП стимулює процеси проліферації та диференціювання клітинних та тканинних компонентів зони ушкодження, що вже на 14 добу проявляється зменшенням явищ запалення, на 21 – деструктивних процесів – на 21 добу і на 45 добу - консолидацією відламків кісток.

Вперше встановлений ампліфікуючий ефект КЦ на прояви репаративної дії КТП. Показано, що сумісне застосування КТП та КЦ для лікування відкритого АПНЩ на тлі остеопорозу чинить більш виражену остеопротекторну дію, прискорює ангиогенез у зоні ураження, знижує імунозапальні реакції, ендотоксикоз, оксидативний та нітрозативний стреси, ніж застосування монотерапії (КТП): ознаки явищ консолидації уламків визначали вже на 14 добу, на 21 добу – ущільнення

кінцевих відділів відламків; на 30 дробу лінія перелому не простежувалася, на 45 відбувалася повна консолідація відламків і утворення кісткової мозолі.

**Практичне значення роботи.** Отримані результати є підґрунтям для проведення подальших клінічних комплексних досліджень ефективності застосування КТП у протоколах лікування травматичного ушкодження кісток, особливо – при складних травмах кісток щелеп.

Отримані результати використано в лекційних курсах і практичній роботі кафедр: гістології, фармакології, променевої діагностики, променевої терапії та онкології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; гістології, цитології та ембріології ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»; гістології та ембріології ВДНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом здійснено розробку основних теоретичних і практичних положень проведеного дослідження. Автором самостійно: обрано тему дисертаційної роботи, сформульовано мету та завдання роботи, визначено групи досліджуваних тварин, обрано методи дослідження, проведено експериментальні дослідження, проведено статистичний аналіз результатів дослідження, проаналізовано наукову літературу, описані результати власних досліджень, оформлена дисертація. Разом із науковим керівником проведений аналіз та узагальнення результатів дисертаційної роботи та сформульовані висновки. У спільних з керівником публікаціях автору належать основні розробки стосовно рентгенографічної, гістологічної, імуноферментної та біохімічної оцінки процесів репаративної регенерації кістки щурів при моделюванні травматичного пошкодження і при застосуванні кріоконсервованої тканини плаценти людини - окремо та у сполученні з кальція цитратом.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційного дослідження були викладені та обговорені на: конференції молодих вчених «Холод в биологии и медицине. Актуальные вопросы криобиологии, трансплантологии и биотехнологии» (м. Харків, 2014); 4-й щорічній науково-практичній конференції «Medicine Pressing Questions» (м. Баку, 2015); науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» присвяченої пам'яті професорів-морфологів Г. В. Терентьева, О. Ю. Роменського, Б. Й. Когана, П. П. Шапаренка, С. П. Жученка (м. Вінниця, 2017); міжнародній науково-практичній конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» (м. Львів, 2018); міжнародній конференції молодих вчених «Холод в біології та медицині – 2018» (м. Харків, 2018).

**Публікації матеріалів дисертації.** За матеріалами проведеного дослідження опубліковано 11 наукових робіт, із них 7 статей опубліковано в наукових фахових журналах (серед яких 2 входять до переліку міжнародної наукометричної бази Web of Science та 1 до бази Scopus).

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація представлена українською мовою на 206 сторінках (з яких 144 сторінки основного тексту) і складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень та термінів, вступу, огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження,

трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних літературних джерел, з яких 135 викладені кирилицею і 86 – латиницею, а також двох додатків. Дисертацію ілюстровано 40 рисунками і 40 таблицями.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Огляд літератури.** У розділі проведений аналіз наукової літератури, у якій представлені сучасні методи лікування переломів нижньої щелепи і перспективність застосування КТП та її поєднання з КЦ з метою підвищення ефективності лікування.

**Матеріали і методи дослідження.** Дослідження на тваринах виконані на базі віварію ІПК і К НАН України, м. Харків відповідно до діючого законодавства України і були ухвалені Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (протокол № 1 від 26.02.2019 р.).

КТП отримували у низькотемпературному банку ІПКіК НАН України м. Харків. Перед застосуванням кріопробірки з КТП розморожували на водяній бані при 37°C.

Моделювання остеопорозу у щурів проводили шляхом введення *per os* 2,5 % гідрокортизону ацетату через добу, протягом 60 діб у дозі 50 мг/кг маси тіла (Дедух Н. В., Панков Е. Я., 2001; Батура І. О., 2008). Моделювання відкритого АПНЩ у щурів проводили за методом (Бедик О.В., 2011). Усього в експериментах було задіяно 245 статевозрілих самців щурів лінії Вістар з масою тіла 180-200 г.

Після моделювання ПНЩ і остеопорозу експериментальних тварин розподіляли на наступні групи: група 1 – контроль, тварини із поєднаною патологією без лікування: щурам на фоні змодельованого остеопорозу (ОП) проводили травматичне ушкодження нижньої щелепи (перелом нижньої щелепи (ПНЩ)); група 2 – тварини з поєднаною патологією, яким через 24 години після нанесення травми щелепи здійснювали трансплантацію КТП. КТП масою 20,0±1,0 мг (доза визначена в результаті попередніх скринінгових досліджень) проводили щурам в зоні лопатки у підшкірну кишеньку, під місцевим новокаїновим наркозом. Дозу КТП розраховували виходячи з видового рівня обміну речовин за Стефановим О. В. (2001); група 3 – тварини з поєднаною патологією, яким через 24 години після нанесення травми щелепи здійснювали трансплантацію КТП у сполученні з кальція цитратом. КЦ (ВАТ «Фармак», Київ, Україна) вводили тваринам *per os* раз на добу у дозі 26 мг/кг з урахуванням коефіцієнту видової чутливості; для оцінки змін імуноферментних та біохімічних показників у крові тварин була сформована група 4 – псевдооперовані тварини. Тварин цієї групи під легким тіопенталовим (0,1 мл 10 % розчину на 100 г маси тіла) наркозом, фіксували на станку на спині; після підготовки поля для хірургічної маніпуляції, у правій підщелепній зоні проводили розріз шкіри паралельно нижньому краю нижньої щелепи у медіальному від кута напрямку довжиною 10-12 мм; м'язи розсікали та скелетували нижню щелепу; м'язи та шкіру ушивали кетгутом. Виведення тварин із експерименту проводили шляхом декапітації.

Рентгенографічне дослідження було виконано за допомогою рентгенографічної і флюороскопічної системи «Opera T90 sex» (General Medical Merate S.p.A., Італія). Рентгенографію нижньої щелепи проводили у фіксованих тварин, звернених до

стола переломаною частиною нижньої щелепи. Вільний край нижньої щелепи піднімали і під нього підводили щільну подушку, між нижньою щелепою і подушкою поміщали касету (Іванов В. П., 2014).

Гістологічні дослідження кісткової тканини експериментальних тканин виконували за методом Коржевського Д. Е., Гіляровим О. В. (2010) з фіксацією зразків у 10 %-му розчині нейтрального формаліну з подальшим забарвленням тканини гематоксиліном і еозином. Дослідження гістологічних препаратів проводилися за допомогою світлового мікроскопа «AxioStar Plus».

Вміст вільного та пептидозв'язаного оксипроліну, в сироватці крові визначали за реакцією з пара-диметиламінобензальдегідом (Шараев П. Н. и др., 2009) Вміст загального кальцію і фосфатів визначали за допомогою наборів реагентів фірми Філісіт-Діагностика, Україна. Визначення активності кислої та лужної фосфатази в сироватці крові проводили спектрофотометричним методом за реакцією з п-нітрофенілфосфатом при рН 4,8 і 10,5 відповідно (Левицкий А. П., Макаренко О. А., Деньга О. В., 2005).

Визначення вмісту молекул середньої маси (МСМ) в сироватці крові визначали після осадження білків трихлороцтовою кислотою (Габриэлян Н. И. и др., 1981). Визначення вмісту ТБК-реактивних продуктів (ТБК-РП, вторинні продукти перекисного окиснення ліпідів) в сироватці крові проводили за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Владимиров Ю. В., Арчаков А. И., 1972). Вміст карбонільних груп протеїнів (КГП) в сироватці крові визначали за утворенням фенілгідразонів, що мають характерний спектр поглинання, при взаємодії карбоксильних груп аліфатичних амінокислот з 2,4-динітрофенілгідразиним (Заїчко Н. В., 2003). Активність антиоксидантного ензиму супероксиддисмутази (СОД) в сироватці крові визначали за інгібуванням окиснення кверцетину (Ковалев Г. А. и др., 2015). Активність прооксидантного ферменту НАДФН-оксидази в сироватці крові визначали за падінням поглинання НАДФН при 340 нм (Fukui T. et al., 1997). Вміст білка в сироватці крові визначали мікробіуретовим методом (Кочетов Г. А., 1980). Вміст нітратів та нітритів в сироватці крові визначали за реакцією з реактивом Гріса після осадження білків ацетонітрилом. Нітрати попередньо відновлювали до нітритів сумішшю цинкового порошку та розчину аміаку (Коренман И. И., 1975).

Вміст фактору росту судинного ендотелію людини (VEGF), фактору некрозу пухлини-альфа (ФНПа), інтерлейкіну-8 (ІЛ-8) і трансформуючого фактору росту бета (ТФР-β1) в сироватці крові визначали імуноферментними методами з використанням комерційних наборів фірм: «VEGF ELISA» Invitrogen, Канада, «Diacclone» і «TGF-β1 ELISA kit» фірми «DRG», Франція і у відповідності до інструкції фірми-виробника.

Статистичну обробку результатів імуноферментних та біохімічних досліджень здійснено за допомогою ліцензійного пакету «STATISTICA 6.1», з використанням непараметричних методів оцінки (Платонов А. Е., 2000). Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. Для встановлення біохімічних чинників, які в найбільшій мірі інтегровані в механізми репаративного остеогенезу проведено кореляційний аналіз за Спірменом та множинний лінійний регресійний аналіз.

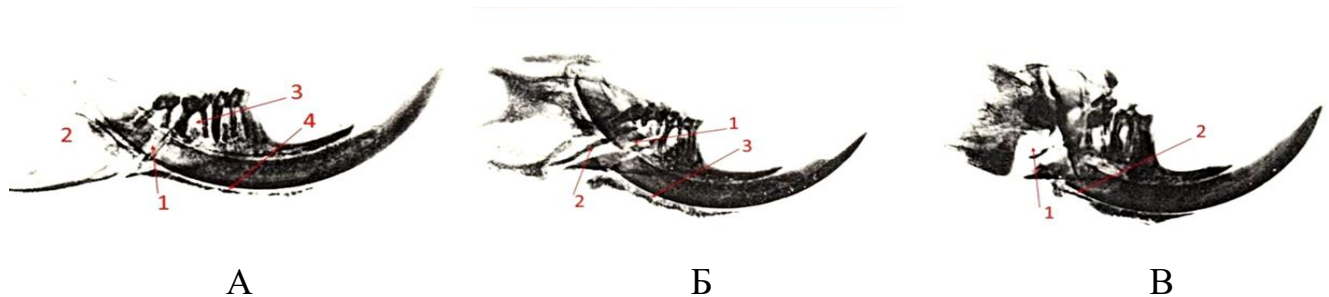


## Результати власних досліджень та їх обговорення.

### Вплив кріоконсервованої тканини плаценти на репаративний остеогенез в експерименті при відкритому ангулярному переломі нижньої щелепи

Порівняльний аналіз даних рентгенографічних досліджень, проведених в динаміці, виявив загальні для усіх дослідних груп щурів закономірності остеорепарації. Проте у кожній групі вони спостерігалися у різні терміни, мали різний ступінь вираженості. Проведені гістологічні дослідження визначили особливості мікроскопічної будови кісткової тканини щурів в динаміці морфогенезу, а також виділити спільні для усіх експериментальних груп три фази відновлювального процесу. Перша фаза проявляється некротичними змінами з утворенням грануляційної тканини і появою лейкоцитарної інфільтрації. Друга фаза характеризувалася появою мережі новоутворених балочок. У третій фазі, при відносно стабільному стані грануляційної тканини, визначалась виражена перебудова полів новоутвореної кістки з трансформацією дрібнопетлистої мережі кісткових балочок у крупнопетлисту і формуванням місцями кортикального шару з компактною кістковою тканиною.

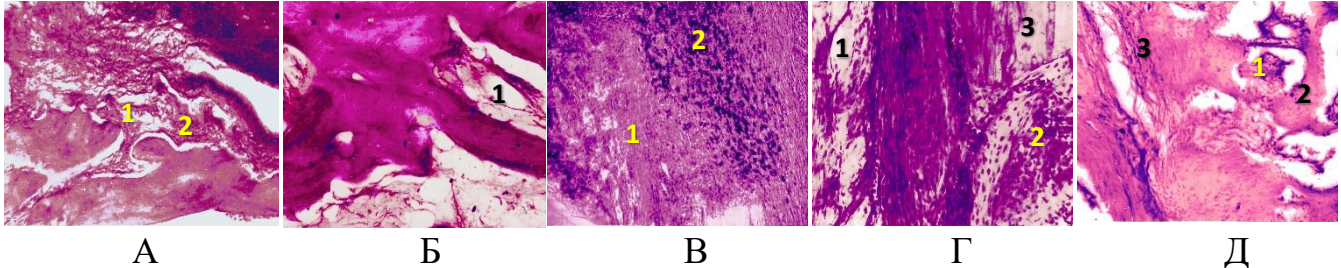
У тварин без лікування (рис. 1) на 7 добу формувалася первинна тканинна реакція (прогресування остеопорозу, вторинно розвинене запалення, деструктивні зміни і резорбція альвеолярного відростка з оголенням коренів зубів, періостит); на 14 добу наростали явища запалення (остеопороз, декструкція, секвестрування), прояви яких суттєво збільшувалися на 21 добу. Проте в цей термін формувалися ділянки остеосклерозу, що свідчить про ослаблення запального процесу. На 30 добу і 45 добу ділянки прогресуючого остеосклерозу відмежовували поля декструкції і секвестрів.



**Рис. 1.** Рентгенограма нижньої щелепи тварини без лікування. *А (7 доба)* 1 – перелом щелепи між 3-м і 4-м зубами, 2 – остеопороз у дистальному відламку нижньої щелепи, 3 – резорбція альвеолярного відростка, 4 – виражена переостальна реакція; *Б (21 доба)* 1 – секвестр з нерівними краями, 2 – остеосклероз, 3 – періостальна реакція; *В (45 доба)* 1 – дефект кістки з чіткими краями і секвестрами малої порожнини, 2 – періостальна реакція.

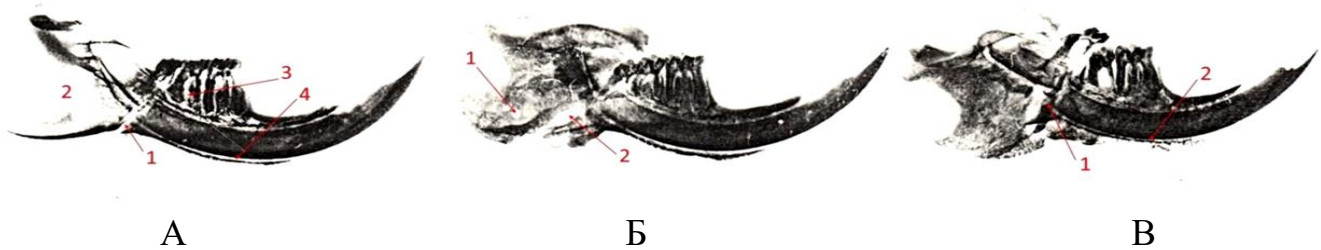
У морфогенезі регенераторної тканини тварин різних експериментальних тварин груп також були виявлені певні відмінності. Так, в 1-й групі наведені вище особливості призводили до виникнення великих ділянок вторинних некротичних змін, значної лейкоцитарної інфільтрації, слабкого розвитку грануляційної тканини та мережі новоутворених кісткових пластинок, а на 45 добу в центральних ділянках кісткових відламків нижньої щелепи виявляли осередки секвестрування і некрозу та

повного зрощення відростків не відбувалося. Грануляційна тканина була найбільшим компонентом регенерату в усі терміни його формування, і відмежовувала поля лейкоцитарної інфільтрації і секвестри, але остеогенний компонент не отримав переважного розвитку і, отже, до кінцевого терміну спостереження відновлення цілісності нижньої щелепи не відбувалося (рис. 2).



**Рис. 2.** Фрагмент кісткової тканини тварини без лікування. *А (7 доба)* 1 – лакуарна резорбція фрагментів кістки, 2 – грануляційна тканина, інфільтрація лейкоцитами; *Б (14 доба)* 1 – секвестри з пластинчастої кісткової тканини та поля некрозу, оточені інфільтрованою лейкоцитами грануляційною тканиною; *В (21 доба)* 1 – грануляційна тканина; 2 – інфільтрована лейкоцитами ділянка некрозу; *Г (30 доба)* 1 – лакуарна резорбція; 2 – осередки остеогенезу; 3 – фрагменти пластинчастої кісткової тканини; *Д (45 доба)* 1 – секвестровані фрагменти пластинчастої кісткової тканини; 2 – мережа новоутворених кісткових пластинок; 3 – грануляційна тканина, інфільтрована лейкоцитами. Гематоксилін-еозин. Зб. 150.

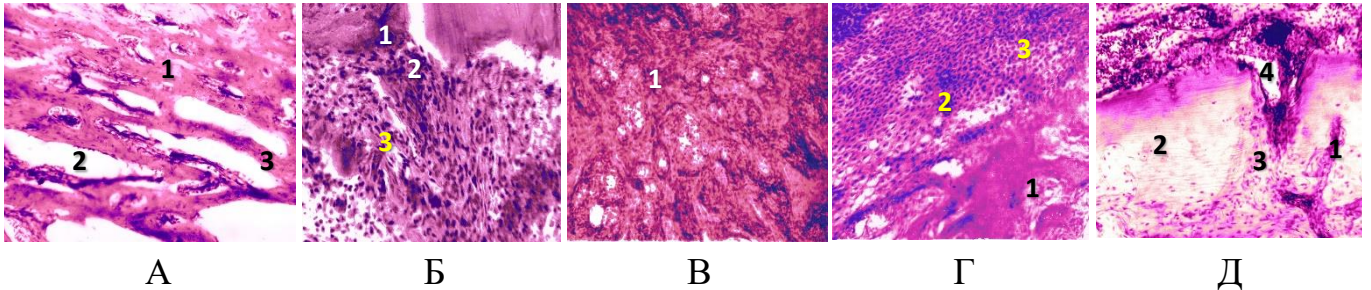
Після застосування КТП вже на 14 добу зменшувалися явища запалення, деструкції – на 21-30 добу і на 45 добу визначалися процеси консолідації відламків кісток (рис. 3).



**Рис. 3.** Рентгенограма нижньої щелепи щура після застосування КТП. *А (7 доба)* 1 – перелом щелепи між 3-м і 4-м зубами, 2 – остеопороз в кінцевих відділах відламків, 3 – ділянки резорбції альвеолярного відростка, 4 – слабка періостальна реакція по нижньому краю ложа різця; *Б (21 доба)* 1 – деструкція в дистальному відламку щелепи, 2 – порожнина в кістці в області перелому з секвестрами; *В (45 доба)* 1 – остеосклероз в зоні відламків щелепи, 2 – помірна періостальна реакція.

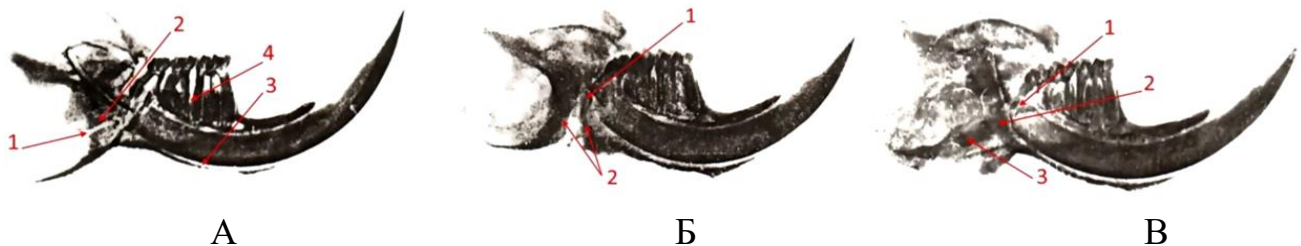
При гістологічному дослідженні фрагменту кісткової тканини тварин, яким застосовували КТП (рис. 4), виявлялося значне зменшення об'єму некротичних змін, лейкоцитарної інфільтрації та посилення інтенсивності остеогенезу. Виявлялися багаточисленні ділянки остеогенезу по поверхні збережених фрагментів компактної кісткової тканини. Застосування КТП чинило стимулюючий вплив на формування

провізорних тканин на окремих ділянках регенерату з 14 по 21 добу. Все це зумовило швидке відмежування ділянок некрозу і секвестрів і формування до 30 доби полів новоутвореної кісткової тканини у вигляді дрібнопетлистої мережі, кісткових балочок, за рахунок якої відбувалося зрощення фрагментів щелепи. Таким чином, дія КТП була більш вираженою на пізніх стадіях регенерації.



**Рис. 4.** Фрагмент кісткової тканини щура після застосування КТП в різні терміни експерименту. *А (7 доба)* 1 – поверхня фрагменту пластинчастої кістки, 2 – ділянки лакунарної резорбції, 3 – мережа новоутворених кісткових пластин; *Б (14 доба)* 1 – кінці фрагмента кісткової тканини; 2 – мережа новоутворених кісткових пластин; 3 – помірно васкуляризована грануляційна тканина; *В (21 доба)* 1 – ділянки новоутвореної кісткової тканини з великою кількістю остеокластів на поверхні кісткових балочок; *Г (30 доба)* 1 – лакунарна резорбція кінця фрагменту пластинчастої кістки; 2 – грануляційна тканина зі слабо вираженою лейкоцитарною інфільтрацією; *Д (45 доба)* 1 – медіальний фрагмент компакної кісткової тканини; 2 – дистальний фрагмент компакної кісткової тканини; 3 – новоутворена кісткова тканина; 4 – лакунарна резорбція в області кінців фрагментів. Гематоксилін-еозин. Зб. 150.

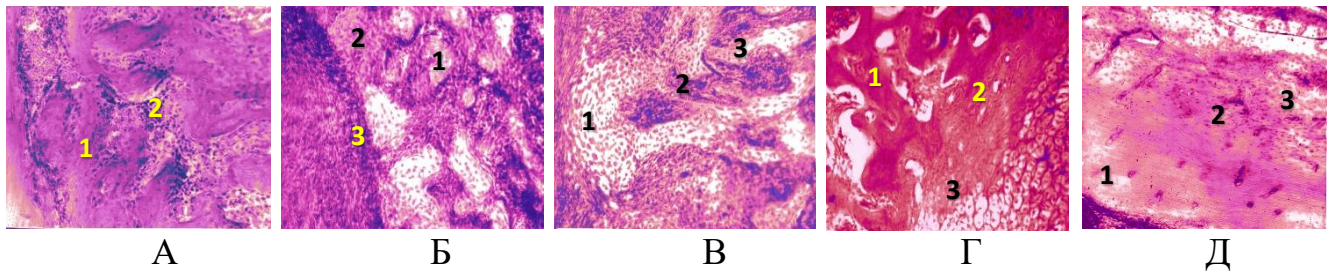
Після поєданого застосування КТП і КЦ (рис. 5) ознаки явища консолідації уламків визначали на 14 добу, на 21 добу – ущільнення кінцевих відділів відламків; на 30 добу лінія перелому не простежувалася, на 45 відбувалася повна консолідація відламків і утворення кісткової мозолі.



**Рис. 5.** Рентгенограма нижньої щелепи щура після застосування КТП і КЦ. *А (7 доба)* 1 – перелом щелепи між 3-м і 4-м зубами, 2 – остеосклероз в кінцевих відділах відламків, 3 – періостальна реакція по нижньому краю ложа різця, 4 – резорбція альвеолярного відростка в області 4-го зуба; *Б (21 доба)* 1 – лінія перелому не прослідковується, 2 – ущільнення кінців відламків; *В (45 доба)* 1 – лінія перелому, 2 – кісткова мозоль, 3 – повна консолідація кісткових відламків.

Гістологічне дослідження фрагментів кісткової тканини тварин, яким сумісно застосовували КТП з КЦ виявило, значне зменшення об'єму некротичних ділянок та

тлі вираженого збільшення полів новоутвореної кісткової тканини вже на 7 добу (рис. 6). Відбувалося компактне зрощення полів новоутвореної кісткової тканини вже на 21 добу і до 30 доби визначалося повне зрощення фрагментів. На 45 добу формувався новоутворений кортикальний шар.



**Рис. 6.** Фрагмент кісткової тканини щура після застосування КТП і КЦ. *А (7 доба)* 1 – новоутворені кісткові пластинки, 2 – грануляційна тканина по периферії кісткових пластинок; *Б (14 доба)* 1 – дрібнопетлиста та крупнопетлиста мережа кісткових пластинок, 2 – сполучна тканина; 3 – лейкоцитарна інфільтрація; *В (21 доба)* 1 – кінці фрагментів кісткової тканини, 2 – крупнопетлиста мережа кісткових пластинок, 3 – сполучна тканина на периферії кісткових пластинок; *Г (30 доба)* 1 – кінці фрагментів кісткової тканини, 2 – новоутворена кісткова тканина; 3 – зони гіалінового хряща; *Д (45 доба)* 1 – кінці фрагментів кісткової тканини; 2 – поля новоутвореної кісткової тканини; 3 – остеони, що формуються. Гематоксилін-еозин. Зб. 150.

Таким чином, сумісне застосування КТП і ЦК проявляє позитивну, ампліфікуючу дію, що проявлялося якісною зміною морфогенезу регенерату кістки нижньої щелепи, зменшенням площі ділянок некрозу у зоні пошкодження, інтенсифікацією остеогенеза, повною консолідацією відламків і утворенням кісткової мозолі.

### **Вплив кріоконсервованої тканини плаценти та кальція цитрату на імунозапальні процеси, оксидативний та нітрозативний стрес, ендотоксемію та стан кісткової тканини у щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу**

Встановлено, що у щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу в різні терміни репаративного остеогенезу, на 7 добу спостережень відмічається низка метаболічних та імунологічних змін: зростання активності імунозапальних процесів (вірогідне зростання вмісту в сироватці крові прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$  та ІЛ-8) (табл. 1); активація вільнорадикального окиснення ліпідів), окисної деструкції протеїнів (рівень КГП в сироватці крові зростає на 54,0 %), зростає продукція супероксидного-аніон радикалу (активність НАДФН-оксидази збільшується на 35,4 %) (табл. 2) та зменшується активність його інактивації за участі СОД на 18,7 %, збільшується рівень нітритів та нітратів на 30,2 % (нітрозативний стрес). Наростає ендотоксемії (рівень МСМ збільшується на 23,1 %). За цих умов відмічається вірогідне зростання рівня кальцію, рівня фосфатів (на 24,8 %) та вільного оксипроліну (на 59,8 %), що свідчить про деструктивні процеси в кістковій тканині.

**Показники цитокинового профілю крові щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу в різні терміни репаративного остеогенезу (М± δ)**

Доба	Показник	Інтактні тварини (1 гр.)	Тварини з відкритим АПНЩ (2 гр.)	Тварини з відкритим АПНЩ після застосування КТП (3 гр.)	Тварини з відкритим АПНЩ після застосування КТП і КЦ (4 гр.)
7	ФНП-α, пг/мл	21,20±1,37	33,60±2,74*	29,50±2,99* <sup>μ</sup>	28,80±2,40* <sup>μ</sup>
14		21,00±1,67	37,07±4,45*	30,60±3,18* <sup>μ\$</sup>	23,30±2,76* <sup>μ#</sup>
21		22,30±1,52	41,49±4,44* <sup>#</sup>	24,30±2,99* <sup>μ#</sup>	23,02±2,31* <sup>μ#</sup>
30		22,10±1,57	29,83±2,88* <sup>#&amp;°</sup>	23,75±2,78* <sup>μ#&amp;</sup>	22,50±2,65* <sup>μ#</sup>
45		22,50±1,71	24,10±3,31* <sup>#&amp;°</sup>	23,00±2,47* <sup>#&amp;</sup>	21,80±2,74* <sup>#</sup>
7	ІЛ-8, пг/мл	21,14±2,85	26,50±2,89*	25,20±2,89	24,80±3,38
14		23,20±3,14	32,40±3,36* <sup>#</sup>	28,60±2,99* <sup>μ\$#</sup>	24,20±2,99* <sup>μ</sup>
21		21,80±3,18	34,10±3,48* <sup>#</sup>	24,10±3,16* <sup>μ&amp;</sup>	24,00±2,94* <sup>μ</sup>
30		22,40±3,11	28,80±3,18* <sup>&amp;°</sup>	23,50±3,26* <sup>μ&amp;</sup>	23,20±3,09* <sup>μ</sup>
45		22,80±3,31	23,20±3,36* <sup>&amp;°</sup>	23,00±3,43* <sup>&amp;</sup>	22,70±2,74
7	ТФР-β1, пг/мл	130,0±7,0	134,1±11,6	135,0±11,0	137,0±11,8
14		128,0±6,7	134,6±13,8	139,0±15,2* <sup>\$</sup>	200,0±12,5* <sup>μ#</sup>
21		126,0±6,6	184,6±7,9* <sup>#&amp;</sup>	213,6±14,9* <sup>μ\$#&amp;</sup>	252,4±12,3* <sup>μ#&amp;</sup>
30		127,0±6,9	210,0±8,0* <sup>#&amp;°</sup>	258,9±14,8* <sup>μ#&amp;</sup>	260,0±12,1* <sup>μ#&amp;</sup>
45		131,0±6,8	136,0±6,2* <sup>°</sup>	138,0±8,6	135,0±8,5* <sup>&amp;</sup>
7	VEGF, пг/мл	67,50±5,76	69,84±6,45	68,65±5,63	68,20±5,76
14		64,39±6,05	70,58±8,41	69,90±7,08* <sup>\$</sup>	82,50±6,71* <sup>μ#</sup>
21		65,80±5,19	74,25±7,70	82,51±4,56* <sup>μ\$#&amp;</sup>	96,39±5,59* <sup>μ#&amp;</sup>
30		66,20±5,71	82,54±7,21* <sup>#&amp;°</sup>	95,19±5,12* <sup>μ\$#&amp;°</sup>	98,76±6,54* <sup>μ#°</sup>
45		65,70±5,88	64,90±6,30* <sup>°</sup>	66,40±6,32* <sup>&amp;°</sup>	68,03±5,93* <sup>&amp;°</sup>

**Примітки:** тут і в наступній таблиці 1. \* - вірогідні відмінності (p<0,05) відносно показників 1 групи тварин відповідного строку дослідження; 2. <sup>μ</sup> - вірогідні відмінності (p<0,05) відносно показників 2 групи тварин відповідного строку дослідження; 3. <sup>\$</sup> - вірогідні відмінності (p<0,05) між показниками 3 та 4 групи тварин відповідного строку дослідження; 4. <sup>#</sup> - вірогідні відмінності (p<0,05) відносно показників на 7 добу дослідження; 5. <sup>&</sup> - вірогідні відмінності (p<0,05) відносно показників на 14 добу дослідження; 6. <sup>°</sup> - вірогідні відмінності (p<0,05) відносно показників на 21 добу дослідження.

Деструкція кісткової тканини супроводжується вірогідним зменшенням індексу мінералізації кісткової тканини (на 39,4 %), збільшенням активності кислоти фосфатази (на 68,7 %). дисбаланс в системі про-антиоксидантних ензимів (активність НАДФН-оксидази достовірно вища на 10,8 %, а СОД – менша на 23,0 %, відносно показників на 7 добу); реєструвалося подальше зростання рівня фосфатів (на 36,5 %). Вірогідне підвищення активності кислоти фосфатази (на 12,5 %) рівня вільного оксипроліну (на 36,3%) та зменшення індексу мінералізації (на 10,9 %)

свідчить про поглиблення процесів остеодеструкції (табл. 2).

Таблиця 2

**Біохімічні показники крові щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу в різні терміни репаративного остеогенезу (M±δ)**

Доба	Показник	Інтактні тварини (1 гр.)	Тварини з відкритим АПНЩ (2 гр.)	Тварини з відкритим АПНЩ після застосування КТП (3 гр.)	Тварини з відкритим АПНЩ після застосування КТП і КЦ (4 гр.)
1	2	3	4	5	6
7	ТБК-РП, мкмоль/	3,250±0,367	5,200±0,735*	4,400±1,323	4,129±0,906* <sup>μ</sup>
14		3,180±0,441	5,850±0,955*	4,580±1,029* <sup>μ</sup>	4,147±1,285* <sup>μ</sup>
21		3,200±0,490	6,140±1,078* <sup>#</sup>	4,050±1,102* <sup>μ</sup>	3,850±0,931* <sup>μ</sup>
30		3,220±0,686	4,800±1,176* <sup>&amp;ο</sup>	3,740±1,029	3,600±0,980* <sup>μ</sup>
45		3,190±0,784	3,450±1,102* <sup>&amp;ο</sup>	3,400±0,906* <sup>&amp;</sup>	3,320±0,735
7	НАДФ оксидаза, нмоль/хв	2,400±0,147	3,250±0,196*	3,150±0,196	2,840±0,147* <sup>μ</sup>
14		2,370±0,201	3,600±0,172* <sup>#</sup>	3,357±0,207* <sup>μ\$</sup>	2,570±0,245* <sup>μ#</sup>
21		2,410±0,098	3,750±0,196* <sup>#</sup>	2,550±0,221* <sup>μ#&amp;</sup>	2,500±0,171* <sup>μ#</sup>
30		2,390±0,123	3,300±0,123* <sup>&amp;ο</sup>	2,500±0,245* <sup>μ#&amp;</sup>	2,460±0,196* <sup>μ#</sup>
45		2,420±0,196	2,550±0,196* <sup>#&amp;ο</sup>	2,450±0,196* <sup>#&amp;</sup>	2,400±0,220* <sup>#</sup>
7	Нітрити та нітраги, мкмоль/л	92,11±8,21	120,0±10,0*	112,0±9,2	101,0±8,5* <sup>μ</sup>
14		95,40±8,38	138,0±10,3* <sup>#</sup>	120,0±9,1* <sup>μ\$</sup>	99,77±9,34* <sup>μ</sup>
21		93,60±9,23	142,6±13,5* <sup>#</sup>	103,0±11,6* <sup>μ&amp;</sup>	98,60±10,04* <sup>μ</sup>
30		96,19±9,06	121,0±10,8* <sup>&amp;ο</sup>	97,40±11,41* <sup>μ#&amp;</sup>	95,20±9,26* <sup>μ</sup>
45		94,80±7,84	99,34±8,32* <sup>#&amp;ο</sup>	93,30±11,15* <sup>#&amp;</sup>	92,20±9,92
7	Загальний кальцій, ммоль/л	2,080±0,294	2,490±0,316*	2,100±0,196* <sup>μ</sup>	2,120±0,147* <sup>μ</sup>
14		2,020±0,343	1,760±0,367* <sup>#</sup>	1,740±0,163* <sup>#</sup>	1,775±0,100
21		2,100±0,392	1,350±0,269* <sup>#</sup>	1,759±0,167* <sup>μ\$</sup>	1,975±0,134* <sup>μ&amp;</sup>
30		2,060±0,441	1,400±0,174* <sup>#</sup>	1,860±0,294* <sup>μ&amp;</sup>	2,115±0,219* <sup>μ&amp;</sup>
45		2,090±0,318	2,180±0,367* <sup>&amp;ο</sup>	1,980±0,367* <sup>&amp;</sup>	2,150±0,269* <sup>&amp;</sup>
7	Вільний оксипролін, мкмоль/л	22,40±1,18	35,80±1,62*	30,20±1,81* <sup>μ\$</sup>	25,60±1,67* <sup>μ</sup>
14		22,80±1,10	48,80±1,76* <sup>#</sup>	28,40±1,89* <sup>μ\$</sup>	23,50±1,69* <sup>μ#</sup>
21		22,30±0,98	32,20±1,69* <sup>#&amp;</sup>	24,60±1,69* <sup>μ\$#&amp;</sup>	22,70±1,52* <sup>μ#</sup>
30		22,50±1,20	26,80±1,32* <sup>#&amp;ο</sup>	23,10±1,74* <sup>μ#&amp;</sup>	22,10±1,81* <sup>#</sup>
45		22,60±1,15	23,20±1,42* <sup>#&amp;ο</sup>	22,40±1,62* <sup>#&amp;ο</sup>	21,10±1,47* <sup>#&amp;</sup>
7	Лужна фосфатаза, Од/л	448,0±20,2	460,0±21,8	454,0±22,3	462,0±21,0
14		450,0±21,0	464,0±15,5	535,0±18,6* <sup>μ\$#</sup>	556,0±18,0* <sup>μ#</sup>
21		454,0±22,3	535,0±16,5* <sup>#&amp;</sup>	594,1±21,4* <sup>μ#&amp;</sup>	595,0±18,5* <sup>#&amp;</sup>
30		452,0±22,0	574,0±22,6* <sup>#&amp;ο</sup>	494,3±23,7* <sup>μ#&amp;</sup>	480,0±17,3* <sup>μ#&amp;</sup>
45		451,0±21,8	465,0±23,9* <sup>ο</sup>	453,0±22,3* <sup>&amp;</sup>	448,0±21,8* <sup>&amp;</sup>
7	Індекс мінералізації	40,32±3,54	27,57±2,32*	28,79±2,73	31,29±3,13* <sup>μ</sup>
14		39,72±3,08	24,64±1,45* <sup>#</sup>	32,43±2,05* <sup>μ\$#</sup>	38,23±3,67* <sup>μ#</sup>
21		40,14±1,88	32,69±2,97* <sup>#&amp;</sup>	40,25±3,00* <sup>μ#&amp;</sup>	40,64±3,76* <sup>μ#</sup>
30		40,82±2,10	38,29±2,08* <sup>#&amp;ο</sup>	40,53±2,53* <sup>#&amp;</sup>	40,94±4,07* <sup>#</sup>
45		40,08±3,03	39,38±3,85* <sup>#&amp;ο</sup>	41,26±4,23* <sup>#&amp;</sup>	41,64±4,44* <sup>#</sup>

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5	6
7	КГП, од.опт.щ/мг протеїну	45,20±2,79	69,60±4,58*	66,30±3,04 <sup>§</sup>	58,79±6,14* <sup>μ</sup>
14		44,70±3,04	89,40±4,78* <sup>#</sup>	68,80±3,18* <sup>μ\$</sup>	49,00±5,36* <sup>μ#</sup>
21		45,40±3,26	92,80±5,83* <sup>#</sup>	48,50±4,53* <sup>μ##&amp;</sup>	46,50±4,24* <sup>μ#</sup>
30		45,00±3,09	62,40±4,14* <sup>&amp;°</sup>	47,40±4,29* <sup>μ##&amp;</sup>	45,10±4,12* <sup>μ#</sup>
45		45,80±3,80	48,90±4,16* <sup>#&amp;°</sup>	46,80±4,43* <sup>#&amp;</sup>	43,20±3,77* <sup>#</sup>
7	СОД, ум.од./мг протеїна	32,60±2,74	26,50±2,72*	27,50±2,74	29,60±2,65
14		33,20±3,04	20,40±2,99* <sup>#</sup>	24,10±2,82* <sup>μ\$#</sup>	30,10±3,31* <sup>μ</sup>
21		32,80±2,89	17,80±3,14* <sup>#</sup>	29,50±3,55* <sup>μ&amp;</sup>	32,50±3,45* <sup>μ</sup>
30		33,40±3,18	26,60±3,31* <sup>&amp;°</sup>	30,30±3,36* <sup>μ</sup>	32,80±3,43* <sup>μ</sup>
45		33,10±3,33	29,88±3,33* <sup>#&amp;°</sup>	31,60±3,18* <sup>#&amp;</sup>	33,30±3,63* <sup>#</sup>
7	МСМ, од.опт.щ.	0,130±0,02	0,160±0,022*	0,155±0,021	0,150±0,010
14		0,133±0,02	0,185±0,025* <sup>#</sup>	0,160±0,012* <sup>μ\$</sup>	0,144±0,015* <sup>μ</sup>
21		0,140±0,01	0,196±0,016* <sup>#</sup>	0,149±0,010* <sup>μ</sup>	0,142±0,015* <sup>μ</sup>
30		0,132±0,01	0,180±0,015*	0,145±0,017* <sup>μ</sup>	0,140±0,020* <sup>μ</sup>
45		0,136±0,02	0,147±0,020* <sup>&amp;°</sup>	0,137±0,022* <sup>&amp;</sup>	0,137±0,012* <sup>#</sup>
7	Фосфати, ммоль/л	1,400±0,294	1,747±0,126*	1,630±0,172	1,560±0,196* <sup>μ</sup>
14		1,450±0,343	1,980±0,294*	1,690±0,221* <sup>μ</sup>	1,500±0,294* <sup>μ</sup>
21		1,480±0,269	2,150±0,318* <sup>#</sup>	1,540±0,269* <sup>μ</sup>	1,480±0,220* <sup>μ</sup>
30		1,420±0,318	1,810±0,392	1,500±0,221	1,450±0,196* <sup>μ</sup>
45		1,460±0,392	1,570±0,367* <sup>&amp;°</sup>	1,480±0,245	1,400±0,245
7	Пептидов'язани й оксипролін, мкмоль/л	26,80±2,50	27,40±2,89	27,10±2,74	27,50±3,23
14		27,30±2,77	28,80±3,37	28,60±3,48 <sup>§</sup>	36,95±3,58* <sup>μ#</sup>
21		27,70±2,94	33,21±3,89* <sup>#&amp;</sup>	40,31±3,82* <sup>μ\$#&amp;</sup>	44,89±2,99* <sup>μ#&amp;</sup>
30		27,10±3,06	39,18±4,19* <sup>#&amp;</sup>	44,28±2,55* <sup>#&amp;</sup>	46,74±3,74* <sup>#&amp;</sup>
45		27,50±2,96	28,10±3,26 <sup>°</sup>	28,53±3,45	29,32±3,13* <sup>&amp;</sup>
7	Кисла фосфатаза, Од/л	11,20±1,27	16,75±1,13*	15,86±1,31	14,90±1,72* <sup>μ</sup>
14		11,40±1,18	18,90±1,52* <sup>#</sup>	16,55±1,12* <sup>μ</sup>	14,64±1,24* <sup>μ\$</sup>
21		11,34±0,82	16,50±1,84* <sup>&amp;</sup>	14,82±1,13* <sup>#</sup>	14,72±0,98* <sup>μ</sup>
30		11,10±0,86	15,01±0,59* <sup>#&amp;°</sup>	12,22±0,61* <sup>μ##&amp;°</sup>	11,80±0,95* <sup>μ##&amp;°</sup>
45		11,32±1,12	11,92±1,43* <sup>#&amp;°</sup>	11,08±1,31* <sup>#&amp;°</sup>	10,89±1,50* <sup>#&amp;°</sup>

Вищезазначені показники імунозапальних реакцій, нітрузоактивного стресу та ендотоксемії вірогідно зростали на 14 добу спостережень.

Станом на 21 добу експерименту активність показників, які відображають інтенсивність імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрузоактивного стресу співставна залишалась на рівні показників на 14 добу. Поряд з цим зростала інтенсивність ангіогенезу, доказом чого є вірогідне збільшення вмісту VEGF в сироватці крові на 12,8 %, Вірогідно зростав рівень ТФР-β1 (на 46,5 %), що вказує на посилення проліферації остеобластів та синтезу колагену (табл. 1). В той же час саме в цьому терміні репаративного остеогенезу починає зростати активність

процесів ангиогенезу. За цих умов зменшується інтенсивність процесів остеодеструкції (активність кислої фосфатази на 12,7 % менша, порівняно з такою на 14 добу;  $p < 0,05$ ), вірогідно знижується активність катаболічних процесів (рівень вільного оксипроліну на 34,0 % менший, ніж станом на 14 добу). Поряд з цим зростає інтенсивність остеогенезу (активність лужної фосфатази достовірно зростає на 17,8 %), активуються процеси біосинтезу колагену (рівень пептидозв'язаного оксипроліну достовірно перевищує на 19,9 % контрольний показник) (табл. 2). Вказані зміни метаболізму кісткової тканини супроводжуються посиленням процесів мінералізації, доказом чого є по-перше вірогідне зменшення вмісту кальцію в сироватці крові на 35,7 %; по-друге зростання індексу мінералізації на 32,9 %, відносно показника на 14 добу. Станом на 30 добу прояви імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу були мінімальними. Натомість, активність остеобластів та інтенсивність перебігу ангиогенезу значно підвищувалась (рівень ТФР- $\beta$ 1 та VEGF в сироватці крові вірогідно перевищує на 25-65 % показники контрольної групи;  $p < 0,05$ ) (табл. 1). За цих умов в кістковій тканині виразність остеодеструктивних та катаболічних процесів знижувалась (вміст вільного оксипроліну та активність кислої фосфатази в сироватці крові на 19-35 % перевищує контрольні показники;  $p < 0,05$ ). В той же час активність остеогенезу та біосинтетичних процесів підвищувалась (вміст пептидозв'язаного оксипроліну та активність лужної фосфатази в сироватці крові на 27-45 % перевищує показники контрольної групи;  $p < 0,05$ ) (табл. 2). При цьому індекс мінералізації статистично вірогідно не відрізняється від контролю. Станом на 45 добу більшість біохімічних та імунологічних показників повертається до норми.

Проведений кореляційний аналіз дозволив встановити, що показники метаболізму колагену (вміст вільного та пептидозв'язаного оксипроліну в сироватці крові) найбільш сильно корелюють з рівнем ТФР- $\beta$ 1 - зростання рівня цього цитокіну супроводжується зменшенням процесів деградації колагену ( $r = -0,45$ ;  $p < 0,05$ ) та зростанням колагенуутворення ( $r = 0,52$ ;  $p < 0,05$ ). Менші за силою кореляції виникали з рівнем прозапального цитокіну ФНП- $\alpha$ . Виявляється, що активація імунозапальних реакцій потенціує деградацію колагену ( $r = 0,38$ ;  $p < 0,05$ ) та має депримууючий вплив на біосинтетичні процеси ( $r = -0,40$ ;  $p < 0,05$ ). Найменш міцні взаємозв'язки виявлялись з вмістом в сироватці крові карбонільних груп протеїнів й метаболітів нітроген монооксиду. Посилення окисної модифікації протеїнів та нітрозативного стресу супряжено з активацією процесів катаболізму ( $r = 0,35$ ;  $0,39$ ;  $p < 0,05$ ) та зменшенням синтезу колагену ( $r = -0,35$ ;  $-0,38$ ;  $p < 0,05$ ).

Показники ремоделювання кісткової тканини виявляють найбільш міцні зв'язки з рівнем факторів росту ТФР- $\beta$ 1 та VEGF. Зростання в крові вмісту цих факторів росту асоціюється з індукцією остеогенезу ( $r = 0,52$ ;  $0,54$ ;  $p < 0,05$ ) та зменшенням активності деструктивних процесів у кістковій тканині ( $r = -0,59$ ;  $-0,62$ ;  $p < 0,05$ ). Менші за силою зв'язки виникали між активністю фосфатаз та рівнем в сироватці крові прозапальних цитокінів ІЛ-8 та ФНП- $\alpha$ . За цих умов посилення імунозапальних реакцій супроводжується активацією остеолітичних процесів ( $r = 0,40$ ;  $0,48$ ;  $p < 0,05$ ) та інгібуванням остеогенезу ( $r = -0,42$ ;  $-0,45$ ;  $p < 0,05$ ). Найменші по модулю кореляції виникали між маркерами ремоделювання кістки та активністю продукції супероксидного аніону (НАДФН-оксидаза), окисної деградації протеїнів (КГП) і



нітрозативного стресу (нітрити та нітрати). Активація оксидативного та нітрозативного стресу супряжена з інтенсифікацією остеодеструкції ( $r=-0,34$ ;  $p<0,05$ ) та пригніченням остеогенезу ( $r=0,35$ - $0,37$ ;  $p<0,05$ ).

В подальшому ми провели множинний лінійний регресійний аналіз. Виявилось, що найбільш значущими та незалежними біохімічними показниками, які мають вагому роль для прогнозування перебігу репаративного остеогенезу за умов відкритого перелому нижньої щелепи на тлі остеопорозу, є наступні: вміст в сироватці крові VEGF, ТФР- $\beta$ 1, КГП, нітритів та нітратів. Порівняння коефіцієнтів регресії  $\beta$  дозволяє стверджувати про різний внесок обраних предикторів у прогнозуванні перебігу репаративного остеогенезу. Виявилось, що за цих умов найбільш вагому роль в остеорепарації відіграє рівень в крові ТФР- $\beta$ 1 ( $\beta=0,456$ ), дещо менше значення має вміст VEGF ( $\beta=0,327$ ) і найменш вагомий внесок належить рівню КГП, нітритів та нітратів ( $\beta=-0,210$ ;  $-0,156$ ). Отже, дослідження вказаних біохімічних показників є необхідним для контролю перебігу репаративного остеогенезу за даної патології.

**Оцінка впливу кріоконсервованої тканини плаценти на перебіг репаративного остеогенезу** у тварин з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу на 7 добу показала, що на цей термін спостережень застосування КТП не виявляла помітного впливу на розвиток імунозапальних реакцій (вміст ТНФ- $\alpha$  в сироватці крові був меншим на 12,2 %, відносно контролю;  $p<0,05$ ), на рівні тенденції відмічався вплив на активність оксидативного та нітрозативного стресу. Поряд з цим відмічався досить незначний депримуєчий вплив КТП на деградацію колагену (активність кислої фосфатази та рівень вільного оксипроліну був на 15,6 % меншим, ніж в контролі;  $p<0,05$ ). За цих умов вміст кальцію в сироватці крові був достовірно меншим (на 15,7 %, відносно контролю;  $p<0,05$ ); активність остеолітичних процесів була меншою від контролю лише на рівні тенденції. Станом на 14 добу відмічався помітний вплив КТП на імунозапальні реакції (вміст ТФР- $\beta$ 1 та ІЛ-8 в сироватці крові був меншим відповідно на 17,4 та 11,7 %, відносно контролю;  $p<0,05$ ) (табл. 1), ендотоксемію (рівень МСМ на 13,5 % був меншим, ніж в контролі), оксидативний (вміст ТБК-РП та КГП відповідно на 83,9 та 100 % був меншим, ніж в контролі;  $p<0,05$ ) та нітрозативний стрес (рівень нітритів та нітратів на 13,0 % був меншим, ніж в контролі;  $p<0,05$ ). Поряд з цим КТП стримує наростання остеодеструктивних процесів (активність кислої фосфатази на 12,5 % була меншою, ніж в контролі;  $p<0,05$ ) та активацію катаболізму колагену (рівень вільного оксипроліну на 41,8 % був меншим, ніж в контролі;  $p<0,05$ ). За цих умов індекс мінералізації на 31,6 % перевищував контрольні показники ( $p<0,05$ ) (табл. 2). Станом на 21 добу був отриманий максимальний протизапальний, антиоксидантний, антинітрозативний та антиоксидантний ефект застосування КТП. Поряд з цим визначався активуючий вплив КТП на остеобласти (рівень ТФР- $\beta$ 1 на 46,5 % перевищував контрольний показник;  $p<0,05$ ) та процеси ангіогенезу (рівень VEGF на 12,8 % перевищував контрольний показник;  $p<0,05$ ). Вплив на процеси остеодеструкції та катаболізм колагену був меншим, ніж на 14 добу (активність кислої фосфатази та вміст вільного оксипроліну відповідно на 10,2 та 23,6 % була меншою, ніж в контролі;  $p<0,05$ ) (табл. 1). В той же час відмічається стимулююча дія кріоплаценти на процеси остеогенезу та колагенотворення (активність лужної фосфатази та вміст пептидозв'язаного

оксипроліну відповідно на 11,0 та 21,4 % перевищували контрольні показники;  $p < 0,05$ ). За цих умов індекс мінералізації та вміст кальцію був відповідно на 24,4 та 30,3 % вищим, ніж станом на 14 добу ( $p < 0,05$ ). Станом на 30 добу показники імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу вірогідно не відрізнялись від таких у псевдооперованих тварин. Активуюча дія кріоконсервованої тканини плаценти на остеобласти (рівень ТФР- $\beta$ 1 на 46,5 % перевищував контрольний показник;  $p < 0,05$ ) та процеси ангиогенезу (рівень VEGF на 12,8 % перевищував контрольний показник;  $p < 0,05$ ) є максимальною. Інтенсивність процесів катаболізму колагену достовірно не відрізняється від псевдооперованих тварин. Натомість процеси остеогенезу та колагенуотворення проходять досить інтенсивно (активність лужної фосфатази та вміст пептидозв'язаного оксипроліну відповідно на 13,9 та 13,0 % перевищували контрольні показники;  $p < 0,05$ ). Індекс мінералізації та вміст кальцію в сироватці крові перебувають на рівні псевдооперованих тварин. Станом на 45 добу всі біохімічні та імунологічні показники повертаються до норми.

При оцінці *впливу комбінованого застосування кріоконсервованої тканини плаценти та препарату кальцію цитрат на перебіг репаративного остеогенезу* у тварин з відкритим переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу встановлено, що поєднане застосування цих препаратів характеризується певними особливостями перед монотерапією. По-перше протизапальна, антиоксидантна, антитоксична та антинітрозативна дії починають розвиватись вже на 7 добу, а проангіогенна дія та стимулюючий ефект на остеобласти – на 14 добу експерименту. По-друге потужність впливу комбінованої терапії на досліджувані біохімічні та імунологічні процеси по більшій мірі є вищою, ніж за умов монотерапії. По-третє більшість досліджуваних показників за умов сумісного введення препаратів повертаються до норми вже на 30 добу експерименту. Таким чином, включення КЦ в значній мірі потенціює остеопротекторний ефект КТП.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення і вирішення наукових завдань, що стосуються пошуку нових методологічних і методичних підходів корекції процесів репаративного остеогенезу кісткової тканини щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи на тлі остеопорозу, в умовах розвитку деструктивних, імунозапальних реакцій, ендотоксемії, оксидативного та нітрозативного стресу. Отримані експериментальні дані щодо особливостей протікання процесів, які відбуваються в ушкодженій кістковій тканині, ефективності застосування при даній патології кріоконсервованої тканини плаценти – окремо, а також у сполученні з кальція цитратом – дозволяють зробити наступні висновки:

1. Визначені особливості структурних змін кісткової тканини нижньої щелепи щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу в динаміці репаративного остеогенезу, а саме: явища первинної тканинної реакції на 7 добу (деструкція, запалення, прогресування остеопорозу), що переростають на 14 добу в виражений запальний і деструктивний процес, який в подальшому (45 доба) визначається відмежуванням полів деструкції і секвестрів, зменшенням щільності секвестрів за рахунок вираженого остеосклерозу і відсутністю консолідації відламків кісток.

2. У щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу вже на 14 добу після травми відмічалася найвища активність імунозапальних реакцій (рівень ФНП- $\alpha$  в сироватці крові збільшився на 76,5 %, відносно псевдооперованих тварин;  $p < 0,05$ ), ендотоксемії (вміст МСМ збільшувався на 39,1 %;  $p < 0,05$ ), оксидативного та нітрозативного стресу (вміст карбонільних груп протеїнів, нітритів та нітратів збільшився відповідно у двічі та на 44,7 %;  $p < 0,05$ ), остеодеструктивних процесів та катаболізму колагену (вміст вільного оксипроліну та активність кислотої фосфатази збільшився відповідно на 114 та 65,8 %;  $p < 0,05$ ). Станом на 30 добу відмічалась максимальна інтенсивність ангіогенезу (вміст VEGF збільшився на 24,7 %;  $p < 0,05$ ), колагеноутворення та остеогенезу (вміст пептидозв'язаного оксипроліну та ТФР- $\beta 1$  збільшився відповідно на 44,6 та 65,3 %;  $p < 0,05$ ). Більшість біохімічних параметрів та показників цитокінового профілю нормалізовувалося на 45 добу.

3. Визначено, що вміст VEGF, ТФР- $\beta 1$ , карбонільних груп протеїнів, нітритів та нітратів в сироватці крові є важливими предикторними (прогностичними) маркерами прогнозування перебігу репаративного остеогенезу при відкритому АПНЩ на тлі остеопорозу. Найбільшу значущість для контролю процесів остеорепарації має визначення вмісту ТФР- $\beta 1$  та VEGF в сироватці крові ( $\beta = 0,456$ ;  $0,327$ ), дещо менше значення належить дослідженню рівня карбонільних груп протеїнів, а також нітритів та нітратів в сироватці крові ( $\beta = -0,210$ ;  $-0,156$ ).

4. Застосування КТП вже на 14 сприяло зменшенню активності остеодеструктивних процесів і катаболізму колагену, стримувало імунозапальні реакції, гіперактивацію вільнорадикального окиснення ліпідів, окисної деструкції протеїнів, розвиток ендотоксемії та нітрозативного стресу, відновлювало баланс в системі про-антиоксидантних ензимів, що досягало максимуму на 21 добу. Суттєво, що вже з 21 доби спостерігається активація клітин остеобластичного диферону, що сприяло посиленню процесів колагеноутворення і ангіогенезу і формуванню на 30 добу новоутвореної кісткової тканини, за рахунок чого відбувалося зрощення фрагментів кістки.

5. Сумісне застосування КТП з КЦ сприяло початку нормалізації параметрів біохімічних процесів вже на 7 добу експерименту; на 21 добу визначали максимальний протизапальний (рівень ФНП- $\alpha$  в сироватці крові був нижчим на 44,5 %, порівняно з групою без лікування;  $p < 0,05$ ), нормалізувалися антиоксидантні (вміст карбонільних груп протеїнів, нітритів та нітратів зменшувався на 49,9 та 31,0 %;  $p < 0,05$ ), антитоксичні (вміст молекул середньої маси був меншим на 27,6 %;  $p < 0,05$ ) та проангіогенні (вміст VEGF був більшим на 28,2 %;  $p < 0,05$ ) процеси. Відмічалась найбільша активність остеогенезу та біосинтезу колагену (вміст пептидозв'язаного оксипроліну та ТФР- $\beta 1$  збільшився відповідно на 35,2 та 36,2 %;  $p < 0,05$ ).

6. Поєднане застосування КТП і КЦ у щурів з відкритим АПНЩ на тлі остеопорозу мало виражений позитивний вплив на морфологічну структуру кісткової тканини нижньої щелепи, ніж тільки самостійне використання КТП. Знижувались ознаки прояву дистрофічних, деструктивних і запальних процесів в тканині за рахунок збільшення полів новоутвореної кісткової тканини, їх компактного зрощення і формування новоутвореного кортикального шару кісткової тканини. Значно прискорювався термін консолідації уламків і зрощення фрагментів

кістки: на 30 добу лінія перелому вже не простежувалася, а на 45 відбувалася повна консолидація відламків і утворення щільної кісткової мозолі.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Лихицкий А. А. Влияние криоконсервированной плацентарной ткани на остеогенез в эксперименте при переломе нижней челюсти / А. А. Лихицкий // Клінічна стоматологія. – 2016. – № 1. – С. 37-41.

2. Goltsev A. M. The role of immune-inflammatory processes and oxidative stress in the mechanisms of reparative osteogenesis in rats with an open fracture of the mandible on the background of osteoporosis / A. M. Goltsev, O. O. Lykhytskyi // Світ медицини та біології. – 2017. – №4 (62). – Р. 132-136. (*Видання включено до бази Web of Science; здобувач провів статистичну обробку матеріалу, аналіз літературних джерел, описав і провів аналіз отриманих результатів*).

3. Goltsev A. M. Rengenological features of morphogenesis of regenerate in rats with open fracture of lower jaw with osteoporosis which received the calcium citrate with improvement of cryoplacenta / A. M. Goltsev, O. O. Lykhytskyi // Вісник морфології. – 2017. – Т. 23, № 2. – С. 248-252. (*Здобувач провів статистичну обробку матеріалу, аналіз літературних джерел, описав і провів аналіз отриманих результатів*).

4. Lykhytskyi O. O. Histological features of morphogenesis of regenerate in rats with open lower jaw fracture on the background of osteoporosis after implantation of cryopreserved tissue of human placentas / O. O. Lykhytskyi // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2017. – № 29. – Р. 32-36.

5. Goltsev A. M. Prognosis of reparative osteogenesis in rats with open mandibular fracture on the background of osteoporosis / A. M. Goltsev, O. O. Lykhytskyi // Світ медицини та біології. – 2018. – №1 (63). – Р. 109-112. (*Видання включено до бази Web of Science; здобувач провів статистичну обробку матеріалу, аналіз літературних джерел, описав і провів аналіз отриманих результатів*).

6. Lykhytskyi O. O. Influence of Cryopreserved Human Placental Tissue on Reparative Bone Formation in Rats with the Lower Jaw Open Fracture on Osteoporosis Background / O. O. Lykhytskyi, A. M. Goltsev // Проблеми кріобіології і кріомедицини. – 2019. – Т. 29, № 2. – С. 125-136. (*Видання включено до бази Scopus; здобувач провів статистичну обробку матеріалу, аналіз літературних джерел, описав і провів аналіз отриманих результатів*).

7. Lykhytskyi O. O. Modern views on etiopathogenesis of traumatic injuries of the lower jaw against the background of osteoporosis and the use of drugs for correction of the processes of reparative osteogenesis // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2019. – Т. 23, №2. – С. 309-315.

8. Лихицкий А. А. Репаративная регенерация костной ткани под влиянием криоконсервированной плаценты / А. А. Лихицкий // Тезисы 38-й ежегодной конференции молодых ученых «Холод в биологии и медицине. Актуальные вопросы кріобіології, трансплантології і біотехнології», 21–22 мая 2014 г., г. Харьков // Проблеми кріобіології і кріомедицини. – 2014. – Т. 24, № 2. – С. 170.

9. Lykhytskyi O. O. Study the influence of cryopreserved placenta on process of reparative bone regeneration / O. O. Lykhytskyi // To the present issue of “Medical Review” included abstracts of reports of 4th Annual International Scientific-Practical

Conference “Medicine Pressing Questions”, 29-30 october, 2015, Baku, Azerbaijan // Medical Review. Aliyev V. Aliyev and Gulmira A. Zhurabekova. Baku, Khazar University Press, 2015, volume 2. – P. 42.

10. Ліхницький О. О. Особливості репаративного остеогенезу в експерименті при відкритому переломі нижньої щелепи на тлі остеопорозу після імплантації кріоконсервованої тканини плаценти людини / О. О. Ліхницький // Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку: Збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції (м. Львів, 26-27 січня 2018 року). – Львів. ГО «Львівська медична спільнота», 2018. – С. 111-114.

11. Lykhytskyi O. O. Efficiency of Combined Use of Cryopreserved Human Placenta Tissue and Calcium Citrate on Metabolism in Bone Tissue of Rats with Mandible Fracture on Background of Osteoporosis / O. O. Lykhytskyi // Тези 42-ї щорічної міжнародної конференції молодих вчених «Холод в біології та медицині – 2018», 23-24 травня 2018 р., м. Харків. – Проблеми кріобіології і кріомедицини // Problems of cryobiology and cryomedicine, 2018. – №2 (28). – С. 177.

### АНОТАЦІЯ

**Ліхницький О. О. Застосування кріоконсервованої тканини плаценти для корекції процесів репаративного остеогенезу нижньої щелепи при ангулярному переломі на тлі остеопорозу (експериментальне дослідження) – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.35 – «кріомедицина». – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, Харків, 2020.

Робота присвячена визначенню дії кріоконсервованої тканини плаценти людини (КТП) та кальцію цитрат (КЦ) на перебіг репаративного остеогенезу у щурів з відкритим ангулярним переломом нижньої щелепи (ВАПНЩ) на тлі остеопорозу. Встановлена доцільність сумісного використання КТП та КЦ з метою корекції репаративного остеогенезу у щурів з ВАПНЩ на тлі остеопорозу. Доведено, що сумісне застосування КТП та КЦ чинить виражену остеопротекторну дію, що асоціюється із здатністю активних речовин у складі КТП коригувати процеси ангіогенезу, імунозапальні реакції, ендотоксикоз, оксидативний та нітрозативний стрес. Виявлені закономірності в значній мірі розширяють погляд на механізми дії КТП у зоні травми, що дозволить цілеспрямовано впливати на репаративний остеогенез, оптимізувати процеси зрощення, скоротити строки лікування, та обґрунтує можливість її використання в клінічній практиці при даній патології.

**Ключові слова:** кріоконсервована тканина плаценти, кальцію цитрат, кісткова тканина нижньої щелепи, остеопороз, репаративний остеогенез, щурі.

### АННОТАЦИЯ

**Лихицкий А.А. Применение криоконсервированной тканины плаценты для коррекции процессов репаративного остеогенеза нижней челюсти при ангулярном переломе на фоне остеопороза (экспериментальное исследование) – на правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по

специальности 14.01.35 – «криомедицина». – Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, 2020.

В результате проведенных исследований впервые экспериментально обоснована целесообразность совместного использования криоконсервированной ткани плаценты человека (КТП) и кальция цитрат КЦ с целью коррекции репаративного остеогенеза у крыс с открытым ангулярным переломом нижней челюсти (ОАПНЧ) на фоне остеопороза. Доказано, что комбинация КТП и КЦ обладает высоким репаративным потенциалом и ассоциируется со способностью входящих в нее компонентов корректировать процессы ангиогенеза, иммуновоспалительные реакции, эндотоксикоз, оксидативный и нитрозативный стресс. Продемонстрировано амплифицирующее влияние КЦ на терапевтическую активность КТП при их совместном применении. Выявленные закономерности в значительной степени расширяют представление о на механизмах терапевтического действия КТП, что позволит целенаправленно влиять на репаративный остеогенез, оптимизировать процессы его реализации, сократить сроки лечения, что обосновано открывает возможность использования такого метода лечения в клинической практике при данной патологии.

**Ключевые слова:** криоконсервированная ткань плаценты, кальция цитрат, костная ткань нижней челюсти, остеопороз, репаративный остеогенез, крысы.

#### ANNOTATION

**Lykhytskyi O. O. – The use of cryopreserved placental tissue for correction of the reparative osteogenesis processes of the lower jaw during an angular fracture with osteoporosis (experimental study). The qualifying paper is a manuscript.**

Dissertation for the candidate degree of medicine by specialty 14.01.35 – «cryomedicine». – National Pirogov Memorial Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, 2020.

The study of the effect of cryopreserved xenografts of human placenta on the repairing bone tissue of the mandible on the background of the simulated osteoporosis was performed of the rats.

Animals were divided into the following groups: group 1 - control, animals with combined pathology: rats injured in the lower jaw (fracture of the mandible (FM)) on the background of the modified osteoporosis (OP); group 2 - study of the effect of cryopreserved human placenta tissue (CP) on repair of bone tissue in animals having a combined pathology (OP + FM): 24 hours after the manipulation, a subclause of fragments of human placental tissue was performed; group 3 - study of the effect of cryopreserved tissue placenta in combination with calcium citrate preparation in animals with a combined pathology.

The stimulating effect of cryopreserved tissue of the placenta on the proliferation and differentiation of cell and tissue components of bone regenerate has been prove. It is substantiated that the cryopreserved tissue of the placenta has the ability to influence the acceleration of formation of osteoid tissue and on the growth of bone beams with the emergence of active mineralization sites. It is shown that bone reparation processes take place in a shorter term, more dynamically, on a qualitatively new level.

For the first time, the peculiarities of the course of oxidative and nitrosamine stress at different stages of reparative osteogenesis in rats with an open fracture of the mandible on the background of osteoporosis were determined. It has been shown that the activity of free radical oxidation of lipids and proteins, as well as the production of nitrogen monoxide and superoxide anion-radical (with the participation of NADPH-oxidase) begins to increase already on day 7 after the trauma and reaches the maximum values on 14-21 days of reparative osteogenesis, after which gradually decreasing to normal. Instead, the activity of neutralizing superoxide anion with the participation of superoxide dismutase begins to decrease already on 7 day after the fracture, and on 14-21 days, it becomes minimal.

For the first time an important role of oxidative degradation of proteins, nitrosative stress and imbalance in the system of cytokines of TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1 in metabolic collagen transformations in the open fracture of the mandible on the background of osteoporosis was determined.

For the first time, it has been shown that the activity of osteodestruction and osteosynthesis in open fracture of the mandible on the background of osteoporosis depends on the cytokine profile of the blood serum (TNF- $\alpha$ , IL-8, VEGF and TGF- $\beta$ 1), production of superoxide anion radical with the participation of NADPH oxidase, the activity of free radical oxidation of proteins and the degree of nitrosative stress. For the first time, it has been shown that the combined use of cryopreserved tissue of the placenta and calcium citrate preparation in rats with an open fracture of the mandible on an osteoporosis background corrects a number of metabolic and immunological processes, namely, reduces collagen degradation by 7-21 days; increases collagen formation activity by 14-30 days; increases the index of mineralization of bone tissue by 7-30 days; restores the balance in the system of anti-oxidant enzymes, which is associated with the slowdown of the activity of free radical oxidation of lipids and proteins, nitrosative stress by 7-21 days; reduces the level of proinflammatory cytokines of TNF- $\alpha$ , IL-8 for 7-21 days; increases the content of the angiogenic factor VEGF and growth factor TGF- $\beta$ 1 at 14-30 days after injury.

**Key words:** cryopreserved placenta, calcium citrate, mandibular bone tissue, osteoporosis, reparative osteogenesis, rats.









---

Підписано до друку 25.02.2020 р. Замовл. № 212.  
Формат 60x90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.  
Тираж 100 примірників.

---

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М. І. Пирогова, Пирогова, 56.

