

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

РЯБОШАПКО ОЛЕГ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 611.018.4:616-003.9:576.5:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

**РОЛЬ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН В АКТИВАЦІЇ
РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ
(КЛІНІКО-ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії з галузі «Охорона здоров'я»

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ О. М. Рябошапко

Науковий керівник: Фіщенко Володимир Олександрович,
доктор медичних наук, професор

Вінниця – 2024

АНОТАЦІЯ

Рябошанко О. М. Роль мезенхімальних стовбурових клітин в активації репаративного остеогенезу (клініко-експериментальне дослідження).

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2024.

У дисертаційній роботі наведено результати аналізу впливу мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів на репаративний остеогенез в ділянці перелому кісток за умови застосування мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих із Вартонових драглів, в експериментальній моделі на тваринах та лікування хворих із наявністю вогнепальних переломів внаслідок бойової травми, з використанням мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин.

Дисертаційне дослідження здійснено відповідно до планів наукових досліджень Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і є фрагментом науково-дослідної роботи “Удосконалення методів діагностики, лікування та реабілітації пацієнтів з травмами та захворюваннями опорно-рухового апарату” (№ державної реєстрації: 0123U102765 від 02.06.2023).

Модель дослідження передбачала використання мезенхімальних стовбурових клітин, джерелом яких були Вартонові драглі пупкового канатика. Дослідження виконано у два етапи, які включали експериментальну та клінічну частини. Метою експериментальної частини було обґрунтування можливості використання мезенхімальних стовбурових клітин для поліпшення процесу остеогенезу. Для цього використано 64 щури лінії «Вістар», які були піддані остеотомії для моделювання перелому великогомілкової кістки. Після операції тварин розділено на дві групи:

контрольну, яка не отримувала лікування, та експериментальну, якій вводили суспензію мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів пуповини. Рану обробляли та зашивали, а іммобілізація не проводилась. Тварин виводили з експерименту для гістологічного дослідження на різних етапах спостереження.

Матеріал для дослідження вилучався на 7-му, 14-ту, 21-шу та 28-му добу експерименту. Для гістологічного дослідження відбирали кісткові уламки великогомілкових кісток, які підлягали морфологічному та мофрометричному дослідженню.

У клінічній частині були проаналізовані результати лікування пацієнтів, які перебували на лікуванні у період з 2022 р. до 2023 р. Результати лікування 30 осіб, які були розділені на контрольну та експериментальну групи, були оцінені на основі клінічного стану та рентгенограм.

Вперше в ході виконання експериментальної частини дослідження під час введення мезенхімальних стовбурових клітин з Вартонових драглів пупкового канатика в ділянку перелому кістки у щурів було виявлено істотно активніші процеси репаративного остеогенезу протягом усіх періодів спостереження порівняно з групою контролю. Репаративна регенерація кістки включає послідовність процесів міграції, проліферації та диференціації клітин, формування первинних та вторинних гістіонних структур, які завершуються утворенням повноцінної кісткової тканини.

На 7-й день експерименту під час гістологічного аналізу тканин місця перелому великогомілкової кістки щурів основної групи було виявлено наявність одноядерних клітин, подібних до моноцитів крові (мононуклеари), макрофагальних клітин та мезенхімальних фібробластоподібних клітин, а також мало- та недиференційованих клітин у значно більшій кількості, ніж у групі контролю. На 14-й день експерименту після лікування перелому між кістковими фрагментами також було встановлено ознаки формування ендостального та періостального кісткового регенерату. На 21-й день у щурів дослідної групи були виявлені ознаки зрощування перелому шляхом

формування ендостального, періостального та інтермедіарного кісткових мозолів, а кісткова тканина була більш зрілою. На 28-й день в основній групі спостерігалися інтенсивніші ознаки перебудови кісткового регенерату, ніж у контрольній групі.

Вперше на основі гістологічних досліджень показано, що фізіологічна та патологічна перебудова кісткової тканини великогомілкових кісток в умовах їх перелому відрізняється у контрольній та дослідній групах білих лабораторних щурів. Отримані дані гістологічного аналізу свідчать, що за класичного методу лікування триваліше зберігаються запальні зміни, що значно уповільнює процеси регенерації кісткової тканини. Це підтверджує, що формування кісткового регенерату великогомілкової кістки під час загоєння перелому супроводжується послідовною зміною тканинноспецифічних структур з утворенням повноцінної кісткової тканини на місці перелому через 28 днів спостереження.

Особливості площинних морфометричних параметрів у ділянці перелому у щурів контрольної та експериментальної груп засвідчують значну перевагу процесів репаративного остеогенезу в експериментальній групі, якій вводили мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів. На 14-й день експерименту показник площі кісткових трабекул мав значно більші ($p < 0,01-0,02$) значення в експериментальній групі, що може бути наслідком взаємодії мезенхімальних стовбурових клітин та їх виділених факторів, а також адаптаційних процесів у ділянці перелому.

Усі періоди спостереження, за винятком 14-го дня, виявили достовірно більші ($p < 0,01-0,02$) значення площинних параметрів репаративного остеогенезу в експериментальній групі. Виявлені особливості остеогенезу вказують на прогресуючі репаративні процеси в ділянці перелому в обох групах протягом усього періоду спостереження з вираженим переважанням в експериментальній групі. Менші значення площі кісткових трабекул в контрольній групі на 14-й день свідчать про існування адаптаційних процесів, що можливо пригнічують активність мезенхімальних стовбурових клітин та їх

факторів в цьому періоді репаративного остеогенезу.

Аналіз інших морфометричних параметрів кістки в зоні ураження показав високу ефективність використання мезенхімальних стовбурових клітин. З усіх досліджуваних параметрів лише кількість функціонально активних остеобластів була більшою в контрольній групі на 21-й день. Виявлені особливості свідчать про позитивний вплив мезенхімальних стовбурових клітин на лікування переломів у всіх періодах спостереження, а також про знижену кількість функціонально активних фібробластів при застосуванні стовбурової терапії на 21-й день експерименту.

Отримані висновки підтверджують ефективність використання мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні переломів кісток в клініці. Аналіз рентгенологічних показників підтвердив кращі результати регенерації кісткової тканини у пацієнтів, які отримували мезенхімальні стовбурові клітини, порівняно з контрольною групою, де застосовувалися традиційні методи лікування. На третій місяць лікування більшість пацієнтів з експериментальною групою демонструвала ангиогенну кісткову структуру та відсутність резорбції кісткових уламків, що свідчить про успішну регенерацію тканини.

Отже, практичне значення нашого дослідження щодо застосування мезенхімальних стовбурових клітин у процесі загоєння переломів має велике значення для медичної практики та хірургії. Використання цих клітин дозволило значно покращити процес регенерації кісткової тканини та скоротити час зрощення перелому. Основне досягнення полягає в можливості скорочення часу, необхідного для загоєння перелому, що є критичним для пацієнтів, особливо тих, хто має складні переломи або погіршену здатність до регенерації кісткової тканини. Також застосування мезенхімальних стовбурових клітин дозволяє покращити якість залікованої кістки, зменшуючи ризик повторних переломів та зміцнюючи її. Це особливо важливо для пацієнтів, які можуть стикатися з ускладненнями під час відновлення.

Крім того, використання мезенхімальних стовбурових клітин може бути

корисним для запобігання остеопорозу та зміцнення кісткової тканини, особливо для людей похилого віку та тих, хто має підвищений ризик кісткових ушкоджень. Загалом наші результати свідчать про великий потенціал використання мезенхімальних стовбурових клітин у клінічній медицині для поліпшення процесу загоєння переломів, скорочення часу відновлення та покращення якості життя пацієнтів. Враховуючи наведене вище, подальші клінічні дослідження і впровадження цих методів можуть мати значний вплив на підвищення ефективності та результативності лікування переломів.

Результати дисертації успішно впроваджені в практичну діяльність травматологічних та ортопедичних, хірургічних відділень, а також у навчальний процес кафедр в закладах вищої освіти.

Ключові слова: репаративний остеогенез, мезенхімальні стовбурові клітини, вартонові драгли, пошкодження кісткової тканини, гострий експеримент, щури, клінічне дослідження, експериментальне дослідження, перелом, консолідація перелому.

ABSTRACT

Riaboshapko O. M. The role of mesenchymal stem cells in the activation of reparative osteogenesis (clinical-experimental study). - Qualification scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 «Health Care», specialty 222 - «Medicine». - National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2024.

The dissertation presents the results of the analysis of the effect of Wharton's jelly mesenchymal stem cells on reparative osteogenesis in the area of a bone fracture, provided that mesenchymal stem cells obtained from Wharton's jelly are used in an experimental animal model and the treatment of patients with the presence of gunshot fractures as a result of combat trauma using multipotent mesenchymal stem cells.

The dissertation research was carried out in accordance with the research plans of the National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya and is a fragment of the research work “Improvement of methods of diagnosis, treatment and rehabilitation of patients with injuries and diseases of the musculoskeletal system” (state registration number: 0123U102765 of 02.06.2023).

The research model involved the use of mesenchymal stem cells, the source of which was the Wharton's jelly cells of the umbilical cord. The research was carried out in two stages, which included experimental and clinical parts. The purpose of the experimental part was to substantiate the possibility of using mesenchymal stem cells to improve the process of osteogenesis. For this, 64 Wistar rats were used, which were subjected to osteotomy to simulate a tibial fracture. After the operation, the animals were divided into two groups: the control group, which did not receive treatment, and the experimental group, which was injected with a suspension of mesenchymal stem cells of Wharton's jelly of the umbilical cord. The wound was treated and sutured, and immobilization was not performed. Animals were removed from the experiment for histological examination at various stages of observation.

The material for research was removed on the 7th, 14th, 21st and 28th days of the experiment. Bone fragments of tibia bones were selected for histological examination, which were subject to morphological and morphometric examination.

In the clinical part, the results of treatment of patients who were treated between 2022 and 2023 were analyzed. The results of treatment of 30 people, who were divided into control and experimental groups, were evaluated based on clinical condition and radiographs.

For the first time, during the implementation of the experimental part of this study, during the introduction of mesenchymal stem cells, the origin of which was Wharton's jelly of the umbilical cord, significantly more active processes of reparative osteogenesis were found in the area of the cancellous bone defect in rats during all observation periods, compared to the control group. Reparative bone regeneration includes a sequence of processes of migration, proliferation and differentiation of cells, the formation of primary and secondary histionic structures, which culminate in

the formation of full-fledged bone tissue.

On the 7th day of the experiment, during the histological analysis of the tissues of the fracture site of the tibial bone of rats in the main group, the presence of mononuclear cells similar to blood monocytes (mononuclear cells), macrophage cells and mesenchymal fibroblast-like cells, as well as poorly and undifferentiated cells in a significantly greater number was revealed, than in the control group. On the 14th day of the experiment, after the treatment of the fracture between the bone fragments, signs of the formation of endosteal and periosteal bone regeneration were also established. On the 21st day, the rats of the experimental group showed signs of fracture union through the formation of endosteal, periosteal and intermediate bone calluses, and the bone tissue was more mature. On the 28th day, the main group showed more intense signs of remodeling of the bone regenerate than the control group.

For the first time, on the basis of histological studies, it was shown that the physiological and pathological remodeling of bone tissue of tibia bones in the conditions of their fracture differs in the control and experimental groups of white laboratory rats. The obtained data of histological analysis show that in the absence of treatment, inflammatory changes persist longer, which significantly slows down the processes of bone tissue regeneration. This confirms that the formation of bone regenerate of the tibia during fracture healing is accompanied by a consistent change of tissue-specific structures with the formation of full-fledged bone tissue at the site of the defect after 28 days of observation.

Peculiarities of planar morphometric parameters in the area of the fracture in rats of the control and experimental groups indicate a significant advantage of the processes of reparative osteogenesis in the experimental group, which was injected with mesenchymal stem cells from Wharton's jelly. On the 14th day of the experiment, the indicator of the area of bone trabeculae had significantly higher ($p < 0,01-0,02$) values in the experimental group, which may be a consequence of the interaction of mesenchymal stem cells and their isolated factors, as well as adaptation processes in the fracture area.

All observation periods, with the exception of the 14th day, revealed significantly ($p < 0,01-0,02$) higher values of planar parameters of reparative osteogenesis in the experimental group. The identified features of osteogenesis indicate progressive reparative processes in the fracture area in both groups during the entire observation period, with a pronounced predominance in the experimental group. Smaller values of the area of bone trabeculae in the control group on the 14th day indicate the existence of adaptation processes, which may suppress the activity of mesenchymal stem cells and their factors in this period of reparative osteogenesis.

The analysis of other morphometric parameters of the bone in the affected area showed the high efficiency of using mesenchymal stem cells. Of all the studied parameters, only the number of functionally active osteoblasts was greater in the control group on the 21st day. The identified features indicate a positive effect of mesenchymal stem cells on the treatment of fractures in all periods of observation, as well as a reduced number of functionally active fibroblasts when using stem therapy on the 21st day of the experiment.

The obtained conclusions confirm the effectiveness of the use of mesenchymal stem cells in the treatment of bone fractures. Analysis of radiological indicators confirmed better results of bone tissue regeneration in patients who received mesenchymal stem cells compared to a control group where traditional treatment methods were used. On the third month of treatment, the majority of patients in the experimental group demonstrated an angiogenic bone structure and the absence of resorption of bone fragments, which indicates successful tissue regeneration.

Thus, the practical significance of our research on the use of mesenchymal stem cells in the process of fracture healing is of great importance for medical practice and surgery. The use of these cells made it possible to significantly improve the process of bone tissue regeneration and shorten the fracture healing time. The main discovery is the possibility of reducing the time required for fracture healing, which is critical for patients, especially those with complex fractures or impaired ability to regenerate bone tissue. Also, the use of mesenchymal stem cells improves the quality of the healed bone, reducing the risk of repeated fractures and strengthening the healing

process. This is especially important for patients who may face complications during recovery.

In addition, the use of mesenchymal stem cells may be beneficial in preventing osteoporosis and strengthening bone tissue, especially for the elderly and those at increased risk of bone damage. Overall, our results demonstrate the great potential of using mesenchymal stem cells in clinical medicine to improve fracture healing, shorten recovery time, and improve patients' quality of life. Given this, further clinical research and implementation of these techniques could have a significant impact on increasing the effectiveness and efficiency of fracture treatment.

The results of the dissertation have been successfully implemented in the practical activities of traumatological and orthopedic, surgical departments and the educational process of departments in higher education institutions.

Keywords: reparative osteogenesis, mesenchymal stem cells, Wharton's jelly, bone damage, acute experiment, rats, clinical study, experimental study, fracture, fracture consolidation.

Список публікацій здобувача, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Fishchenko V. O., & Riaboshapko O. M. (2023). Morphological features of reparative osteogenesis under the influence of mesenchymal stem cells. *Morphology*, 1(168), 331-342.

2. Рябошапко, О. (2023). Mesenchymal stem cells: a promising means of activating reparative osteogenesis. *Перспективи та інновації науки*, 12(30), 860-869.

3. Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2023). Peculiarities of planar microscopic parameters of rat bone tissue in the fracture area when using Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Перспективи та інновації науки*, 16(34), 743-752.

4. Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2024). Morphometric indicators of bone tissue of rats when using mesenchymal stem cells from Warton's jelly against the background of a fracture. *Перспективи та інновації науки*, 1(35), 797-806.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху морфологічних показників при введенні мезенхімальних стовбурових клітин на фоні ушкодження кістки: дані експериментального дослідження на 14 добу. In *The 11th International scientific and practical conference "Scientific research in the modern world"* (August 24-26, 2023) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2023. 395 p. (p. 68).

6. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху мікроскопічних показників ураженої кісткової тканини за умови введення мезенхімальних стовбурових клітин: дані на 21 добу експерименту. In *The 9th International scientific and practical conference "Innovations and prospects in modern science"* (August 28-30, 2023) SSPG Publish, Stockholm, Sweden. 2023.

265 p. (p. 39).

7. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентиального розмаху морфометричних показників в ураженій кістковій тканині на 7 добу експерименту при введенні мезенхімальних стовбурових клітин. *In The 12th International scientific and practical conference “Scientific progress: innovations, achievements and prospects” (August 21-23, 2023) MDPC Publishing, Munich, Germany. 2023. 254 p. (p. 29).*

8. Рябошапко, О. М. (2023, September). Межі процентиального розмаху морфологічних показників на 28 добу експерименту при введенні в зону перелому мезенхімальних стовбурових клітин. *In The 12th International scientific and practical conference “Science and technology: problems, prospects and innovations” (September 1-3, 2023) CPN Publishing Group, Osaka, Japan. 2023. 238 p. (p. 29).*

ЗМІСТ

	Стор.
АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	15
ВСТУП	16
РОЗДІЛ 1. АКТУАЛЬНІ ДАНІ ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН В ЛІКУВАННІ ПЕРЕЛОМІВ: КЛІНІЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	24
1.1 Епідеміологія, патофізіологія переломів кісток.....	24
1.2 Поняття про клітинні технології. Мезенхімальні стовбурові клітини.....	32
1.3. Застосування клітинних технологій в лікуванні переломів кісток.....	40
РОЗДІЛ 2. ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	48
2.1 Дизайн дослідження.....	48
2.2 Методи дослідження.....	50
2.2.1. Одержання мезенхімальних стовбурових клітин.....	50
2.2.2. Гістологічне і морфометричне дослідження.....	51
2.2.3. Клінічне дослідження.....	52
2.2.4. Математична статистика.....	53
РОЗДІЛ 3. ОСОБЛИВОСТІ ОСТЕОГЕНЕЗУ ПРИ ТРАВМАТИЧНОМУ ПОШКОДЖЕННІ КІСТКИ ПІД ВПЛИВОМ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН, ДЖЕРЕЛОМ ЯКИХ Є ВАРТОНОВІ ДРАГЛІ (ГОСТРИЙ ЕКСПЕРИМЕНТ)	54
3.1. Репаративний остеогенез при травматичному пошкодженні великогомілкової кістки щурів без застосування мезенхімальних	

	14
стовбурових клітин з Вартонових драглів.....	54
3.2. Репаративний остеогенез при травматичному пошкодженні великогомілкової кістки щурів із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин з Вартонових драглів.....	61
3.3. Розмірні параметри елементів кісткової тканини щурів у ділянці перелому при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин з Вартонових драглів.....	68
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ЛІКУВАННЯ ВОГНЕПАЛЬНИХ ПЕРЕЛОМІВ КІСТОК З ВИКОРИСТАННЯМ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН.....	84
4.1. Оцінка результатів лікування пацієнтів з переломами кісток, яких лікували локальним уведенням стовбурових клітин Вартонових драглів пупкового канатика.....	84
4.2. Клінічні випадки пацієнтів з переломами кісток, яких лікували уведенням мезенхімальних стовбурових клітин з Вартонових драглів.....	87
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ....	100
ВИСНОВКИ.....	111
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	113
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	114
ДОДАТОК А.....	137
ДОДАТОК Б.....	140
ДОДАТОК В.....	145

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

ВД	– Вартонові драгли
МСК	– мезенхімальні стовбурові клітини
МСКВД	– мезенхімальні стовбурові клітини, джерелом яких є Вартонові драгли
ПК	– пупковий канатик
КFAO	– кількість функціонально активних остеобластів
ККТЗК	– кількість контактів трабекул з кортексом
КPOL	– кількість порожніх остеоцитарних лакун
SKONKT	– середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах
SKT	– площа кісткових трабекул
SKT-SKM	– відношення площі кісткових трабекул до площі міжтрабекулярних просторів
SMP	– площа міжтрабекулярних просторів
TKT	– товщина кісткових трабекул

ВСТУП

Актуальність теми. Серед різноманітних травматичних подій, з якими людина стикається в процесі повсякденної діяльності, одним з найбільш серйозних видів травматичного процесу є перелом кістки. Це відбувається за рахунок збільшення частоти отримання цього виду травми, тривалості розладу здоров'я та відповідно економічних збитків, що вони несуть.

Дані аналізу бази Університетської лікарні Умео (Швеція) з 1993 р. до 2007 р. виявили понад 10 тисяч випадків травм із щонайменше 1 переломом. За цей період спостереження кількість випадків переломів зросла на 13%, що відповідало рівню захворюваності 201 перелом на 10^4 людино-рік [78].

За інформацією з лікарень в Швейцарії за 2009-2011 рр. зареєстровано 2840 випадків переломів довгих трубчастих кісток у підлітків. У 59% випадків це були переломи променевої або ліктьової кістки, у 21% – плечової кістки, у 15% – великогомілкової або малогомілкової кістки та у 5% – стегнової кістки [88].

При аналізі даних бази Medicare, що містить дані близько 2,5 млн пацієнтів, у 2011 р. зафіксовано понад 47 тисяч пацієнтів з понад 56 тисячами переломів. З них у 2,5% спостерігали незрощені переломи. Рівень смертності за такого виду травми складав 4,8% [216].

Кількість і локалізація переломів кісток є специфічною і залежить від віку, статі, країни, професії та інших факторів. Під час дослідження 87-мільйонного населення Сполучених Штатів було виявлено майже 600 000 випадків переломів кісток лише верхньої кінцівки. Найчастіше зустрічалися переломи дистального відділу променевої та ліктьової кісток, найрідше — ключиці. Дослідження також виявило, що переломи фаланги та зап'ясткової кістки залежали від соціально-економічного статусу (кількість зменшувалася зі зростанням статусу) [93].

У ЄС кількість переломів, пов'язаних з остеопорозом, оцінюється в 2,7

млн в 2017 р. з ризиком збільшення до 3,3 млн в 2030 р. Зі свого боку це призведе до збільшення витрат на охорону здоров'я саме на вирішення цієї проблеми з 37,5 мільярдів євро в 2017 р. до 27% у 2030 р. Втрата скоригованих на якість років життя оцінюється станом на 2017 р. у 1,0 мільйона років [28]. Над оцінкою економічного ефекту переломів на тлі остеопорозу в цілому активно працюють дослідники з метою прогнозування навантаження на економіку. Так, у Китаї, за оцінками науковців, кількість і вартість таких переломів до 2035 р. зросте в 2 рази, а отже, становитиме майже 6 мільйонів переломів вартістю понад 25 мільярдів доларів США [175].

Водночас лікування переломів є значним фінансовим навантаженням на систему охорони здоров'я. Аналіз даних лікування переломів у більше 200 тисяч осіб показав, що прямі витрати на лікування переломів довгих кісток складають від 3291 доларів США для променевої кістки до 12 923 доларів США при переломі стегна [27].

Усе це спричинило бурхливий розвиток наукових напрямків, що спрямовані на вдосконалення або створення нових методів лікування переломів. Одним із таких методів, який уже знайшов своє практичне застосування, є клітинна терапія з використанням мезенхімальних стовбурових клітин. Ці клітини здатні до самовідтворення та диференціації в різні типи клітинних ліній – адипоцити, хондроцити, остеоцити, гладком'язові клітини, фібробласти, гемопоетичні клітини [123]. Серед різних джерел організму, які можуть їх забезпечити, найбільш перспективними на сьогодні вважаються Вартонові драгли. Клітини, отримані з цього джерела в пуповині, володіють такими необхідними характеристиками, як простий спосіб виділення, відсутність травматичних наслідків для донора, значний потенціал диференціації для всіх клітинних ліній [22].

Застосування стовбурових клітин – порівняно новий напрям в медицині, що наразі розвивається і, досить ймовірно, вплине на майбутнє ортопедичної хірургії. Стовбурові клітини пов'язані з великими перспективами для медицини. Для хірурга-ортопеда стовбурові клітини можуть змінити спосіб

ведення ортопедичної хірургії та загальний підхід до лікування захворювань опорно-рухового апарату. Стовбурові клітини можуть поєднати сферу ортопедії, де домінують хірургічні заміни та реконструкції, зі сферою регенерації та профілактики ускладнень, пов'язаних із кістковою тканиною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Тема дисертації затверджена Вченою радою Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (протокол № 2 від 21 жовтня 2021 р.). Дисертаційне дослідження здійснено відповідно до планів наукових досліджень Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова і є фрагментом науково-дослідної роботи “Удосконалення методів діагностики, лікування та реабілітації пацієнтів з травмами та захворюваннями опорно-рухового апарату” (№ державної реєстрації: 0123U102765 від 02.06.2023 р.).

Мета дослідження – вивчити та обґрунтувати на основі експериментального дослідження можливість оптимізації репаративного остеогенезу шляхом трансплантації мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин в ділянку пошкодження кісткової тканини.

Для реалізації поставленої мети були виконані такі основні **завдання**:

1. Провести аналіз сучасних літературних джерел, що стосуються поширеності, структури і патофізіології утворення переломів кісток, сучасного стану розвитку клітинної терапії та оцінити можливості застосування її досягнень в лікуванні переломів кісток.

2. Дослідити гістологічні особливості репаративного остеогенезу в ділянці перелому великогомілкової кістки щурів під впливом введення мезенхімальних стовбурових клітин.

3. Визначити особливості динаміки репаративного остеогенезу при локальному введенні мезенхімальних стовбурових клітин в ділянку травмованої кісткової тканини в експериментальних тварин.

4. Визначити ефективність застосування мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні порушень репаративного остеогенезу.

5. Оцінити віддалені результати лікування переломів, спричинених дією вогнепальної зброї, з використанням мезенхімальних стовбурових клітин та порівняти їх із використанням традиційних методів лікування цього виду переломів.

Об'єкт дослідження – репаративна регенерація кісткової тканини.

Предмет дослідження – репаративний остеогенез кісток за умови застосування мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих із вартонових драглів, лікування хворих з порушеннями репаративного остеогенезу з використанням мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин.

Методи дослідження: бібліосемантичний – для оцінки актуальності вибраної тематики, вивчення результатів подібних досліджень; експериментальний – для проведення моделювання перелому кістки на тваринній моделі; гістологічний – для оцінки та розуміння механізму дії мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів на процеси репаративного остеогенезу, зокрема шляхом морфометричного дослідження, що оцінює ключові показники загоєння кісткової тканини; інструментальний – застосування рентгенологічного дослідження з метою оцінки впливу дії мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів на загоєння перелому у пацієнтів; клінічний – застосування загальноклінічних методів обстеження пацієнта з метою оцінки його стану; метод статистичного аналізу – для обґрунтування об'єктивності результатів дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. У ході проведених досліджень уперше висвітлено практичні аспекти застосування мезенхімальних стовбурових клітин у регенерації кісткової тканини під час загоєння перелому. Вперше досліджено позитивний вплив мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих із Вартонових драглів пупкового канатика, на активність репаративного остеогенезу в усіх етапах спостереження. Гістологічне дослідження показало, що введення мезенхімальних стовбурових клітин призвело до збільшення кількості одноядерних, макрофагальних та мезенхімальних фібробластоподібних клітин, що сприяло активізації процесів

регенерації кісткової тканини. У групі, де застосовували мезенхімальні стовбурові клітини, спостерігалось формування ендостального та періостального кісткового регенерату вже на 14-й день після пошкодження, що свідчить про прискорену регенерацію. На 28-й день спостерігалася інтенсивна перебудова кісткового регенерату, що свідчить про більш ефективну регенерацію кістки.

У дослідженні вперше виявили значні відмінності в морфометричних параметрах між групами щурів, які отримували мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів, та контрольною групою. Зокрема, ми виявили, що на всіх етапах спостереження репаративний остеогенез був активніший в експериментальній групі. У групі, де застосовували мезенхімальні стовбурові клітини, спостерігалася значна зміна площинних показників репаративного остеогенезу, особливо на 14-й день спостереження, що може бути наслідком взаємодії мезенхімальних стовбурових клітин та їх виділених факторів з процесами репарації кістки. Дані дослідження також показали, що практично всі морфометричні параметри, аналізовані у зоні перелому, були вищими в експериментальній групі. Це свідчить про стимулювальний вплив мезенхімальних стовбурових клітин на репаративний процес на всіх етапах спостереження. Отримані результати відкривають нові перспективи для лікування переломів за допомогою клітинної терапії та розширюють наше розуміння механізмів репарації кісткової тканини. Новою інформацією, яка може бути корисною для подальших досліджень в галузі регенеративної медицини є виявлені нами дані про знижену кількість активних фібробластів у групі з мезенхімальними стовбуровими клітинами на 21-й день експерименту.

Дослідження підтвердило ефективність використання мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні переломів кісток. Пацієнти, яким застосовувались ці клітини, демонстрували кращу регенерацію кісткової тканини і мали менше випадків незрощення перелому порівняно з традиційними методами лікування. Це вказує на перспективність та ефективність нового підходу до терапії переломів кісток. Отримані результати

відкривають нові можливості для розробки і впровадження інноваційних методів лікування, спрямованих на покращення якості життя пацієнтів з переломами кісток.

Практичне значення одержаних результатів. Результати даного дослідження щодо використання мезенхімальних стовбурових клітин у загоєнні перелому мають важливе практичне значення для клінічної медицини та хірургії. За допомогою мезенхімальних стовбурових клітин вдалося досягти значного покращення процесу регенерації кісткової тканини та скорочення часу зрощення перелому. Насамперед отримані результати вказують на потенційну можливість зменшення часу, необхідного для загоєння перелому, що є критичним для пацієнтів, які мають погіршену регенеративну здатність кісткової тканини. Також використання мезенхімальних стовбурових клітин дозволяє покращити якість регенованої кістки, зменшуючи ризик рецидивів переломів та підвищуючи міцність загоєння. Це важливо для пацієнтів, які можуть стикатися з ускладненнями під час процесу зцілення перелому. Крім того, використання мезенхімальних стовбурових клітин може допомогти у запобіганні розвитку остеопорузу і зміцненні кісткової тканини, що є особливо актуальним для людей похилого віку та тих, хто має підвищений ризик кісткових ушкоджень. Загалом результати нашого дослідження свідчать про значний потенціал використання мезенхімальних стовбурових клітин у практиці клінічної медицини для оптимізації процесу загоєння переломів, зменшення часу лікування та покращення якості життя пацієнтів. Враховуючи це, подальші клінічні дослідження та впровадження цих методів у практику можуть мати значний вплив на підвищення ефективності та результативності лікування переломів.

Результати проведених досліджень використовуються в лекційних курсах та на практичних заняттях кафедри травматології та ортопедії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, а також проваджені у практичну діяльність хірургічного відділення Університетської клініки Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова,

відділення травматології та ортопедії Комунального некомерційного підприємства «Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги», травматологічного пункту Комунального некомерційного підприємства «Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги», ортопедо-травматологічного відділення Науково-дослідного інституту реабілітації осіб з інвалідністю Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Особистий внесок здобувача. Автором здійснено патентно-інформаційний пошук, проведено аналіз новітніх наукових публікацій, що стосуються теми дисертаційного дослідження. Здобувач підготував дизайн експериментального дослідження на щурах та клінічного дослідження за участі пацієнтів з вогнепальними пораненнями кісток. Особисто провів лікування експериментальних тварин та пацієнтів. Усього обстежено 30 пацієнтів, що передбачало ознайомлення з їх історією захворювання, первинний огляд, проведення рентгенографічного дослідження, оцінку клінічного стану пацієнта. Автором підібрано відповідні методи статистичного аналізу отриманих результатів, проведено узагальнення цих результатів та сформульовано висновки відповідно до поставлених на початку дослідження завдань. Тому основні результати оцінки впливу мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів на процеси репаративного остеогенезу в експерименті та визначення ефективності даного методу лікування в клініці належать автору.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на науково-практичній конференції з міжнародною участю The 11th International scientific and practical conference “Scientific research in the modern world” (Торонто, 2021); науково-практичній конференції з міжнародною участю The 9th International scientific and practical conference “Innovations and prospects in modern science” (Стокгольм, 2023); науково-практичній конференції з міжнародною участю The 12th International scientific and practical conference “Scientific progress: innovations, achievements and prospects” (Мюнхен, 2023); науково-практичній конференції з міжнародною

участю The 12th International scientific and practical conference “Science and technology: problems, prospects and innovations” (Осака, 2023).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць. 4 статі опубліковано в наукових фахових журналах України.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація представлена українською мовою на 148 сторінках (110 сторінках залікового машинописного тексту) і складається з анотації, змісту, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів, вступу, огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження, двох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, з яких 6 викладені кирилицею і 210 – латиницею, а також трьох додатків. Дисертація ілюстрована 32 рисунками та 4 таблицями.

РОЗДІЛ 1

АКТУАЛЬНІ ДАНІ ЩОДО ЗАСТОСУВАННЯ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН В ЛІКУВАННІ ПЕРЕЛОМІВ: КЛІНІЧНІ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Епідеміологія, патофізіологія переломів кісток

За своєю суттю кістка є організованою динамічною сполучною тканиною, що має важливі метаболічні та механічні функції, специфічну макроскопічну і мікроскопічну структуру. Структурною одиницею кістки є мінералізовані колагенові фібрили. Клітинний склад кістки включає в себе такі різновиди клітин як остеобласти, остеокласти та остецити, які за рахунок специфічної взаємодії між собою виконують метаболічну, репаративну і адаптаційну функції; разом з клітинами кістку формує також матрикс, який представлений органічним і неорганічним типами. Тіло людини налічує зазвичай 206 кісток, які поділяють залежно від форми на довгі, короткі, плоскі, неправильної форми та сесамоподібні. За структурними особливостями кістки поділяють на плетені, пластинчасті, кортикальні та губчасті кістки [26].

До складу позаклітинного матриксу кістки входять мінерали (65%), вода (10%), ліпіди (1%) та органічний матеріал (25%). Органічний матрикс складається з колагену типу I і неколагенових білків (90 і 10% відповідно) [68].

Остеобласти становлять 4-6% від загальної кількості резидентних клітин кістки і є кубоподібними, білок-синтезуючими клітинами, розташованими вздовж поверхні кістки, які виділяють остеїд у бік кісткового матриксу. Остецити складають 90-95% усіх клітин у кістці та є клітинами-довгожителами (тривалість життя близько 25 років), розташованими в лакунах, оточені мінералізованою кістковою матрицею. Остеокласти походять від мононуклеарних клітин гемопоетичних стовбурових клітин та виконують низку важливих функцій, як-от ремоделювання кістки, регулювання

гемопоетичних стовбурових клітин [62].

Останні наукові відкриття дають все більше підстав вважати, що окрім опорної та захисної функції кістки володіють метаболічною функцією, тобто їх можна вважати ендокринною залозою. Osteоцити виділяють фактор росту фібробластів 23, який зі свого боку впливає на нирки та інші органи. Окрім того, osteоцити підтримують мінеральний (фосфатний) гомеостаз [48].

У цілому ж скелет не є сталою структурою, як це здається на перший погляд, а зазнає постійних змін унаслідок процесів моделювання та реконструкції. Обидва процеси відбуваються за рахунок узгодженої взаємодії osteокластів і osteобластів. Усе це регулюється завдяки паратиреоїдному гормону, вітаміну D, інсулін-подібному фактору росту, рецепторному активатору ядерного фактора каппа B, склеростину та іншим ендокринним і паракринним факторам [50].

Одним з ключових показників для оцінки стану кісток є щільність кісткової тканини. Досягнення максимальних значень щільності кісткової тканини відбувається в період з дитинства до близько 30 років, за умови повноцінного та збалансованого харчування з як мінімум адекватним добовим споживанням кальцію та вітаміну D. Різниця в здатності досягти максимальної кісткової маси визначається на 60-80% генетичними факторами, тоді як решта 20-40% – це фактори зовнішнього середовища [95].

Кровопостачання кістки відіграє ключову роль в регулюванні її ремоделювання та відновлення і здійснюється через живильні артерії, що проникають до ендостальної порожнини, у метафізарно-епіфізарну систему та періостальну систему кровопостачання. Усього кістки отримують близько 10% крові від серцевого викиду [121].

Описана вище ієрархічна структура, цілісність кістки дозволяє протистояти й витримувати значні механічні навантаження. Водночас будь-які порушення рівноваги в організмі можуть призводити до зниження граничних можливостей кістки витримувати навантаження. Зокрема, причиною цього може бути старіння людини [215].

Так, Sundh D. зі співавторами [183] проаналізовано ареальну мінеральну щільність кісткової тканини в осіб віком близько 80 років. У 19,1% обстежуваних у віці після 50 років були переломи. У цієї категорії осіб виявлено достовірно більшу пористість кісток ($p < 0,01$).

Переломи спричиняють значні економічні втрати як для пацієнтів, так і для економіки країн світу [191, 199]. За підрахунками загальні прямі медичні витрати на лікування переломів стегна складають більше 50 тисяч доларів США на пацієнта, що на рік складає для системи охорони здоров'я США майже 6 мільярдів доларів США [8]. Аналіз бази даних дослідження MarketScan з 2001 р. до 2008 р. дозволив на підставі інформації 208 тисяч пацієнтів з переломами отримати інформацію щодо вартості лікування даної патології. Найбільші середні витрати на лікування перелому протягом 6 місяців спостерігалися при лікуванні стегнової кістки – 12 923 доларів США, найменші при лікуванні променевої кістки – 3291 доларів США [27]. Дані Вікторіанського реєстру результатів ортопедичних травм протягом п'яти років, який охоплює дані 3886 осіб, показали, що 8,1% були повторно госпіталізовані через ускладнення загоєння протягом двох років після перелому. Загальні витрати на госпіталізацію з приводу ускладнень загоєння переломів склали 4,9 мільйона австралійських доларів [56]. Оцінка вартості лікування переломів хребців в Китаї виявила, що сумарні медичні витрати складають 505,3 млн доларів США станом на 2017 р. Лише в 2013 р. ця цифра була 92,74 млн доларів США [213].

Переломи, пов'язані з крихкістю кісток, є однією з найбільш актуальних проблем осіб старечого віку. Кількість таких переломів складає більше 2 мільйонів на рік. Сумарно на щорічні виплати витрат на охорону здоров'я у зв'язку з такими переломами витрачається близько 20 мільярдів доларів США [58].

Поширеність переломів є вкрай неоднорідною в різних вікових, статевих групах та має певні специфічні патерни в різних країнах [146, 148, 165, 170, 178, 202]. Аналіз глобального тягаря переломів за 2019 рік виявив, що у світі

налічувалося 178 мільйонів нових випадків переломів, 25,8 мільйонів років проживання інвалідності внаслідок отриманих переломів. Даний показник менший порівняно з даними 1990 року – кількість нових переломів менша на 9,6%, а років інвалідності на 8,4%. Водночас порівняно з 1990 роком у 2019 році зафіксовано збільшення абсолютної кількості переломів на 33,4% [38]. У 2017 році було зафіксовано більше 7,5 мільйонів нових випадків переломів обличчя, найбільша поширеність яких спостерігалася в країнах Центральної Європи [104].

База даних Сполучного Королівства з 1988 р. до 2012 р. містила інформацію про понад 11 мільйонів осіб. Демографічний аналіз показників, що стосувалися переломів, виявив значні відмінності у частоті переломів в різних регіонах – у Шотландії кількість переломів була на 50% вищою, ніж в Лондоні. У темношкірих осіб обох статей спостерігався найнижчий рівень переломів. У білих жінок кількість переломів була в 4,7 разів більшою, ніж у темношкірих жінок [47]. Дані з цієї ж бази, але стосовно дітей, показали, що найбільш часто переломи, аналогічно як і в дорослих, спостерігалися серед білих, а найменше – серед чорношкірих. Найвищий рівень спостерігався в Уельсі, де переломи спостерігалися в 1,82 рази частіше у хлопчиків та в 1,97 рази у дівчат, ніж в Лондоні [131].

Збір даних щодо пацієнтів в лікарні Амману (Йорданія) з 2018 р. до 2021 р. виявив, що більшість пацієнтів з переломами були чоловіками, серед пацієнтів домінували особи дорослого віку. У вікових групах до 50 років переважали чоловіки, після 50 років – жінки. У чоловіків частіше зустрічалися переломи лопатки, ключиці, дистального відділу плечової кістки та діафрагми довгих кісток. Жінки мали більшу частоту переломів проксимального відділу плечової кістки, проксимального та дистального відділів стегнової кістки, дистального відділу гомілки та грудного відділу хребта [9].

Аналіз NHANES бази даних 2013-2014 (3300 пацієнтів) виявив, що поширеність переломів хребта склала 5,4%. Поширеність такої локалізації перелому впевнено зростала з віком: в осіб до 60 років поширеність була

менше 5%, в осіб віком 70-79 років – 11%, більше 80 років – 18%. Зокрема, переломи частіше виявляли в осіб з низьким показником індексу ваги тіла та мінеральною щільністю кісткової тканини [46].

Стресові переломи є наслідком хронічного перенавантаження кістки. Близько 20% усіх переломів в спорті є саме стресовими переломами. Значною мірою у групі ризику перебувають спортсменки – частота цих переломів становить приблизно 9,2% у спортсменок-початківців, тоді як у чоловіків-початківців – 3%; у спортсменок зі стажем – 9,7% і 6,5% у спортсменів зі стажем [42].

Досить частим є явище виникнення переломів на тлі остеопорозу. Метааналіз 62 публікацій щодо поширеності переломів хребців на тлі остеопорозу показав найвищі показники в Європі в країнах Скандинавії – на рівні 26%, найнижчі – у Східній Європі на рівні 18%; в Азії найвищий показник в Японії на рівні 24%, найнижчий в Індонезії – 9% [18]. У Китаї дослідження за участі більше 20 тисяч осіб виявило, що поширеність остеопорозу складає 5,0% серед чоловіків і 20,6% серед жінок у віці більше 40 років, з них переломи хребців спостерігаються в 10,5% чоловіків і 9,7% жінок [193].

Особливим видом переломів є перипротезні переломи. Частота післяопераційних перипротезних переломів після ендопротезування кульшового суглоба коливається в межах 0,1-18%, після ендопротезування колінного суглоба – 0,3-5,5%, після ендопротезування плечового суглоба – 0,5-3% [35].

Аналіз даних двох Швейцарських клінік стосовно переломів довгих кісток у дітей виявив такі особливості: з 2009 р. до 2011 р. зафіксовано 2716 випадків переломів із сумарною кількістю 2840 переломів довгих трубчастих кісток, з них 59% променева або ліктьова кістки, 21% плечова кістка, 15% великогомілкова або малогомілкова кістка, 5% стегнова кістка [88].

У Німеччині в 2019 році було зареєстровано 688403 переломи. У цілому з 2009 р. до 2019 р. кількість переломів зросла на 14% з переважанням

перелому шийки стегнової кістки, особливо серед жінок віком старше 90 років [158].

Когортне дослідження за участю понад 4000 пацієнтів в одній клініці з 2006 р. до 2013 р. виявило 1128 випадків перелому стегна. Середній вік пацієнтів був 82 роки. З кожним роком відмічалось зростання кількості випадків перелому, проте водночас щорічно зменшувалась летальність – з 12,1% до 6,5%. Із 220 летальних випадків в клініці 35% були спричинені респіраторними інфекціями, 21% – ішемічною хворобою серця та 13% – серцевою недостатністю [40]. Дані ретроспективного огляду тривалістю 12 років щодо результатів лікування 1223 пацієнтів віком 60 років і старше, які мали перелом таза, показали, що індикатор смертності через 3 місяці після лікування складає 7,1%, через 6 місяців – 11,4% а через 1 рік – 12,9% [24]. Загалом усереднений рівень смертності при переломах таза сягає 3% [149]. Спостереження протягом 22 років за 2901 особою, зокрема жителями округу Олмстед (США), що зазнали перелому з 1989 р. до 1991 р., виявило 1420 випадків смерті. Стандартизований показник смертності був найвищим в найближчий час після перелому та не залежав від локалізації перелому [127].

Процес заживлення перелому є складним і комплексним, оскільки передбачає взаємодію цілої низки систем організму [23, 143, 164, 168, 169, 201]. У цілому процес відновлення кісткової тканини прийнято поділяти на 4 послідовні фази: запальну, утворення хрящового мозоля, утворення кісткового мозоля та фазу реконструкції. У кожній з цих фаз відмічено активацію певного ряду клітин імунної системи. Під час запальної фази спостерігається активність тромбоцитів, нейтрофілів, макрофагів, натуральних кілерів та незначно Т-кілерів. У наступній фазі частково діють нейтрофіли, далі продовжують діяти макрофаги, починають брати участь остеокласти та Т-клітини. У фазі утворення кісткового мозоля найбільш активні макрофаги, остеокласти і В-клітини, а в останній фазі – тільки макрофаги та остеокласти [17]. Одним з визначальних елементів, що здійснює вплив на перебіг репаративного процесу, на думку вчених, є фактор некрозу пухлини-альфа,

який за своєю важливістю поступається лише пулу мезенхімальних стовбурових клітин [94]. Процеси гострого запалення відіграють важливу роль у заживленні перелому. Пригнічення запалення або його перехід в хронічне запалення можуть нашкодити процесу загоєння [119]. Посилюють процес загоєння кісткової тканини макрофаги та $\gamma\delta$ Т-клітини, що продукують інтерлейкін (IL)-17, тоді як $CD8^+$ Т-клітини погіршують відновлення кісток [141]. Ці процеси мають місце в межах первинної кісткової гематоми. Дані досліджень вказують на те, що порушення чи видалення такої гематоми погіршує процес заживлення перелому [166].

Сучасна наука виділяє дві форми загоєння кісткової тканини – первинну і вторинну. Первинна виникає за умови щільного контакту дефектних поверхонь. При такому механізмі загоєння не утворюється кістковий мозоль – остеокласти і остеобласти безпосередньо загоюють дефект. Вторинне загоєння має місце при неповному контакті дефектних поверхонь. Це призводить до вторинного формування кістки шляхом утворення м'якого мозоля, що зазнає анаболічної фази, потім катаболічної і в кінці ремоделювання з утворенням на його місці пластинчастої кістки [69, 89].

Вік значною мірою впливає на процес загоєння перелому. Зокрема, вікових змін зазнають стовбурові та імунні клітини – їхня кількість зменшується, а потенціал до диференціювання теж зазнає негативних змін. Т-клітини також страждають від вікових змін – їх виробництво зменшується у кістковому мозку. Макрофаги мають знижену проліферацію та підвищену активацію, зменшується кількість ангіогенних факторів, необхідних для васкуляризації мозоля [44]. У віці після 60 років ризик виникнення перелому складає 29% у чоловіків та 56% у жінок. Поширеними ускладненнями є сповільнене загоєння та незрошення перелому, частота яких складає від 1% до 54%. Лікування осіб з незрошенням переломів потребує додаткових фінансових витрат, у середньому це 25556 доларів США порівняно з 11686 доларами у пацієнтів без такого ускладнення [63].

Цукровий діабет II типу внаслідок негативного впливу на процеси

запалення і васкуляризації перешкоджає адекватному розподілу поживних речовин та кисню до остеогенних клітин в місці відновлення, що в свою чергу погіршує процес загоєння перелому [122].

Метааналіз літературних джерел дозволив сформувавши шкалу стратифікації з 10 факторів ризику незрощення довгих кісток, зокрема стегнової та гомілкової кісток: відкритий спосіб репозиції перелому, відкритий перелом, наявність післяопераційної щілини перелому, куріння, інфекція, клиновидний або осколковий типи перелому, високий ступінь початкового зміщення перелому, відсутність належної механічної стабільності, що забезпечується використанням імплантатом, розташування перелому в зоні зниженого кровопостачання, перелом великогомілкової кістки [163].

Гемодіаліз порівняно з перитонеальним діалізом викликає збільшення частоти переломів на 31% (HR 1,31, 95% ДІ: 1,01–1,70) [115].

Спостереження за більше 20 тисячами пацієнтів з цирозом печінки та більше 11 тисяч з хронічним панкреатитом з 1995 р. до 2010 р. зафіксувало серед них 3954 та 2594 переломи відповідно. Статистична обробка даних показала, що HR для будь-якого перелому становив 2,4 у пацієнтів з цирозом печінки (95% ДІ, 2,2–2,5) і 1,7 у пацієнтів з хронічним панкреатитом (95% ДІ, 1,6–1,8) [19].

Порівняння даних Шведської медичної бази даних щодо кількості та особливостей переломів у 714 осіб з вродженою гіперплазією надниркових залоз та 71400 здорових осіб виявило достовірно більшу кількість переломів у осіб з патологією (23,5% проти 16,1%, OR 1,61, 95% ДІ 1,35-1,91) [60].

Підвищена вага тіла сприяє утворенню переломів кісток таза, що було підтверджено шляхом експериментального комп'ютерного моделювання. Первинна теорія про те, що прошарки м'яких тканин будуть слугувати амортизаційним шаром і таким чином пом'якшать вплив на кістки не знайшла свого підтвердження [98].

Основними і найбільш поширеними ускладненнями перелому стегна є

когнітивні патологічні зміни (10%), післяопераційний делірій (13,5-33%), серцева недостатність та ішемія міокарда (35-42%), тромбоз глибоких вен (27%), емболія легеневої артерії (1,4-7,5%), загострення хронічного захворювання легень, ателектаз, дихальна недостатність (4%), внутрішньолікарняна пневмонія (7%), диспепсія, здуття живота та запор (5%), шлунково-кишкова післяопераційна стресова виразка та шлунково-кишкова кровотеча (1,9%) [36]. При переломах п'ясткової кістки частота ускладнень коливається в межах 32-36%. Найбільш поширеним видом ускладнення є ригідність, що складає 76% від усіх ускладнень. Такі ускладнення, як інфікування, незрощення перелому чи розрив сухожилля зустрічаються набагато рідше і складають 1,6% ускладнень [101]. За даними тайванського госпіталя, що налічував з 2005 р. до 2013 р. 1621 пацієнта з торакальною травмою, було встановлено, що 78,5% мали переломи ребер, які ускладнювалися травматичним гемотораксом у 31,8% випадків, у 15,6% – пневмотораксом, у 9,6% – гемопневмотораксом та в 4,6% – забоем легень [113]. Частим ускладненням переломів є приєднання інфекції [133].

Неповні атипові переломи при гістологічному дослідженні мають вигляд безперервного розриву в межах коркової речовини. Такий розрив має ширину в середньому 180 мкм і містить в собі аморфні маси без клітин [167].

Розглянута в даній частині розділу інформація дозволяє зробити висновок про значну поширеність і тяжкість, яку несуть в собі переломи. Механізми загоєння перелому є складними і комплексним та вимагає врахування різних параметрів пацієнта. Також існує потреба в розгляді нових і перспективних засобів лікування, що, зокрема, можуть бути використані для загоєння переломів.

1.2 Поняття про клітинні технології. Мезенхімальні стовбурові клітини

Вперше поняття мезенхімальні стовбурові клітини було використано

Капланом А. І. в 1991 році щодо фібробласів, які були отримані з кісткового мозку миші, і використовувалися як живильні клітини для тривалого культивування гемопоетичних стовбурових клітин [204]. Уперше ж ці клітини були виділені й описані задовго до цього, у 1970-1974 роках Фріденштейном та співавторами в кістковому мозку як рідкісна популяція клітин, що належала до цього органу [129, 200].

Досі суперечливою є термінологія, що використовується навколо мезенхімальних стовбурових клітин, які часто по суті ними не є, коли про них йде мова в наукових дослідженнях. Поняття щодо самих мезенхімальних стовбурових клітин, яке було сформовано більше 25 років тому позначало певний клас клітин кісткового мозку, які можна виділити та розмножити в культурі. При цьому дані клітини зберігали свою здатність індукувати утворення різноманітних клітин. Водночас наразі більшість досліджень чи робіт присвячені вивченню клітин попередників, що насправді осідають в ділянках пошкоджень та виділяють біоактивні фактори, що мають регенеративні властивості, але не індукують утворення іншого типу клітин. Тому в науковій спільноті існує заклик до перейменування цих клітин в «лікарські сигнальні клітини», що правильно і значно точніше передає їхню роль та суть, а також не створює у пацієнтів хибне враження щодо механізму лікування через вживання слів «стовбурові клітини» [34]. Проте досі процес перейменування йде досить повільно в іноземній літературі. Української наукової спільноти даний термін взагалі не досяг – у вітчизняній літературі відсутні будь-які згадки цього терміну. Тому надалі в огляді буде представлений типовий для української наукової спільноти термін.

У цілому ж стовбурові клітини прийнято класифікувати на ембріональні стовбурові клітини, індуковані плюрипотентні стовбурові клітини і дорослі стовбурові клітини. Мезенхімальні стовбурові клітини є різновидом останніх і за своєю суттю є негематопоетичними мультипотентними стовбуровими клітинами зі здатністю диференціюватись у мезодермальні лінії (наприклад, нейрцити, гепатоцити, адипоцити, хондроцити, остецити тощо) [190].

Стовбурові клітини відрізняє від інших клітин експресія клітинних поверхневих маркерів, наприклад, CD73, CD90 та CD105, а також відсутність експресії таких маркерів, як CD45, CD34, CD14, CD19, CD11b та ізотипу DR лейкоцитарного антигена людини [176]. Окремі дослідження також наводять позитивну реакцію на такі поверхневі маркери, як CD9, CD29, CD44, CD54, CD61, CD63, CD71, CD97, CD98, CD99, CD106, CD146, CD155, CD166, CD276 і CD304 та негативну реакцію додатково на CD133 [138].

У 2006 році Міжнародне товариство клітинної терапії визначило для стовбурових клітин кісткового мозку людини мінімальні критерії: ізольовані клітини мають бути пластично прикріплені в культурі; клітини експресують кластери диференціювання CD73, CD90 і CD105 більшою мірою. Більше ніж 95% клітинної популяції; більш ніж 95% клітин не мають експресії CD14 або CD11b, CD79a або CD19, CD34, CD45 і людського лейкоцитарного антигену DR; культивовані клітини мають здатність диференціюватися в остеобласти, адипоцити та хондробласти [13].

Важливим компонентом, що впливає на терапевтичний ефект стовбурових клітин, є їхня здатність до мігрування, адгезії та приживання в ділянку ушкодження, патології. Так, в експериментах показано, що свіжоізольовані клітини порівняно з клітинами, культованими *in vitro*, мають вищу ефективність мігрування [135].

Протягом тривалого часу жирова тканина вважалася інертною з погляду біології. Однак відкриття вченими стромальних і стовбурових клітин у ній перевернуло ці погляди. Жирові стовбурові клітини мають широкий діапазон до диференціювання (адипоцити, хондроцити, остеобласти тощо) та виділяють цитокіни, фактори росту, нуклеїнові кислоти та інші макромолекули [31].

Ще одним джерелом стовбурових клітин є апікальний сосочок – структури в незрілих коренях зубів. Такі клітини є джерелом одонтобластів і викликають апексогенез і можуть індукувати утворення одонтобластоподібних клітин, нейроноподібних клітин або адипоцитів [208].

У цілому із самого зуба стовбурові клітини можуть бути також отримані з внутрішньої пульпи дорослих корінних зубів [105], з пульпи молочних відшарованих зубів. З опорних тканин зуба мезенхімальні стовбурові клітини можна отримати із зубного фолікула, періодонтальної зв'язки, ясен та навіть з тканини, взятої під час імплантації зубів [173].

Досі суперечливою є роль периваскулярних мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин, що розташовані за межами кісткового мозку, особливо це стосується такого роду клітин в головному мозку, перицитів та адвентиціальних клітин, що є окремою популяцією стовбурових клітин, на відміну від нервових стовбурових клітин [11].

Також джерелом стовбурових клітин є окістя. Незважаючи на спільне походження зі стромальними стовбуровими клітинами кісткового мозку, такі клітини з окістя мають вищі показники клоногенності, здатності до диференціації та росту [54].

Новознайденим різновидом є циркулюючі мезенхімальні стовбурові клітини, які за своїми властивостями подібні до мезенхімальних стовбурових клітин кісткового мозку, проте перебувають на низькому рівні і їх першочергове завдання – міграція до місць пошкоджень в тілі людини [205].

Пуповина людини є найбільш перспективним джерелом мезенхімальних стовбурових клітин [108, 136]. Ці клітини можуть диференціюватись у три зародкові шари, сприяють відновленню тканин, модулюють імунну відповідь, мають протиракові властивості, можуть бути поживним середовищем для ембріональних чи плюрипотентних стовбурових клітин [51]. Клітини, отримані з пуповини, є більш примітивними, проліферативними та імуносупресивними, ніж їхні аналоги в осіб дорослого віку [57].

Нововідкритим джерелом мезенхімальних стовбурових клітин є амніотичні епітеліальні клітини людини, що належать до перинатальних стовбурових клітин плаценти. На відміну від інших плацентарних клітин, вони зберігають потенціал багатолінійної диференціації протягом усієї вагітності, що робить їх більш привабливими для використання в клітинній терапії [128].

Вартонові драгли є скупченням мукоїдної сполучної тканини, що підтримує судини пуповини. Ззовні дана структура оточена зовнішнім амніотичним епітелієм. Прийнято ділити Вартонові драгли на два структурні відділи: периваскулярний, що служить адвентицією судин, та проміжний, що контактує з оболонкою пупкового канатика [49]. Мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів пуповини людини відповідно до даних літератури мають антифіброзні властивості, що досягається в результаті паракринної передачі сигналів: у дослідженнях відмічено підвищену експресію білків IL-6, IL-8, TGF- β 1 і TGF- β 2 [12]. Також вони мають високу валентність проліферації, не мають таких негативних властивостей, як тератогенна чи канцерогенна трансформація [153] і проявили хороші результати в експериментальних дослідженнях щодо лікування раку та імуноопосередкованих розладів [90, 111].

Найбільш унікальною здатністю клітин з Вартонових драглів, на думку науковців, є здатність експресувати ізоформу HLA-G6, що займає ключове значення у клітинній терапії. Окрім того, саме мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів демонструють найбільш примітивні клітинні властивості, маючи антигени по типу Tra-1-60, Tra-1-81, SSEA-1 і SSEA-4 [123].

У цілому дослідження щодо вивчення лікувальних властивостей мезенхімальних стовбурових клітин зосереджено на двох моментах – системне введення клітин в ділянку ураження або моделювання за допомогою них імунологічної відповіді [92].

Мезенхімальні стовбурові клітини знайшли своє застосування для патологій в різних системах тіла, що мають різні етіологію та патогенез виникнення [99, 130, 137, 140, 156]. Від моменту повідомлення про ізоляцію і розширення культури в 1992 році, до моменту їх першого введення пацієнтам з лікувальною метою пройшов лише за один рік. Станом на 2019 рік понад 10 тисяч осіб пройшли клінічні випробовування із застосування мезенхімальних стовбурових клітин [150].

Потенційною терапією при лікуванні травм спинного мозку є застосування трансплантації клітин Шванна, нервових стовбурових клітин або клітин-попередників, клітин нюхової оболонки, клітин-попередників олігодендроцитів і мезенхімальних стовбурових клітин [15].

Певний потенціал виявлений щодо застосування мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні вірусних інфекцій, а саме: ВІЛ-1, гепатит В, герпесвірус, парвовірус, вірус пташиного грипу [187].

Завдяки тому, що мезенхімальні стовбурові клітини демонструють фенотипові та функціональні подібності до перицитів, вони можуть успішно застосовуватися при лікуванні розсіяного склерозу [45]. Зокрема, станом на 2014 рік у світі проводились 14 клінічних досліджень, присвячених окресленій тематиці. До того ж, результати одного клінічного дослідження щодо лікування аутизму із застосуванням стовбурових клітин вже показало позитивні результати. Два клінічні дослідження щодо лікування глаукоми на момент публікації знаходились у початковій фазі дослідження [139].

Доклінічні дослідження із застосування мезенхімальних стовбурових клітин при хворобі Паркінсона зосереджені на тому, аби виводити нові популяції дофамінергічних нейронів, що втрачаються при даній патології або захистити ті, що під загрозою [71].

Обнадійливими є результати щодо застосування мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні остеоартриту [64], пошкоджень внутрішньохребтових дисків [160], шкірних захворювань [96], захворювань серцево-судинної системи [73]. Наприклад, починаючи з 1998 року проходять численні клінічні дослідження, у фокусі уваги яких перебуває використання стовбурових клітин для лікування серцевої недостатності. За наступні 15 років результати таких досліджень показали значні позитивні результати [161].

Стовбурові клітини є перспективним засобом для лікування цукрового діабету I типу внаслідок прояву дії одразу в кількох напрямках – це регенерація інсулін-продукуючих клітин та імунотерапевтичний вплив. Обидві моделі вже успішно перевірені в експериментальних умовах [203].

Застосування клітин з Вартонових драглів у кількості $2,6 \times 10^7$ двічі з інтервалом у 4 тижні показало зниження індикаторів постпрандіальної глюкози та HbA1c на 9-й і 24-й місяць дослідження [132].

Мезенхімальні стовбурові клітини можуть ефективно застосовуватись як протипухлинне лікування за рахунок своєї властивості до транспортування наночастинок. Отже, можливим є застосування їх як агентів щодо доставки частинок, які зможуть знищувати пухлини [209].

Станом на 2012 рік виконувалося більше 170 клінічних досліджень з питань застосування мезенхімальних стовбурових клітин при цирозі печінки. Результати свідчать про позитивний вплив такого виду лікування: зниження показника смертності, випадків асцити, показників за Чайлд-П'ю та MELD [211].

Мезенхімальні стовбурові клітини мають значний потенціал у прискоренні та стимуляції ангіогенезу – окрім властивості до перетворення в ендотеліальні клітини вони виділяють навколо себе безліч біоактивних молекул, як-от ангіогенні фактори, фактори росту та цитокіни [30, 198].

Дискутабельним лишається питання про застосування мезенхімальних стовбурових клітин при хронічній нирковій недостатності. На тлі таких позитивних змін, як покращення функції та регенерація ниркової тканини, відмічено й негативні ефекти – адипогенна диференціація, злаякісна трансформація та протромботична дія мезенхімальних стовбурових клітин [55].

Внесення дорослих стовбурових клітин в рану дозволяє покращити її загоєння. В експериментальному дослідженні введення 2×10^6 клітин один раз на день протягом 4 днів після поранення значно підвищило механічні властивості рани (міцність на розрив) [66]. Загалом лікувальна дія стовбурових клітин при ранах шкіри зумовлена паракринною взаємодією – посилюється ангіогенез, відбувається ремоделювання позаклітинного матриксу, усувається запалення в рані [106].

Терапія клітинами з Вартонових драглів є перспективною для лікування

ушкоджень периферичних нервів шляхом підтримки регенерації Шванівських клітин або навіть отримання зрілих клітин даного типу. Зокрема, збільшення кількості виходу клітин можна досягнути зменшенням вмісту кисню з 21% до 5% [97].

Біологічні характеристики мезенхімальних стовбурових клітин, добутих з різних джерел, виражено відрізняються. Chen J. Y. та інші [41] встановили, що найкращими показниками швидкості проліферації володіли клітини з пуповини, дещо меншими – з менструальної крові та найменшими – з жирової тканини. Колонієутворюючу функцію найкраще проявляли клітини з менструальної крові, посередньо – з жирової тканини та найгірше – з пуповини.

Tamaki Y. зі співавторами [184] порівняли клоногенний і проліферативний потенціали клітин з різних джерел. Ствобурові клітини апікального сосочка та стовбурові клітини зубного фолікула мали більший потенціал, ніж стовбурові клітини кісткового мозку.

Порівняння мезенхімальних клітин з кісткового мозку людини, жирової тканини, Вартонових драглів та плаценти щодо імуносупресивних властивостей показало, що найбільш сильний ефект мають мезенхімальні стовбурові клітини за походженням з Вартонових драглів, що досягається шляхом найнижчої експресії генів МНС II, TLR4, TLR3, JAG1, NOTCH2 і NOTCH3 [109].

Мезенхімальні стовбурові клітини з пуповинної крові мають найвищий рівень клітинної проліферації та клональності та значно нижчу експресію p53, p21 та p16 порівняно з клітинами, отриманими з жирової тканини та кісткового мозку [86].

Культивовані клітини з кісткового мозку і жирової тканини при порівнянні мають схожу фібробластоподібну морфологію та моделі експресії поверхневих маркерів. Проте клітини, отримані з жирової тканини, мають кращі показники проліферації, тоді як клітини з кісткового мозку демонструють кращі показники щодо остеогенної та хондрогенної

диференціації [107].

Наразі відбувається впровадження нових методик культивування мезенхімальних стовбурових клітин. Зокрема, перспективним є застосування 3D адгезивної клітинної культури (сфероїдів), що мають порівняно з клітинами, вирощеними за традиційною 2D технологією, посилені протизапальні, ангіогенні та тканинні репаративні ефекти [39].

Механотрансдуктивні механізми, зокрема жорсткість субстрату, потік рідини, стиснення, гідростатичний тиск, натяг, впливають на схильності мезенхімальних стовбурових клітин до диференціювання [180].

Одним із важливих параметрів лікування мезенхімальними стовбуровими клітинами є врахування кількості введених клітин. Аналіз даних клінічних досліджень з 2008 р. до 2018 р. виявив, що найбільш частим є метод внутрішньовенного введення в середньому 100 мільйонів клітин на пацієнта на дозу. Мінімально ефективні дози коливалися від 70 до 190 мільйонів клітин [91].

Також актуальним є питання собівартості терапії стовбуровими клітинами. У 2018 році витрати на виробництво мільйона аутологічних клітин були оцінені в 94 долари США. З урахуванням того, що на 1 кг маси тіла необхідна доза в 2 мільйони клітин, вартість такої терапії для особи вагою 70 кг складатиме понад 13 тисяч доларів США [103].

Дана частина огляду літературних джерел дозволила виділити значні плюси і широкі можливості застосування мезенхімальних стовбурових клітин в лікуванні різного роду патологій. Необхідним є встановлення, які наразі є результати попереднього застосування цієї технології для лікування переломів кісток.

1.3 Застосування клітинних технологій в лікуванні переломів кісток

Питання щодо застосування клітинної терапії в процесі регенерації

тканин опорно-рухового апарату людини з'явилося практично відразу з відкриттям самих мезенхімальних стовбурових клітин. З того часу з даною метою були застосовані стовбурові клітини практично всіх джерел походження: стовбурові клітини ясен зубів, периваскулярні мезенхімальні стовбурові клітини, клітини жирової тканини, мезенхімальні клітини кісткового мозку [14, 20, 87, 131, 157, 172, 177, 179, 181, 188, 192, 196, 212]. Серед усіх елементів опорно-рухової системи людини, а саме зв'язкового апарату, хрящового і м'язового, найбільшу цікавість для дослідження наразі представляє кістковий елемент [74, 124, 126, 145, 147].

Існують три основні вимоги для успішного застосування клітинної терапії при переломах кісток: наявність клітин-попередників для формування тканин разом із наявними клітинами-хазяїнами; стимулюючі фактори для керування клітинними процесами; матриця біоматеріалу для забезпечення клітин тривимірними сигналами для формування нової тканини [80].

Дослідження показують, що мезенхімальні стовбурові клітини не є мультипотенційною популяцією стовбурових клітин, а головним та основним джерелом стовбурових клітин для відновлення кісткової тканини при переломах чи інших її дефектах є окістя. Проте окрім них до процесу формування кісткового мозоля залучені також інші клітини, зокрема перицити та стромальні клітини кісткового мозку, які координують процес відновлення [29]. Мезенхімальні стовбурові клітини становлять менше 0,01% популяції клітин кісткового мозку і при народженні складають 1 стовбура клітина на 10^4 мононуклеарних клітин кісткового мозку, у підлітковому віці 1 на 10^5 , а після 80 років 1 на 2×10^6 . Штучна диференціація клітин в остеобласти досягається шляхом додавання в середовища для культивування вітаміну D3, аскорбінової кислоти та β -гліцерофосфату. Вже в подальшому остеобласти, оточені мінералізованою колагеновою матрицею, будуть диференціюватися в остеоцити [59].

Постнатальна регуляція регенерації кісткової тканини регулюється як прозапальними так і антизапальними цитокінами. Зі свого боку мезенхімальні

стовбурові клітини володіють імуносупресивними властивостями, інгібують диференціювання моноцитів та попередників кровотворення і пригнічення секреції прозапальних цитокінів [116].

Періостальні клітини також реагують на аутокринні і на паракринні фактори, що виділяються навколишніми клітинами та тканинами. Першочергово клітини попередники реагують на такі подразнення утворенням мозоля, що надалі замикає цикл і заново запускає процеси рекрутингу клітин з навколишніх тканин, ангіогенез та ремоделювання [76]. Паракринні сигнальні молекули, отримані з макрофагів (наприклад, онкостатин М, простагландин Е2 і кістковий морфогенетичний білок-2), відіграють вирішальну роль у керуванні диференціюванням мезенхімальних стовбурових клітин [144].

Стимуляція диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин в остеобласти є актуальним питанням, оскільки це є ключем до регенерації кісткової тканини. Серед таких факторів головними є: кістковий морфогенний білок, трансформуючий фактор росту β , фактор 1, отриманий зі стромальних клітин, інсуліноподібний фактор росту типу 1, гістондеметилазу JMJD3, циклінзалежна кіназа 1, фукоїдан, фактор транскрипції Runx2 і коактиватор транскрипції TAZ [67].

У цілому механізм наведення мезенхімальних стовбурових клітин в ділянку пошкодження кістки можна описати так: HIF-1 α збільшує транскрипцію продукції CXCL12 (SDF1) у клітинах пошкодженої кістки. Далі є два варіанти залежно від кількості кисню: при його нормальній кількості HIF-1 α гідроксильується, що призводить до зв'язування HIF-1 α з білком фон Гіппеля-Ліндау (VHL) і подальшого убіквітування (Ub) і протеасомної деградації. У випадку зниженої кількості кисню HIF-1 α стабілізується та мігрує в ядро, щоб утворити комплекс з HIF-1 β . Ця і подальша реакції можуть сприяти міграції мезенхімальних стовбурових клітин з кровообігу в місце перелому кісткової тканини [142]. Окрім того, у процесі залучення мезенхімальних стовбурових клітин до місця перелому беруть участь

молекули хемоатрактантів, що вивільняються в місці пошкодження кістки, серед яких найголовнішу роль відіграє SDF-1 і менш важливу RANTES, MIP-1 α , MCP-1, CCL25 і CXCL16 [197].

М'язові клапті часто використовують для покриття пошкодженої кістки після травматичного ушкодження для активації окістя та утворення кісткового мозоля, адже м'язова тканина є джерелом стовбурових клітин для регенерації пошкодженої кісткової тканини, що доведено експериментальними дослідженнями при симуляції переломів у мишей [7].

Більшість досліджень показали зниження здатності мезенхімальних стовбурових клітин до остеогенної диференціації з віком, що необхідно брати до уваги. Проліферативна здатність і кількість колонієутворюючих одиниць клітин знижена у вікових групах 59-75 років [70]. Таке зниження проліферативної активності веде до зниження кісткової маси і схильності мезенхімальних стовбурових клітин до створення адипогенних ліній [83]. Також знижується активність прозапальних цитокінів, що також негативно впливає на функціональну активність мезенхімальних стовбурових клітин [114].

Молекулярні механізми впливу мелатоніну на загоєння переломів досі лишаються маловивченими. Проте експериментальні дослідження показали, що у поєднанні з мезенхімальними стовбуровими клітинами мелатонін підвищує викид нейропептиду та експресію NPY1R, що сприяє проліферації та міграції стовбурових клітин [52].

Досі незрозумілим є вплив TNF α на остеобластогенез з мезенхімальних стовбурових клітин. У літературних джерелах є дані як на користь цього, так і проти такого твердження [102].

Клітинна терапія на основі саме таких клітин вже знайшла своє підтвердження при остеоартриті, ревматоїдному артриті, остеопорозі, остеонекрозі головки стегнової кістки [118]. Що ж відомо безпосередньо про застосування мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні переломів?

Метааналіз 7 досліджень стосовно ефективності застосування

стовбурових клітин при лікуванні переломів показав, що порівняно з контрольною групою, яка отримувала фізіологічний розчин, через 2 тижні спостерігався сприятливий ефект зі стандартизованою середньою різницею 3,16 (95% ДІ 2,42, 3,49) [21].

Важливим елементом, що забезпечує ефективне лікування перелому кісток при введенні мезенхімальних стовбурових клітин є застосування матриць і каркасів, що нагадують фізіологічну нішу, у якій знаходиться дана популяція клітин в тілі людини. Так, конструкції з високою жорсткістю сприяли диференціюванню в остеобласти, тоді як менша жорсткість спрямовувала до міогенезу, нейрогенезу та адипогенній диференціації [32].

Dreger T. зі співавторами досліджено [53] роль мезенхімальних стовбурових клітин, які циркулюють у крові, у процесі зцілення переломів та можливість їх використання для поліпшення цього процесу. Експерименти проводилися на мишах, у яких створювали перелом стегнової кістки. Клітини вводили у хвіст мишей на 1-му та 3-му дні після перелому. Виявлено, що при інтравенозному введенні в перший, але не в третій день після перелому, CD271-відібрані клітини активно накопичувалися на місцях перелому протягом щонайменше 7 днів. Усі переломи, навіть без введення клітин, зцілювалися протягом 3 тижнів. Встановлено, що оптимальний період для інтравенозного введення клітин у мишей був приблизно через 24 години після перелому.

Більшість даних експериментальних та клінічних досліджень вказують на ефективність застосування мезенхімальних стовбурових клітин при уповільнених або невдалих зрощеннях переломів [72].

Застосування мезенхімальних стовбурових клітин з власної жирової тканини може бути найбільш ідеальним джерелом клітин для клітинної інженерії переломів кісток. Дослідження показують, що таке лікування прискорює заживлення кісток обличчя та черепа, зокрема на це вказують дані двох клінічних досліджень: на дівчинці віком 7 років та чоловікові 65 років [75].

Набуває значної популярності екзосомна терапія [84]. Екзосомна терапія за допомогою стовбурових клітин сприяє проліферації та міграції клітин, а також остеогенезу та ангиогенезу в процесі формування кісток, що ідеально відповідає запиту у випадку перелому кісток [77]. Дослідження Liu W. зі співавторами [117] підтвердили, що гіпооксія сприяє загоєнню переломів кісток через екзосомальний miR-126 і сигнальний шлях SPRED1/Ras/Erk, підвищуючи перспективність та ефективність цього методу для загоєння переломів кісток.

Метааналіз результатів 23 експериментальних досліджень на гризунах (690 щурів та 38 кроликів) показав ефективність застосування екзосом мезенхімальних стовбурових клітин при різних патологіях кісток – як переломах, так і остеонекрозах, остеопорозах. Вони продемонстрували покращені морфологічні, біомеханічні та гістологічні результати в поєднанні з позитивним впливом на виживання клітин, зокрема, їх проліферацію, міграцію, остеогенез, ангиогенез [185].

Екзосоми, що на відміну від мезенхімальних стовбурових клітин не мають побічних дій, є чудовою альтернативою першим стосовно виконання паракринної функції. Окрім цього, репараційні можливості екзосом не знижуються з віком, що не можна сказати про стовбурові клітини [207].

Huang S. зі співавторами [81] в дослідженні на 48 щурах виконали закритий поперечний перелом стегнової кістки з внутрішньою фіксацією та введенням місцевим або загальним мезенхімальних стовбурових клітин, фізіологічний розчин або фібробласти шкіри. Стовбурові клітини вводили у кількості 2×10^6 клітин через 4 дні після перелому. Дані обстежень показали, що у щурів, яким вводили стовбурові клітини, кісткові мозолі мали найбільший розмір, окрім того, на рентгенограмах в цих групах не було виявлено щілини перелому. Водночас автори не виявили відмінностей при загальному і місцевому введенні стовбурових клітин. Однак системна інфузія все ж може мати гірший терапевтичний ефект через втрату мезенхімальних стовбурових клітин при проходженні через легені. Дослідження Iaquina M. R.

та інших [82] показало в режимі реального часу розподіл стовбурових клітин при введенні протягом 2 діб. У першій фазі при загальному введенні клітини потрапляють в легені і лише потім – в печінку та інші органи.

Мезенхімальні стовбурові клітини і жирового походження, і з кісткового мозку добре демонструють здатність до остеогенезу як *in vitro*, так і *in vivo* з переважанням клітин жирового походження в першому варіанті та кістково-мозкового у другому [110].

Touradakis С. А. та інші [189] виконали поперечний перелом стегнової кістки у мишей, після чого одній групі мишей вводили підшкірно протягом 3 днів мезенхімальні стовбурові клітини, іншій групі (контроль) – фізіологічний розчин. Загоєння оцінювали до 84 днів після перелому за допомогою гістологічного дослідження та мікрокомп'ютерної томографії. Дані мікрокомп'ютерної томографії показали, що мозоль в експериментальній групі був значно більшим порівняно з контрольною групою на 21-й день і значно меншим (ремодельованим) на 84-й день, що свідчить про значну перевагу введення мезенхімальних клітин.

Клінічне дослідження було проведено за участі 24 пацієнтів з дистальними переломами великогомілкової кістки. Експериментальна група отримувала лікування із застосуванням ін'єкції мезенхімальними стовбуровими клітинами кісткового мозку та периферичної крові з гребеня клубової кістки, контрольна – традиційне лікування. Середній час зрощення в експериментальній групі склав 1,5 місяці, у контрольній групі – 3 місяці [112].

Статистичний аналіз результатів дослідження щодо введення мезенхімальних стовбурових клітин в кістковий дефект мишам показав достовірно більші ($p < 0,05$) показники об'єму кісткової тканини в групі введення стовбурових клітин (за даними мікрокомп'ютерної томографії) [174].

Sox11 є важливим регулятором диференціації та міграції мезенхімальних стовбурових клітин у випадку остеогенезу, адипогенезу і хондрогенезу. Модифіковані за допомогою Sox11 такі клітини можуть мати значне клінічне значення для прискорення загоєння переломів кісток [206].

Встановлено, що клітинна терапія проявляє кращі результати при пізніх періодах травми, ніж при ранніх. Водночас ін'єкція клітин значно допомагає (успішність 75-90%) вирішити питання незрощених переломів [125].

Рентгенографія через 7 днів після введення групі пацієнтів в зону перелому кістки мезенхімальних стовбурових клітин показала стабільне і пришвидшене формування кістки порівняно з групою контролю, де вводили фізіологічний розчин [151].

Клітинна терапія є ефективною на тваринних моделях дослідження при лікуванні недосконалого остеогенезу, що призводить до підвищеної крихкості кісток. Дослідження показали значуще підвищення кількості кісткового колагену та мінеральних речовин після введення мезенхімальних стовбурових клітин [159].

Висвітлені в даному розділі дані показали значну актуальність дослідження щодо застосування стовбурових клітин в лікуванні переломів кісток. Водночас наявні роботи досі не охоплюють усі мінімально необхідні питання, що цікавлять клініцистів, у зв'язку з чим необхідні подальші експериментальні і клінічні дослідження з метою якнайшвидшої імплементації такої методики в рутинну практику.

Результати досліджень, які представлені у даному розділі дисертації, відображені в одній публікації у фаховому виданні України [2].

РОЗДІЛ 2

ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Дизайн дослідження

Дослідження проведено в два етапи, що передбачало експериментальну та клінічну частини дослідження. Експериментальна частина дослідження мала на меті обґрунтування можливості застосування мезенхімальних стовбурових клітин для покращення процесу остеогенезу. Для цього відібрано 64 щури (як самці, так і самиці) лінії «Вістар» віком 7-8 місяців вагою від 210 до 360 г. Щурів утримували у віварії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Усім щурам моделювали перелом великогомілкової кістки шляхом остеотомії з використанням інтрамедулярного остеометалосинтезу. Оперативне втручання виконували в умовах асептики та антисептики під загальним наркозом (Кетамін) у розрахунку 10 мг на кілограм маси тіла. Надалі щурів розподіляли на дві рівнозначні групи по 32 щури: контрольна група без лікування та експериментальна з введенням за допомогою шприца суспензії мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів пуповини у кількості 25 тисяч клітин в 25 мкл фізіологічного розчину. Післяопераційну рану промивали фізіологічним розчином, наглухо ушивали та обробляли розчином йодонату в обох групах тварин. Імобілізацію тваринам не застосовували. Щурів виводили з експерименту під ефірним наркозом на 7-му, 14-ту, 21-шу та 28-му добу експерименту з метою подальшого гістологічного дослідження ділянки перелому, що включало також морфометричне дослідження ключових показників, які характеризують репаративний остеогенез.

Для клінічної частини проаналізовано результати лікування пацієнтів, що проходили лікування в КНП ВМКЛ ШМД з 2022 р. до 2023 р. Усього проаналізовано результати лікування у 30 осіб, з яких 15 склали контрольну

групу – пацієнти, яким проводили класичне лікування перелому, що включало в разі помірних ушкоджень м'яких тканин після етапних хірургічних обробок рани метод черезкісткового остеосинтезу стрижневим апаратом зовнішньої фіксації з усуненням вагомого зміщення уламків, а після загоєння рани та ліквідації гнійних процесів замінювали метод фіксації із використанням металоконструкцій для внутрішнього накісткового або блокованого інтремедулярного остеосинтезу «IRENE®». Свідоцтво про реєстрацію: № 11302/2012, від 13.03.2012. Наказ МОЗ: № 183 від 13.03.2012. Код УКТЗЕД: 9021 10 90 00. Назва виробника: Tianjin ZhengTian Medical Instrument Co., Ltd, China.

У разі масивних ушкоджень м'яких тканин остеосинтез апаратом зовнішньої фіксації (стрижневий або спице-стрижневий) для мінімізації частоти розвитку інфекційних ускладнень залишався методом вибору для використання у лікуванні вогнепальних переломів до повної консолідації відламків. Інші 15 осіб склали експериментальну групу – цим особам вводили мультипотентні мезенхімальні стовбурові клітини у кількості 30×10^6 клітин. У подальшому для оцінки результатів проведеного лікування використовували дані клінічного стану пацієнтів та дані рентгенографії. Для порівняння підібрано в кожній із груп пацієнтів з вогнепальними пораненнями та наявністю вогнепальних переломів подібного характеру з основним методом фіксації.

У початковому періоді дослідження оцінювали рентгенологічні показники обох груп дослідження, а саме: резорбція кісткових уламків, наявність остеопоротичних змін, характер перелому та початкові ознаки консолідації.

Комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 7 від 16.09.2021 та протокол № 4 від 01.04.2024) встановлено, що проведені дослідження не суперечать основним біоетичним нормам Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977), відповідним положенням ВООЗ та законам

України.

Усі етапи проведеного експериментального дослідження відповідали етичним нормам поводження з тваринами з дотриманням рекомендацій і вимог Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментів чи в інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Одержання мезенхімальних стовбурових клітин

Мезенхімальні стовбурові клітини були отримані з Вартонових драглів пупкового канатика від здорових донорів (39–40 тижнів гестації, пологи без ускладнень) після отримання інформованої письмової згоди в пологовому будинку № 5 м. Києва. Клітини виділені експлантаційним методом. Фрагмент пупкового канатика довжиною від 5 до 10 см промивали фосфатним буферним розчином, судини видаляли механічно. Вартонові драгли були механічно нарізані, фрагменти поміщені в культуральні пластикові флакони площею 75 см², що містять повне середовище для росту (DMEM/F12) з додаванням 10% фетальної бичачої сироватки, пеніциліну 100 ОД/мл, стрептоміцину 100 мкг/мл. Перші прикріплені клітини були помітні на 7–10 добу. Через 14 днів клони досягали 70-80% конфлюентності і клітини відкріплювали з використанням розчину трипсину-ЕДТА (0,05% трипсину та 0,02% ЕДТА). Під час першого пасажу клітини характеризували за експресією поверхневих маркерних білків CD90, CD73, CD105 (понад 95% позитивних), використовуючи проточну цитометрію (BD FACS Aria) з антитілами, кон'югованими з флуоресцеїном і родаміном (UsBiological, США). Для мікроскопії використовували інвертований мікроскоп Leica DMIL 235.

Починаючи з пасажу 1, мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів пересівали (за вищезазначеною методикою) на другий пасаж, який надалі використовували для введення.

Під час дослідження ми визначали маркери мезенхімальних стовбурових клітин на рівні другого пасажу, а крім позитивних CD90, CD73, CD105 використовували негативні – CD34 і CL45, рівень експресії яких складав 0,1-0,2%.

Експресію поверхневих маркерних білків CD34, CD45, CD90, CD73, CD105 визначали на другому пасажі методом проточної цитометрії (BD FACS Aria) з кон'югованими FITC- та PE-антитілами (UsBiological, США) за мінімальними критеріями для визначення мультипотентних мезенхімальних стромальних клітин.

2.2.2 Гістологічне і морфометричне дослідження

Дослідження проводилось на 64 самцях та самицях щурів лінії «Вістар» віком 7-8 місяців вагою від 210 до 360 г, що знаходились в умовах віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Тварини, що були розподілені на контрольну та експериментальну групи, по 32 тварини у кожній, знаходилися у звичайних умовах віварію. Обом групам виконували остеотомію верхньої третини великогомілкової кістки з метою моделювання перелому з наступним його лікуванням в експериментальній групі, використовуючи мезенхімальні стовбурові клітини, та без лікування в контрольній групі. Матеріал для дослідження вилучався на 7-му, 14-ту, 21-шу та 28-му добу експерименту.

Для гістологічного дослідження матеріал, а саме кісткові уламки великогомілкових кісток, фіксували 10% нейтральним формаліном, після чого проводили декальцинацію кісткової тканини, використовуючи ТРІЛОН Б, зневоднювали у спиртах концентрації, що зростали, та занурювали у парафін. Зрізи, отримані на санному мікроскопі, фарбували гематоксилином та еозином, укладали на предметні скельця.

Мікроскопію гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 (МОЗ України Свідоцтво про державну реєстрацію № 8120/2008, код 9011800000) із застосуванням

збільшень у 40, 100, 200 та 400 разів. Візуалізацію зображення та морфометрію здійснювали за допомогою морфометричної програми Quickphoto micro 2.3 (ліцензійна згода № 925113924), що дозволяє проводити 2737 пікселей. При морфологічному дослідженні вивчались структурні зміни всіх компонентів кісткової тканини – трабекулярного компонента ураженої кісткової тканини, її волокнистих структур, стану кісткового мозку, а також перифокальних м'яких тканин в зоні перелому в умовах реактивного запального процесу без лікування та при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин.

Для морфометрії використовували показники, що найбільшою мірою характеризують процес репаративного остеогенезу: площу кісткових трабекул (мкм^2), площу міжтрабекулярних просторів (мкм^2), відношення площі кісткових трабекул до площі міжтрабекулярних просторів, товщину кісткових трабекул (мкм), кількість контактів трабекул з кортексом (од.), середню кількість остеоцитів на кісткових трабекулах (од.), кількість порожніх остеоцитарних лакун (од.), кількість функціонально активних остеобластів (од.).

2.2.3 Клінічне дослідження

З урахуванням запропонованого методу лікування серед обстежених сформовано 2 групи: клінічну, яку склали 15 (50,00%) хворих, та контрольну, до якої увійшло 15 (50,00%) пацієнтів.

Пацієнтів з контрольної групи лікували з використанням класичних методів: у випадку невеликих пошкоджень м'яких тканин після хірургічної обробки рани використовували метод остеосинтезу стрижневим апаратом зовнішньої фіксації для відновлення кісткової структури та усунення значного зміщення уламків. Після зцілення рани та припинення гнійних процесів цей метод замінювали застосуванням металоконструкцій для внутрішнього остеосинтезу «IRENE®». У разі серйозних пошкоджень м'яких тканин використання апарата зовнішньої фіксації (стримувального або спице-стримувального) було обрано для зменшення ризику інфекційних ускладнень

у лікуванні вогнепальних переломів до повного зрощення відламків.

Лікування вогнепальних переломів у поранених з використанням клітинної терапії (клінічна група) мезенхімальними стовбуровими клітинами проводили з вересня 2022 року на базі КНП ВМКЛ ШМД. Отримано від BioTechCom 15 доз мезенхімальних стовбурових клітин, які були заморожені в рідкому азоті.

Ведення МСК виконували хворим після ліквідації гнійних ускладнень. Всього виконано 15 введень мезенхімальних стовбурових клітин, у всіх випадках проводили обколювання зони перелому (4-5 уколів з поворотом шприца, але без його виймання з ділянки ураження, проходячи голкою м'які тканини до впирання голки в кістку). Загальна доза введених пацієнту мезенхімальних стовбурових клітин складала 30×10^6 клітин. Результати терапії оцінювали порівнянням рентгенівських знімків до та після введення мезенхімальних стовбурових клітин, за клінічним станом пацієнтів, а також в порівнянні з аналогічними випадками без застосування клітинної терапії.

Рентгенографічне дослідження проводили на апараті Mobilett Mira max, заводський номер ДІВ_ХР 1059738-1008, рентгенівська трубка: Single tank, прискорювальна напруга 135 кВ, максимальний струм 450 мА, номінальна потужність 150 кВт, виробник Siemens Healthcare GmbH, Німеччина, проводячи рентгенографію в фіксованому положенні кінцівки.

Для оцінки клінічного стану пацієнтів застосовували дані загальноклінічного огляду.

2.2.4 Математична статистика

Збір даних проводили в пакеті MS Excel. Статистичну обробку морфометричних показників проводили в ліцензійному пакеті "Statistica 6.0" з використанням непараметричних методів оцінки. Визначали середні значення та стандартне квадратичне відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерія Мана-Уїтні [1].

РОЗДІЛ 3

**ОСОБЛИВОСТІ ОСТЕОГЕНЕЗУ ПРИ ТРАВМАТИЧНОМУ
ПОШКОДЖЕННІ КІСТКИ ПІД ВПЛИВОМ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ
СТОВБУРОВИХ КЛІТИН, ДЖЕРЕЛОМ ЯКИХ Є ВАРТОНОВІ ДРАГЛІ
(ГОСТРИЙ ЕКСПЕРИМЕНТ)**

**3.1 Репаративний остеогенез при травматичному пошкодженні
великогомілкової кістки щурів без застосування мезенхімальних
стовбурових клітин з вартонових драглів**

При гістологічному дослідженні тканин у місці перелому великогомілкової кістки щурів контрольної групи на 7-му добу експерименту між кістковими фрагментами з дегенеративними змінами виявлено гематому, яка є джерелом формування в подальшому ендостального та періостального кісткового регенерату. Складовими гематоми були еритроцити, більша частина яких перебувала у стані гемолізу, менша їх частина була збережена. Окрім еритроцитів були присутні одноядерні клітини за типом моноцитів крові (мононуклеари), макрофагальні клітини та мезенхімальні фібробластоподібні клітини, мало- та недиференційовані клітини. У цьому терміні серед них визначались молоді фібробласти у невеликій кількості. У крайових відділах кісткових фрагментів визначалась більша кількість остеобластів. По периферії зони перелому мала місце поліморфноклітинна запальна інфільтрація, представлена переважно поліморфноядерними лейкоцитами, лімфоцитами, плазматичними клітинами. На поперечному зрізі середини діяфіза спостерігався лізис дрібних уламків кістки. Уся площа остеонного шару була пошкоджена, з численними лакунами резорбції та некрозами, що місцями зливалися між собою, утворюючи секвестральні поля. Зони некрозу особливо були виражені зі сторони ендосту. Зона зовнішніх оточуючих пластинок також була зруйнована.

У гістологічних зрізах цього терміну лише подекуди представлене формування первинних сітчастих структур, які в основному складались з молодих форм фібробластів, остеобластів та фіброретикулярних волокон, що розташовувались між ними. Наявність значних площ грануляційної та фіброретикулярної тканин свідчить про значну затримку подальшого остеогенезу. Ознаки ангиогенезу були відсутні. Також відбувалося уповільнення регресії гематоми, відсутність гемосидерофагів, що свідчить про зменшення клітинної активності, переважно макрофагальної ланки (рис. 3.1, 3.2).

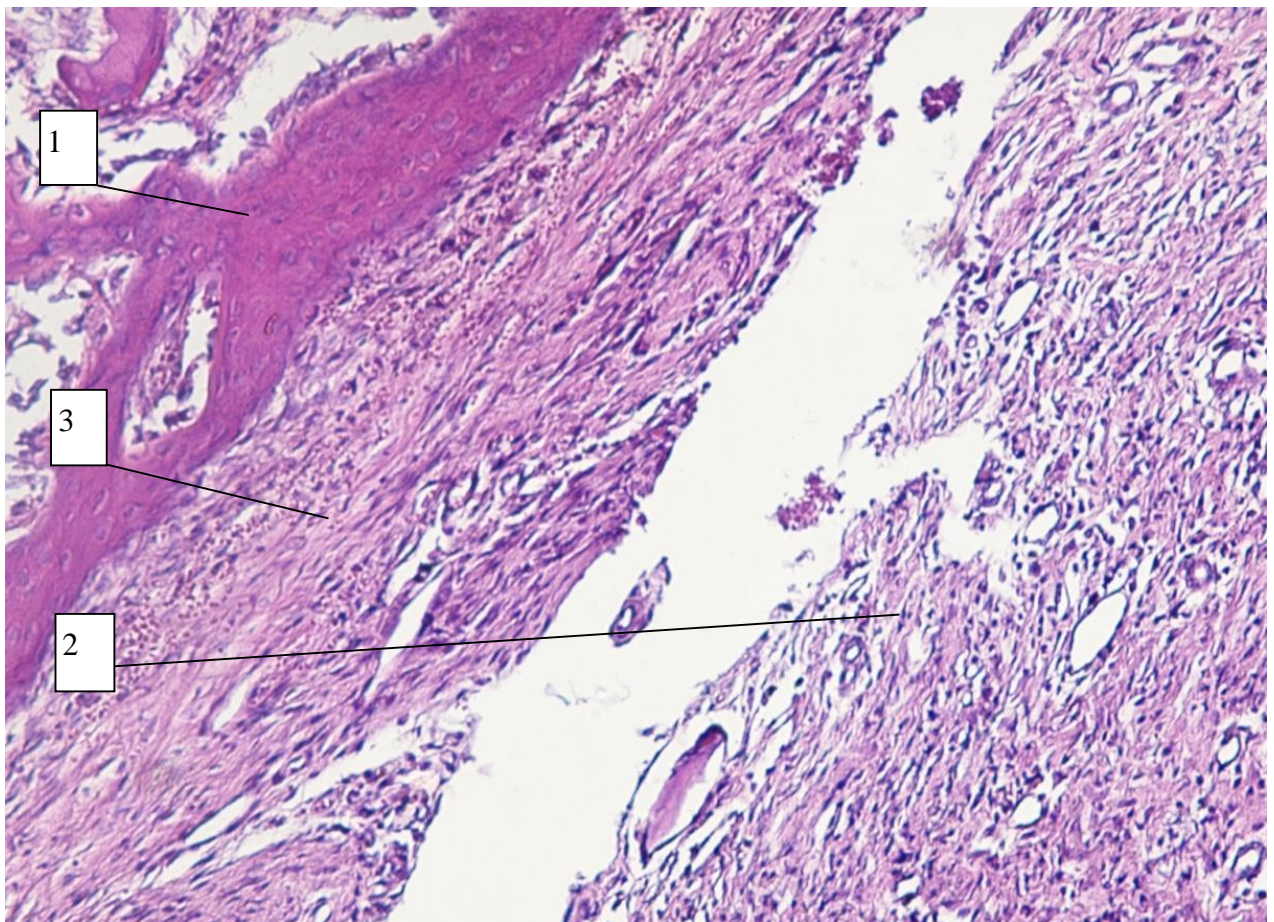


Рис. 3.1. Контрольна група щурів, 7-ма доба. Забарвлення гематоксилін-еозин. 1 – дегенеруючі кісткові балки; 2 – молода грануляційна тканина з дифузною поліморфноклітинною запальною інфільтрацією; 3 – сітчасті структури з молодих форм фібробластів. $\times 100$.

При гістологічному дослідженні кісткового регенерату великогомілкової кістки щурів контрольної групи на 14-ту добу експерименту після перелому між

кістковими фрагментами встановлено наявність ознак формування ендостального та періостального кісткового регенерату, основу якого становила незріла кісткова тканина, яка мала вигляд хаотично розташованих кісткових балок, що анастомозували між собою. Новосформовані кісткові балочки характеризувалися деякою мозаїчністю забарвлення та були більш витончені, ніж в основній групі. У гістологічних зрізах представлено формування сітчастих структур, які в основному склались з молодих форм фібробластів, остеобластів та фібро-ретикулярних волокон, що розташовувались між ними. Поряд із цими клітинами були присутні також одноядерні клітини за типом моноцитів крові (мононуклеари), макрофагальні клітини та мезенхімальні фібробластоподібні клітини, мало- та недиференційовані клітини. У цьому терміні ще зберігались післятравматичні крововиливи зі скупченням гемосидерофагів. Ознаки ангиогенезу були недостатньо виражені. Також зберігалась реактивна великовогнищева запальноклітинна інфільтрація, що складалась переважно з поліморфноядерних лейкоцитів, лімфогістіоцитарних елементів, плазматичних клітин (рис. 3.3).

При дослідженні гістологічних зрізів на 21-шу добу експерименту у щурів контрольної групи в зоні перелому вже визначалось формування гіалінового хряща з досить великою кількістю хондробластів. Однак збільшена площа проміжної речовини витісняла хондроцити ізогенних груп та заміщувала колонки хондроцитів у зонах розмноження та дозрівання. Більшість клітин хрящової пластинки характеризуються явищами гідропічної дистрофії. У початкових відділах проліферативної зони хряща визначались клітини на стадії руйнування, що свідчило про порушення процесів поділу і диференціювання хрящових клітин. У цитоплазмі переважної більшості клітин наявні ознаки вираженої балонної дистрофії.

Мають місце ознаки утворення колагенового матриксу в зоні енхондрального окостеніння та острівці новоутвореної кісткової тканини.

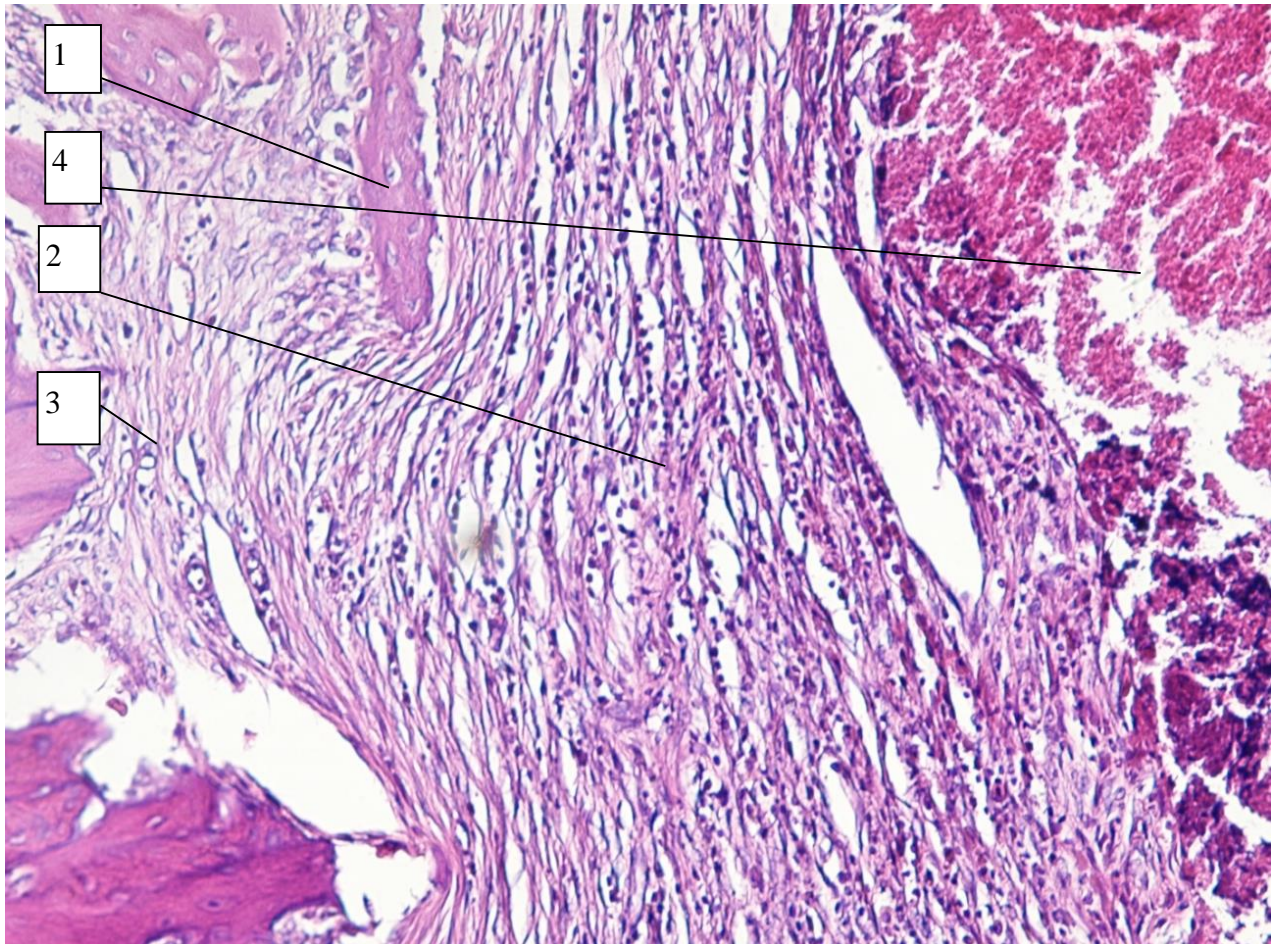


Рис. 3.2. Контрольна група щурів, 7-ма доба. Забарвлення гематоксилін-еозин. 1 – дегенеруючі кісткові балки; 2 – молода грануляційна тканина з дифузною поліморфноклітинною запальною інфільтрацією; 3 – сітчасті структури з молодих форм фібробластів; 4 – поширена гематома внаслідок перелому. $\times 100$.

Визначались дрібні новоутворені кісткові балки, міжбалковий простір був представлений пухкою волокнистою фіброзною тканиною. Кісткові балки стоншені, місцями торкаються індиферентної зони та утворюють комірки з клітинними елементами кісткового мозку.

Порушення процесів формування та перебудови кісткового регенерату полягали в тому, що новоутворені кісткові структури мали неоднорідний склад – на тлі тканини, що мала ретикулофіброзний характер, визначались ділянки кісткової тканини пластинчастої будови, які мали неоднорідний склад та нерівномірне забарвлення. Це свідчить про порушення мінералізації новоутвореної кісткової тканини. Поряд зі зменшенням вмісту кісткової

тканини спостерігалися також її структурні зміни – витончення та узурація балочок, нерівномірне забарвлення та зменшення кількості активних остеобластів на її поверхні.

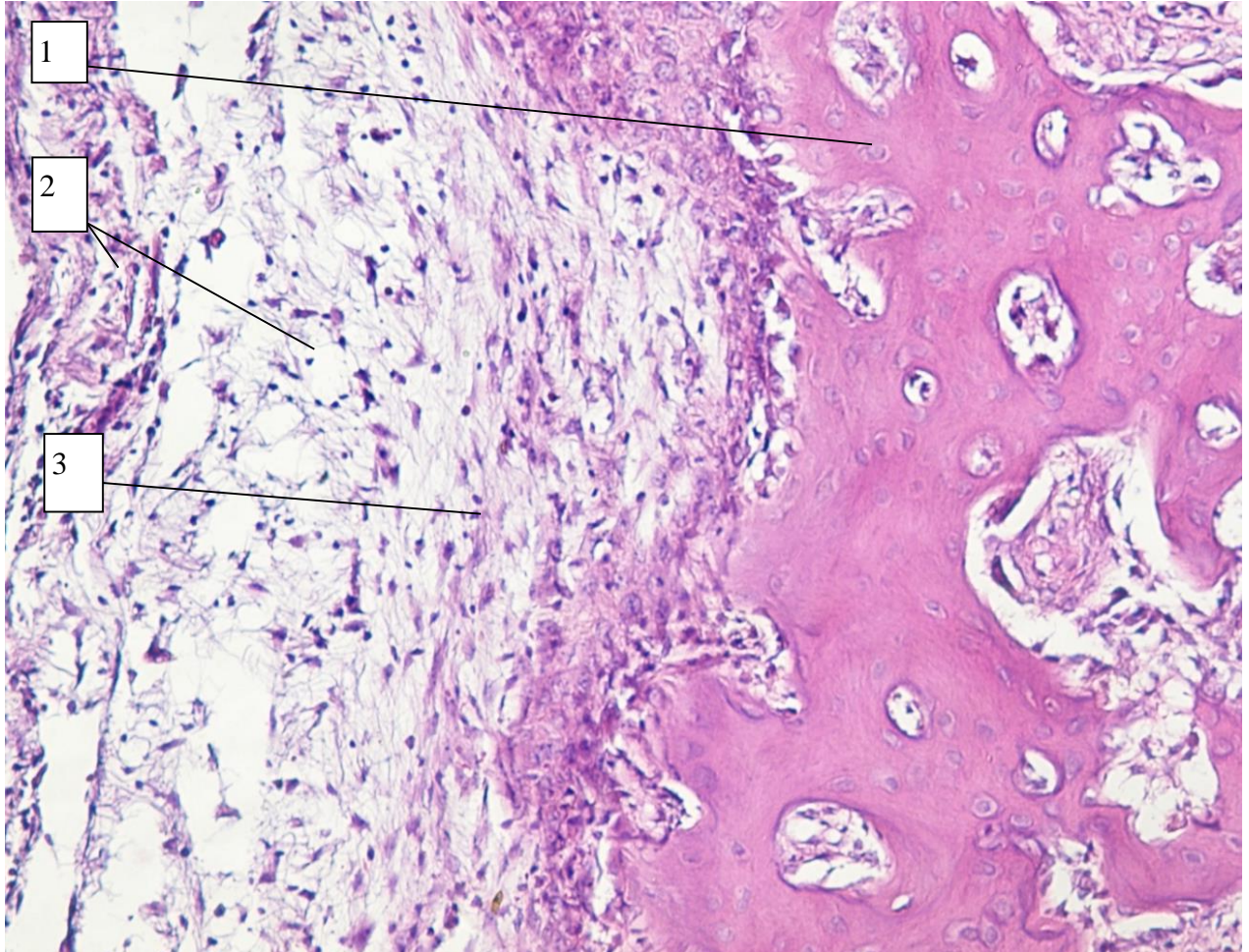


Рис. 3.3. Контрольна група щурів, 14-та доба. Забарвлення гематоксилін-еозин. 1 – кісткові балки з дегенеративними змінами; 2 – розсіяна поліморфноклітинна запальна інфільтрація; 3 – сітчасті структури з молодих форм фібробластів. $\times 200$.

Періостальний кістковий мозоль надлишково сформований та представлений оформленою фіброзною тканиною, серед якої подекуди визначались запальноклітинні елементи – переважно лімфоцити, гістіоцити з домішкою незначної кількості сегментоядерних лейкоцитів. Червоний кістковий мозок був представлений окремими дрібними гемопоетичними острівцями, які подекуди заміщувались осередками молоді фібрознаї тканини. Новоутворені судини мали ознаки нерівномірного повнокров'я, нерівномірно

дилатовані (рис. 3.4).

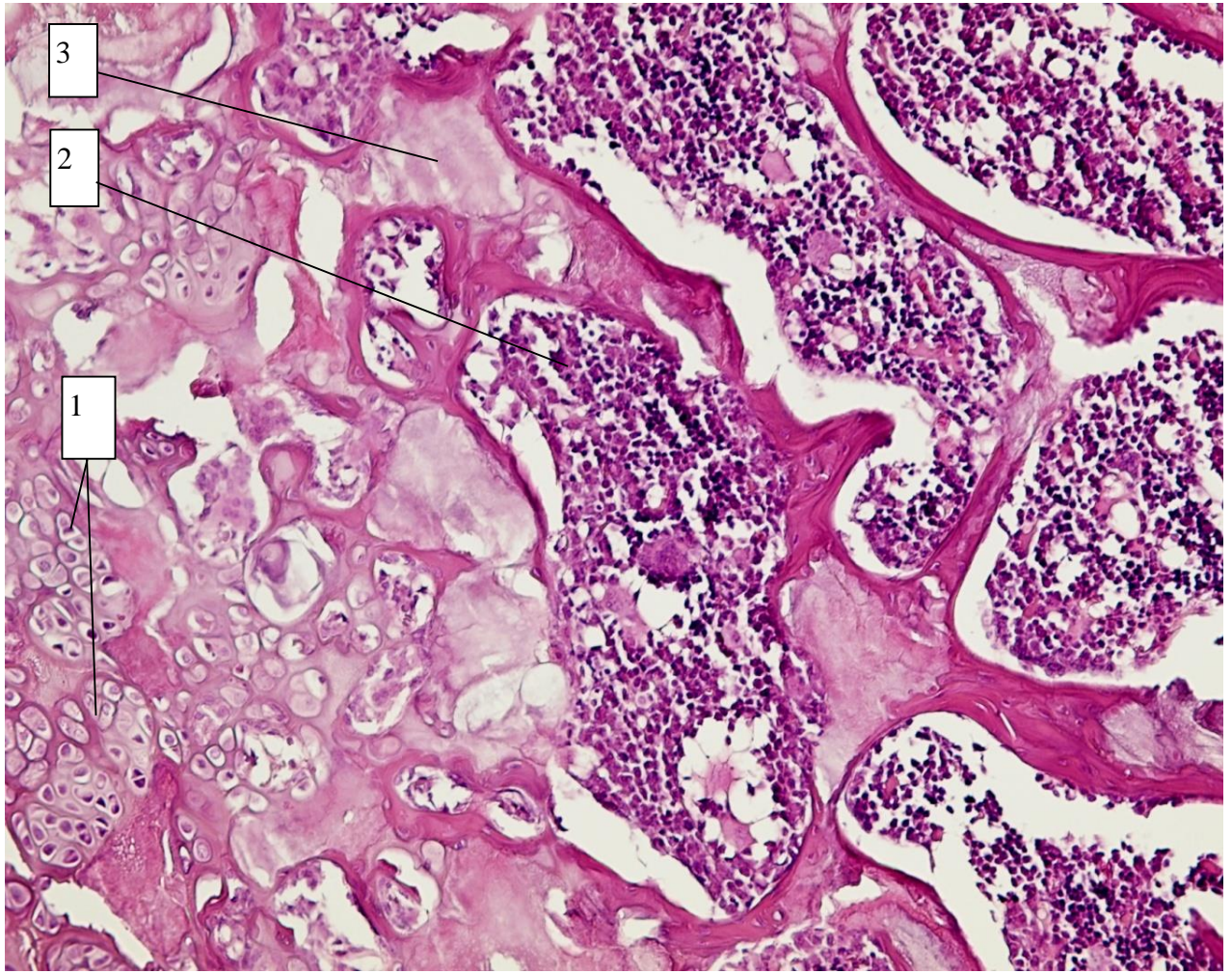


Рис. 3.4. Контрольна група щурів, 21-ша доба. 1 – острівці гіалінового хряща з великою кількістю хондробластів; 2 – червоний кістковий мозок; 3 – ділянки кісткової тканини пластинчастої будови неоднорідного складу з ознаками порушення мінералізації. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

У гістологічних препаратах діафізарного перелому великогомілкової кістки щурів контрольної групи на 28-му добу визначались поширені вогнища молоді клітинної фіброзної тканини, серед якої виявлялись осередки активного остеогенезу. Кістковий регенерат був представлений сіткою новоутворених кісткових балок різної товщини, що анастомозували між собою. Також визначались осередки хрящової тканини. Отже, кісткова тканина формувалась на місці кістково-хрящового мозоля шляхом енхондрального окостеніння. Новоутворені кісткові балки, анастомозуючи, утворювали кісткову тканину, у якій

визначались остеобласти та остеоцити у великій кількості. Кісткові трабекули мали дугоподібну форму та були хаотично розташовані в товщі регенерату. Серед кісткових пластинок визначались чисельні вогнища мінералізованої основної міжкісткової речовини, забарвлені більш базофільно. У міжбалковому просторі визначалась пухка волокниста фіброзна тканина.

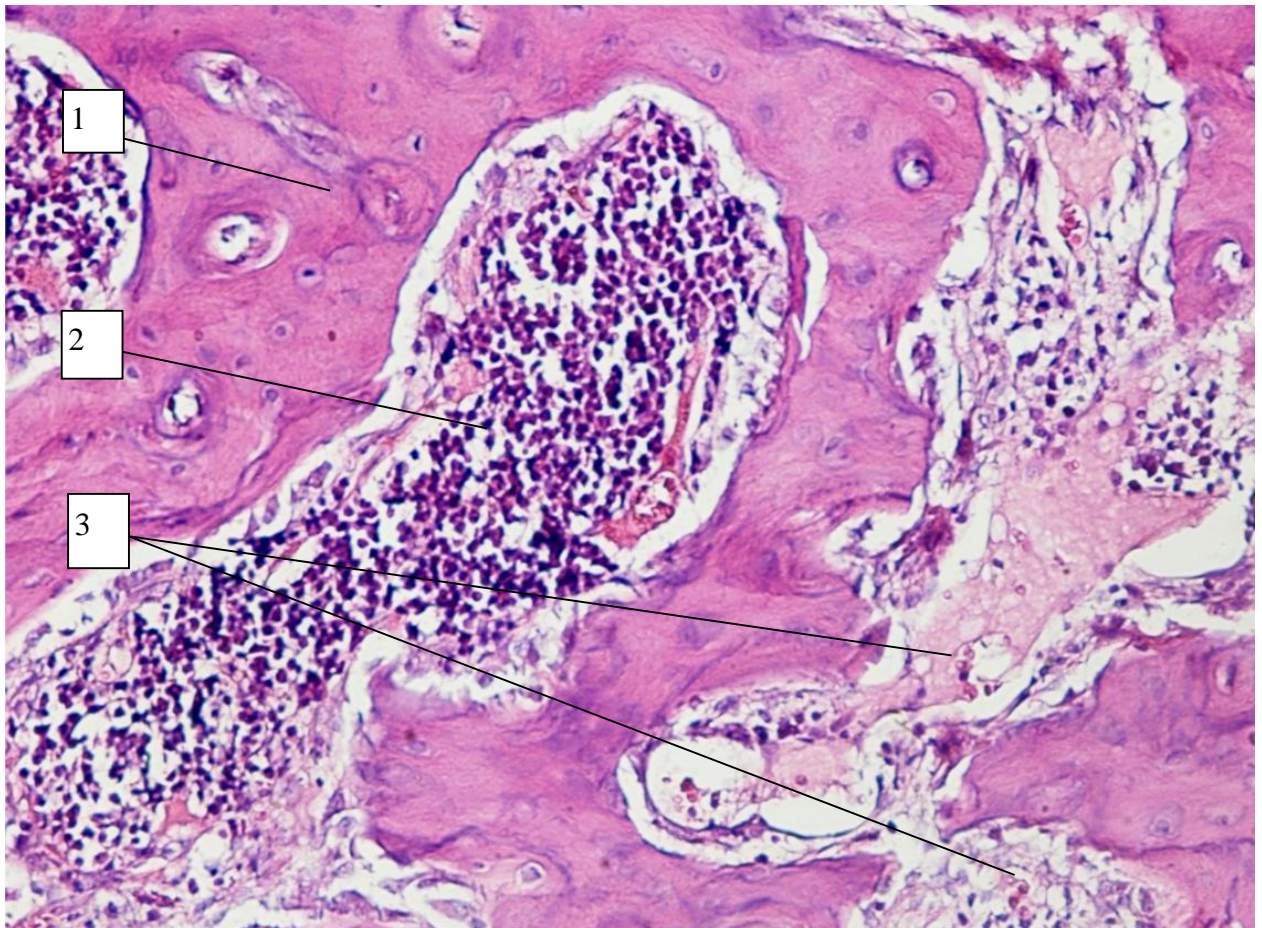


Рис. 3.5. Контрольна група щурів, 28-ма доба. 1 – компактнізована пластинчаста кісткова тканина з дистрофічними змінами; 2 – гіаліновий хрящ з великою кількістю хондробластів; 3 – пухка волокниста фіброзна тканина в міжбалковому просторі. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 400$.

Новоутворена кісткова тканина характеризувалась нерівномірно розміщеними остеонами з різнонаправленими вставними пластинами. Часто остеонні структури були утворені всього двома чи трьома концентричними пластинами, що характеризує їх як первинні. Привертало увагу зменшення кількості остеоцитів та наявність порожніх остеоцитарних лакун. Залишки грубоволокнистої фіброзної тканини формують дрібнопетлисту сітку трабекул,

на поверхні яких зустрічаються поодинокі остеобласти та остеокласти. Наявність останніх свідчить про незавершеність процесів перебудови кісткового мозоля в цьому терміні (рис. 3.5).

3.2 Репаративний остеогенез при травматичному пошкодженні великогомілкової кістки щурів із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин з Вартонових драглів

При гістологічному дослідженні тканин місця перелому великогомілкової кістки щурів основної групи на 7-му добу експерименту між кістковими фрагментами також було виявлено гематому, яка надалі призводить до формування ендостального та періостального кісткового регенерату. Складовими гематоми були еритроцити, більша частина яких перебувала у стані гемолізу, менша їх частина була збережена. Окрім еритроцитів були присутні також одноядерні клітини за типом моноцитів крові (мононуклеари), макрофагальні клітини та мезенхімальні фібробластоподібні клітини, мало- та недиференційовані клітини в значно більшій кількості, ніж у групі контролю. У цьому терміні серед них визначалась невелика кількість молодих фібробластів. У крайових відділах кісткових фрагментів визначалась велика кількість остеобластів. По периферії зони перелому мала місце поліморфноклітинна запальна інфільтрація, але значно менш виражена, ніж у контрольній групі, представлена переважно поліморфноядерними лейкоцитами, лімфоцитами, плазматичними клітинами. У гістологічних зрізах також подекуди спостерігалось формування первинних сітчастих структур, які в основному склалися з молодих форм фібробластів, остеобластів та фіброретикулярних волокон, розташованих між ними. Ознаки ангіогенезу в цьому терміні також були відсутні (рис. 3.6).

При гістологічному дослідженні кісткового регенерату великогомілкової кістки щурів досліджуваної групи на 14-ту добу експерименту після лікування перелому між кістковими фрагментами також встановлено наявність ознак

формування ендостального та періостального кісткового регенерату, основу якого складала незріла кісткова тканина у вигляді кісткових балок, що анастомозували між собою. Поряд із ними визначались осередки хондроїдної та фіброзної тканини.

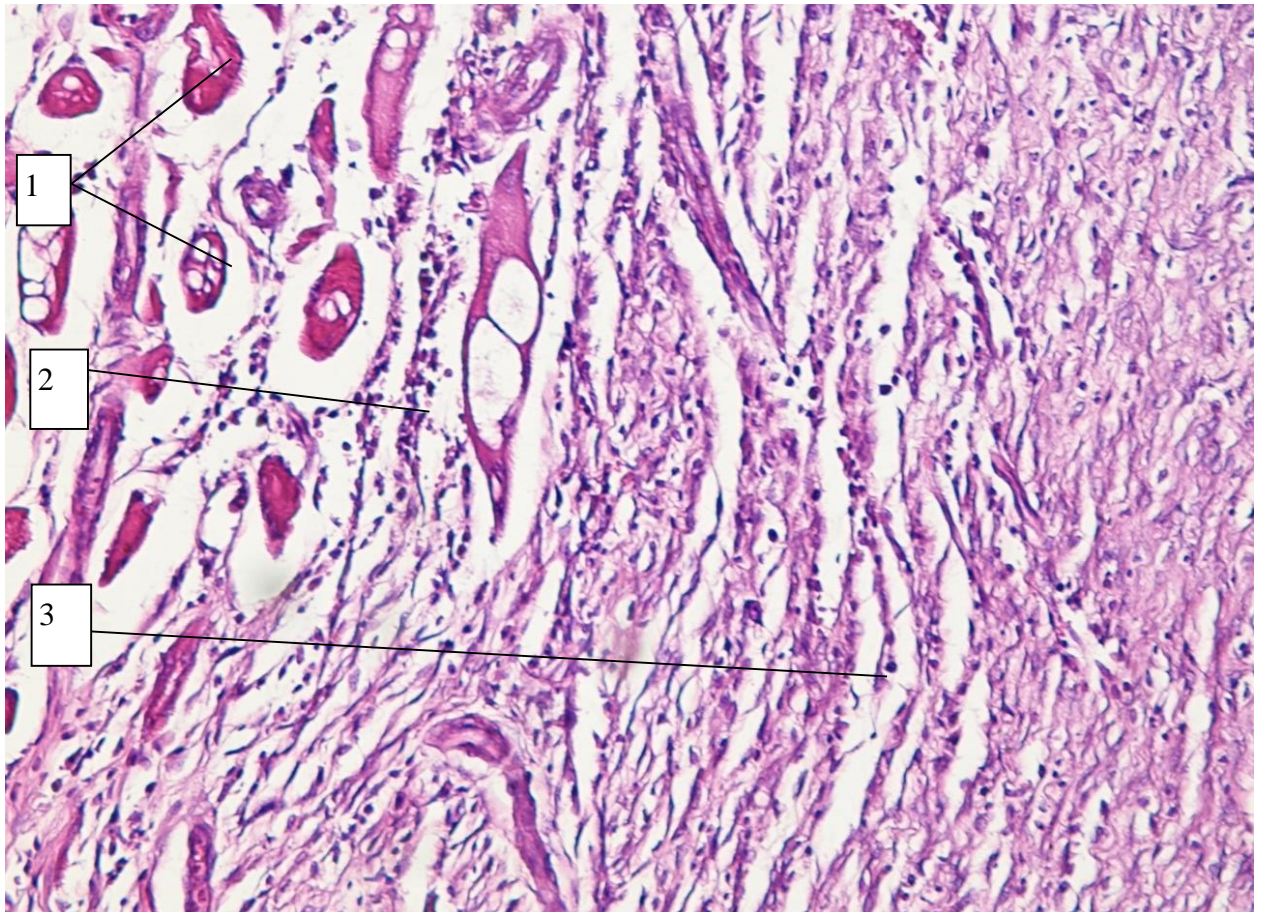


Рис. 3.6. Основна група щурів, 7-ма доба. Забарвлення гематоксилін-еозин. 1 – дегенеруючі кісткові балки; 2 – реактивна поліморфноклітинна помірна запальна інфільтрація; 3 – сітчасті структури з молодих форм фібробластів. $\times 200$.

У міжбалковому просторі виявлені ознаки більш активного ангиогенезу, ніж у тварин контрольної групи. На 14-ту добу переважають капіляри та артеріоли з більшим діаметром, ніж у контрольній групі, кількість судин в регенераті також збільшується. Поряд із цими змінами також спостерігали однопідрні клітини за типом моноцитів крові (мононуклеари), макрофагальні клітини та мезенхімальні фібробластоподібні клітини, мало- та недиференційовані клітини. Післятравматичні крововиливи не визначались.

Однак зберігалась незначна реактивна дрібновогнищева запальноклітинна інфільтрація, що складалась переважно з лімфогістіоцитарних елементів, плазматичних клітин, незначної кількості сегментоядерних лейкоцитів. Кістковий регенерат був представлений переважно остеогенною тканиною, що формувала ендостальний компонент кісткового мозоля та мала вигляд сітки різної щільності з молодих кісткових балок, вкритих ланцюжками молодих активних остеобластів. На поверхні кісткових уламків визначався шар регенераторних тканин з періостальною регенераторною реакцією нерівномірної товщини. Міжбалковий простір був представлений фіброретикулярною тканиною, у якій формувались балки інтрамедіарного кісткового мозоля (рис. 3.7, 3.8).

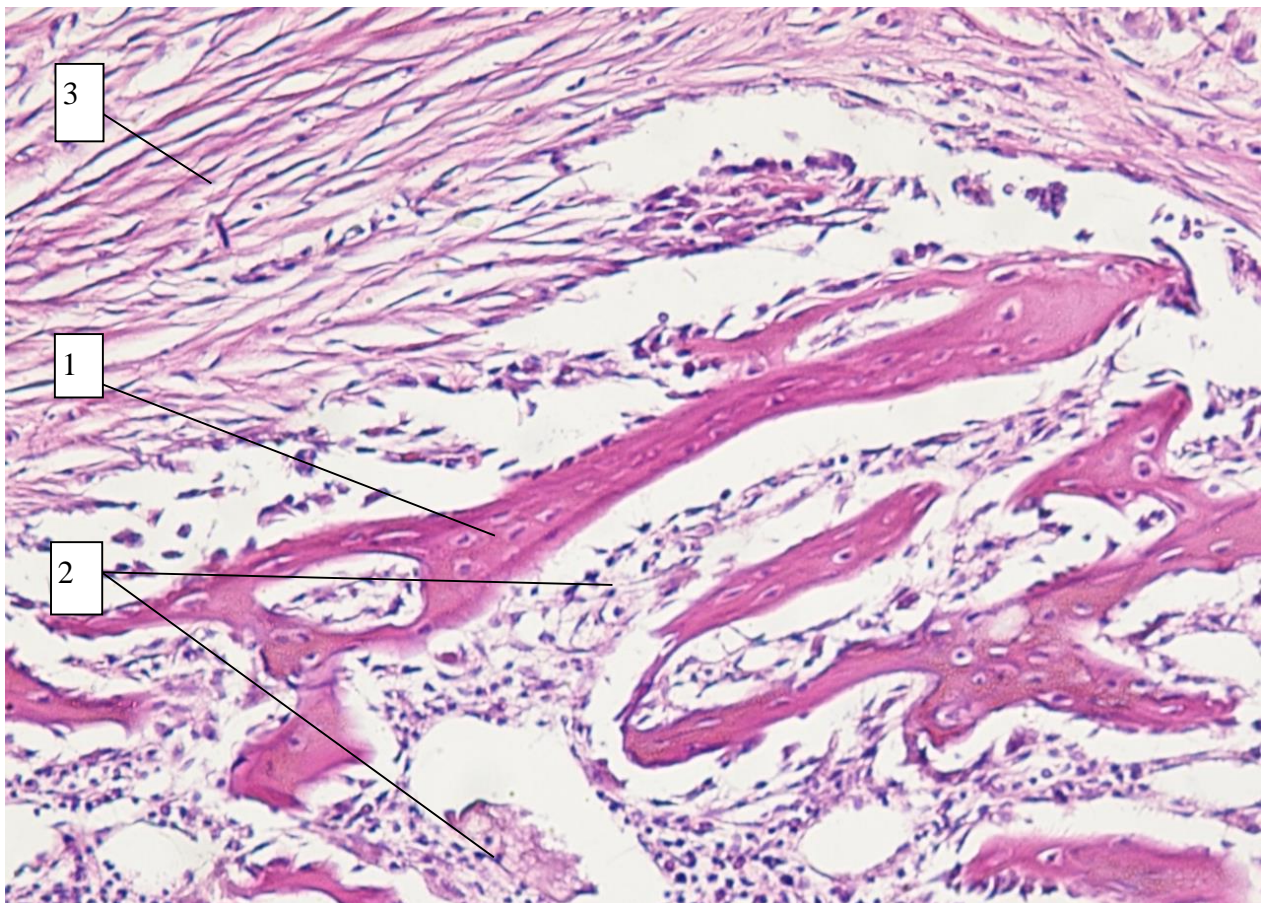


Рис. 3.7. Основна група щурів, 14-та доба. 1 – кісткові балки, що анастомозують між собою (остеогенна тканина); 2 – фіброретикулярна тканина міжбалкового простору з розсіяною лімфогістіоцитарною інфільтрацією; 3 – поширені осередки молоді волокнистої фіброзної тканини. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

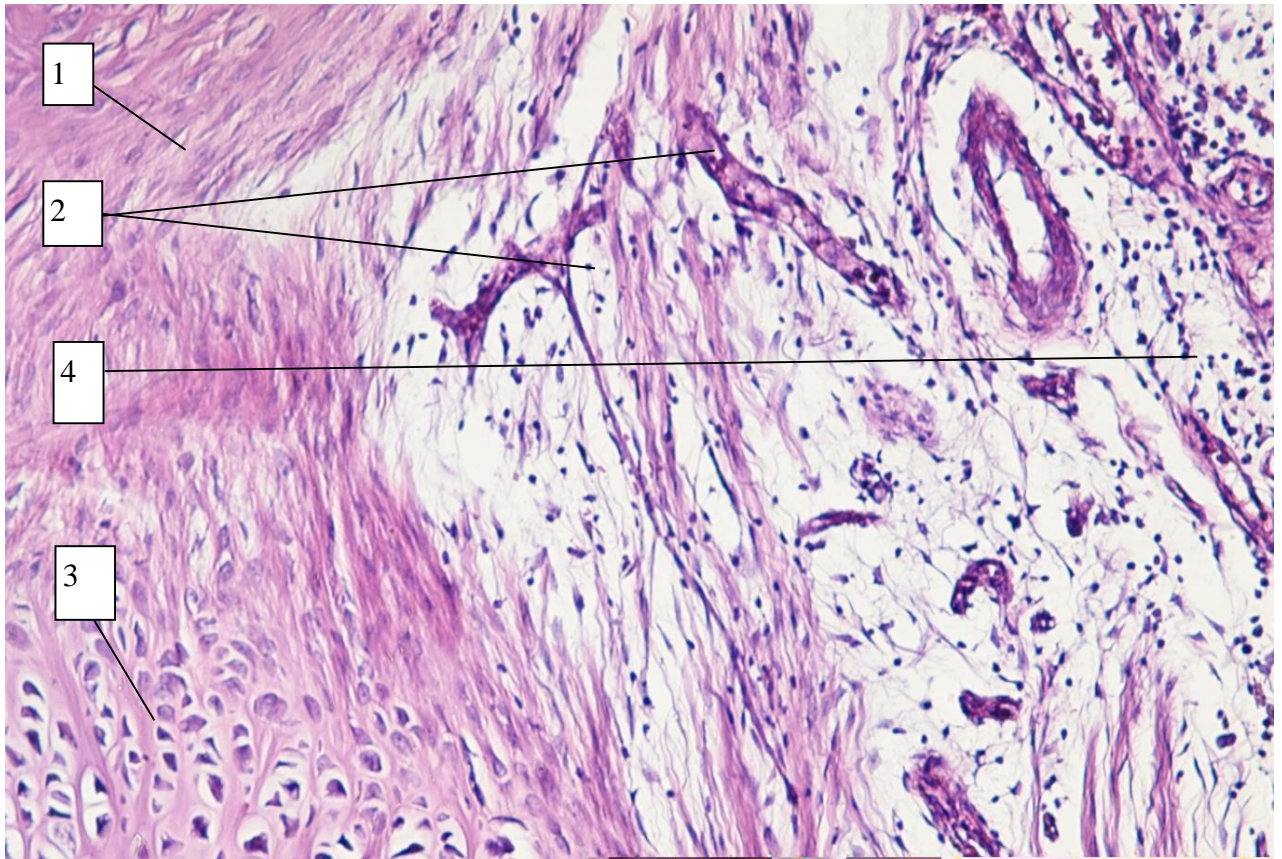


Рис. 3.8. Основна група щурів, 14-та доба. 1 – поширені осередки фіброзної тканини; 2 – чисельні новоутворені судини капілярного типу; 3 – осередки хондроїдної тканини; 4 – помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

При дослідженні гістологічних зрізів на 21-шу добу експерименту у щурів контрольної групи вже визначалось формування гіалінового хряща в зоні перелому з досить великою кількістю хондробластів. Однак збільшена площа проміжної речовини витісняла хондроцити ізогенних груп та заміщувала колонки хондроцитів у зонах розмноження та дозрівання. Більшість клітин хрящової пластинки характеризуються явищами гідропічної дистрофії. У початкових відділах проліферативної зони хряща визначались клітини на стадії руйнування, що свідчило про порушення процесів поділу і диференціювання хрящових клітин. У цитоплазмі переважної більшості клітин наявні ознаки вираженої балонної дистрофії. Також виявлено ознаки утворення колагенового матриксу в зоні енхондрального окостеніння та острівці новоутвореної кісткової тканини. Визначались дрібні новоутворені кісткові балки,

міжбалковий простір був представлений пухкою волокнистою фіброзною тканиною. Кісткові балки стоншені, місцями торкаються індиферентної зони та утворюють комірки з клітинними елементами кісткового мозку. Порушення процесів формування та перебудови кісткового регенерату полягали в тому, що в новоутворених кісткових структурах відмічався неоднорідний склад – на тлі тканини, що мала ретикулофіброзний характер, визначались ділянки кісткової тканини пластинчастої будови, які були неоднорідного складу та нерівномірного забарвлення, що свідчить про порушення мінералізації новоутвореної кісткової тканини (рис. 3.9).

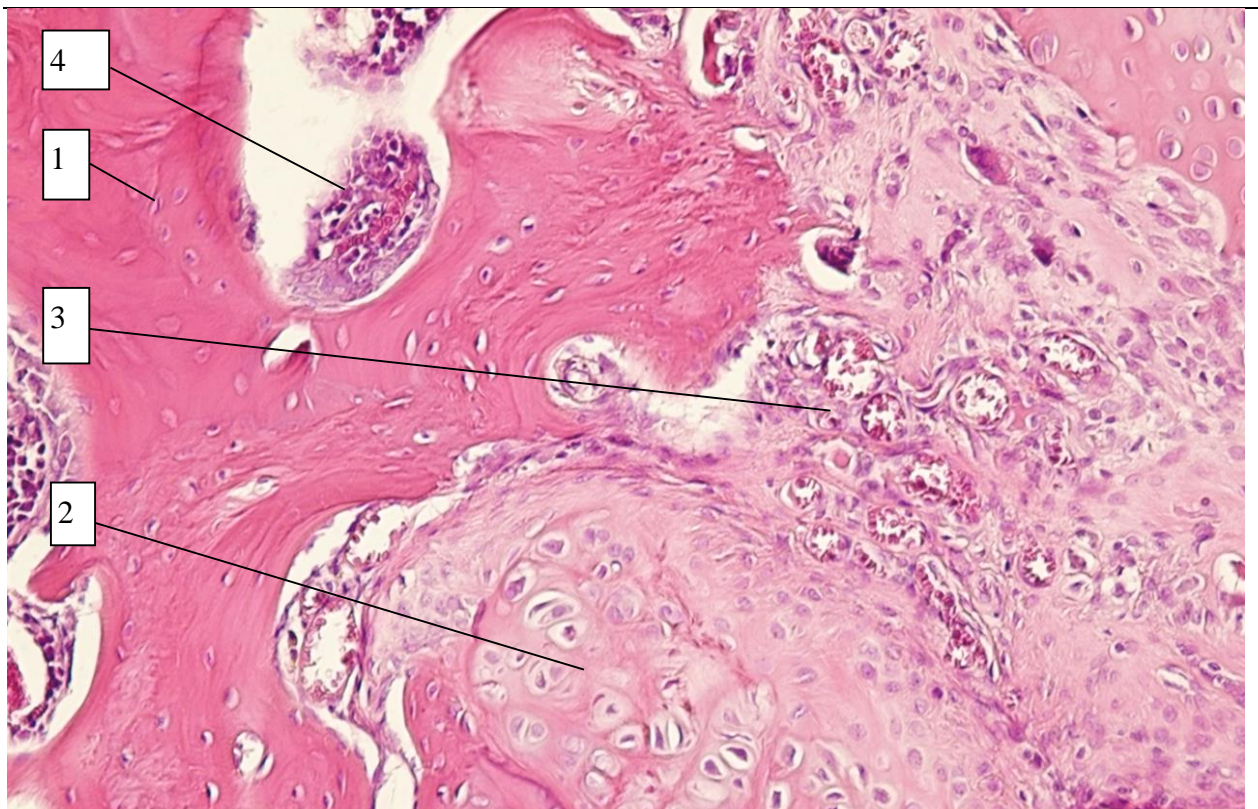


Рис. 3.9. Основна група щурів, 21-ша доба. 1 – компактizzata пластинчаста кісткова тканина; 2 – гіаліновий хрящ з великою кількістю хондробластів; 3 – активний ангиогенез; 4 – червоний кістковий мозок. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Разом зі зменшенням вмісту кісткової тканини спостерігалися також її структурні зміни – стоншення та узурація балочок, нерівномірне забарвлення та зменшення кількості активних остеобластів на її поверхні. Періостальний кістковий мозоль був надлишково сформований та представлений оформленою

фіброзною тканиною, серед якої подекуди визначались запальноклітинні елементи – переважно лімфоцити, гістіоцити з домішкою незначної кількості сегментоядерних лейкоцитів. Червоний кістковий мозок представлений окремими дрібними гемопоетичними острівцями, які подекуди заміщувались осередками молодшої фіброзної тканини. Новоутворені судини мали ознаки нерівномірного повнокров'я, а також були нерівномірно дилатовані (рис. 3.10).

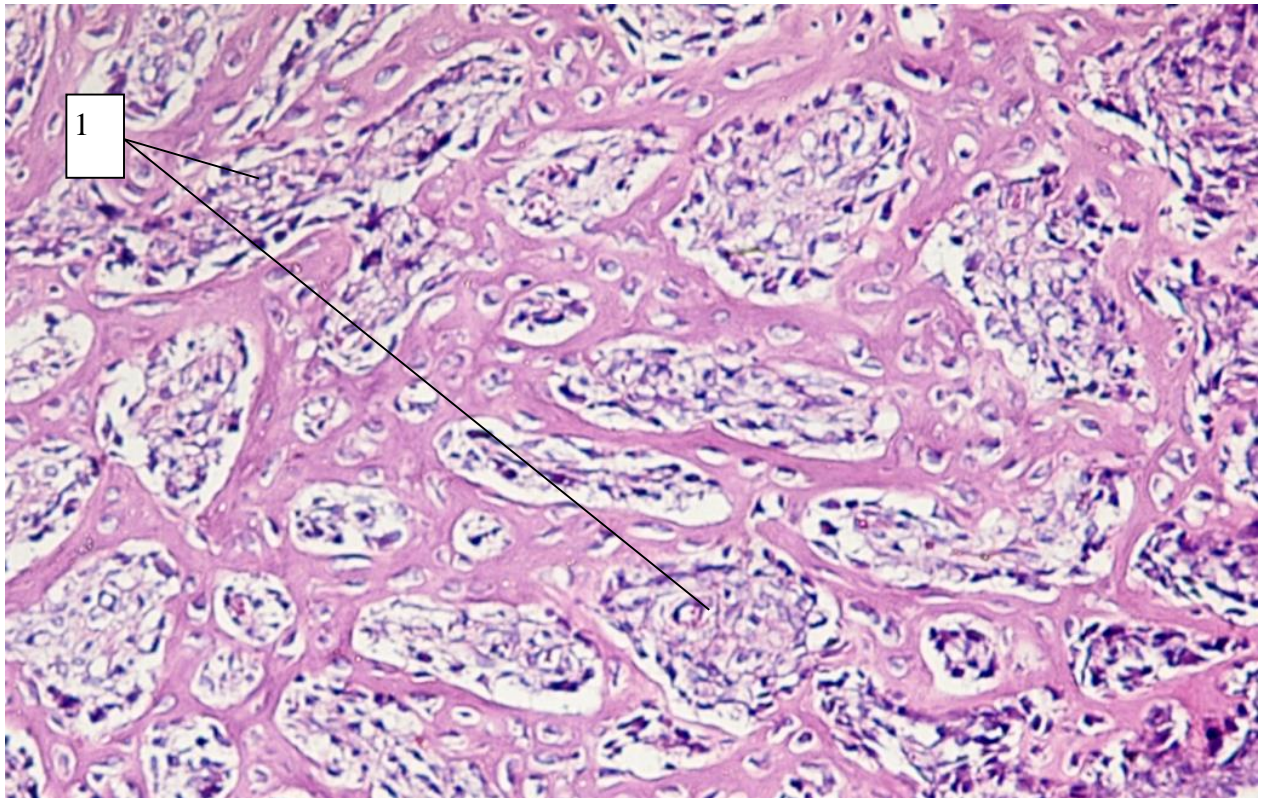


Рис. 3.10. Основна група щурів, 21-ша доба. 1 – сітка кісткових трабекул дистального метаепіфізу великогомілкової кістки в зоні перелому, що містить велику кількість остеобластів та остеокластів. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

При гістологічному дослідженні препаратів вогнища діафізарного перелому великогомілкової кістки щурів основної групи на 28-му добу виявлені значно інтенсивніші ознаки перебудови кісткового регенерату порівняно з групою контролю. У гістологічних зрізах визначались фрагменти кістки, що склалися з кортексу з періостом та ендостальним регенератом з прилеглою спонгіозою. У досліджуваному кортексі спостерігали розширені резорбційні

порожнини, що виконували функцію остеорезорбції надлишкової новоутвореної кісткової тканини. Міжбалковий простір, заповнений волокнистою фіброзною тканиною, містив значну кількість судинних каналів з формуванням навколо них кісткових структур за типом остеонів (рис. 3.11).

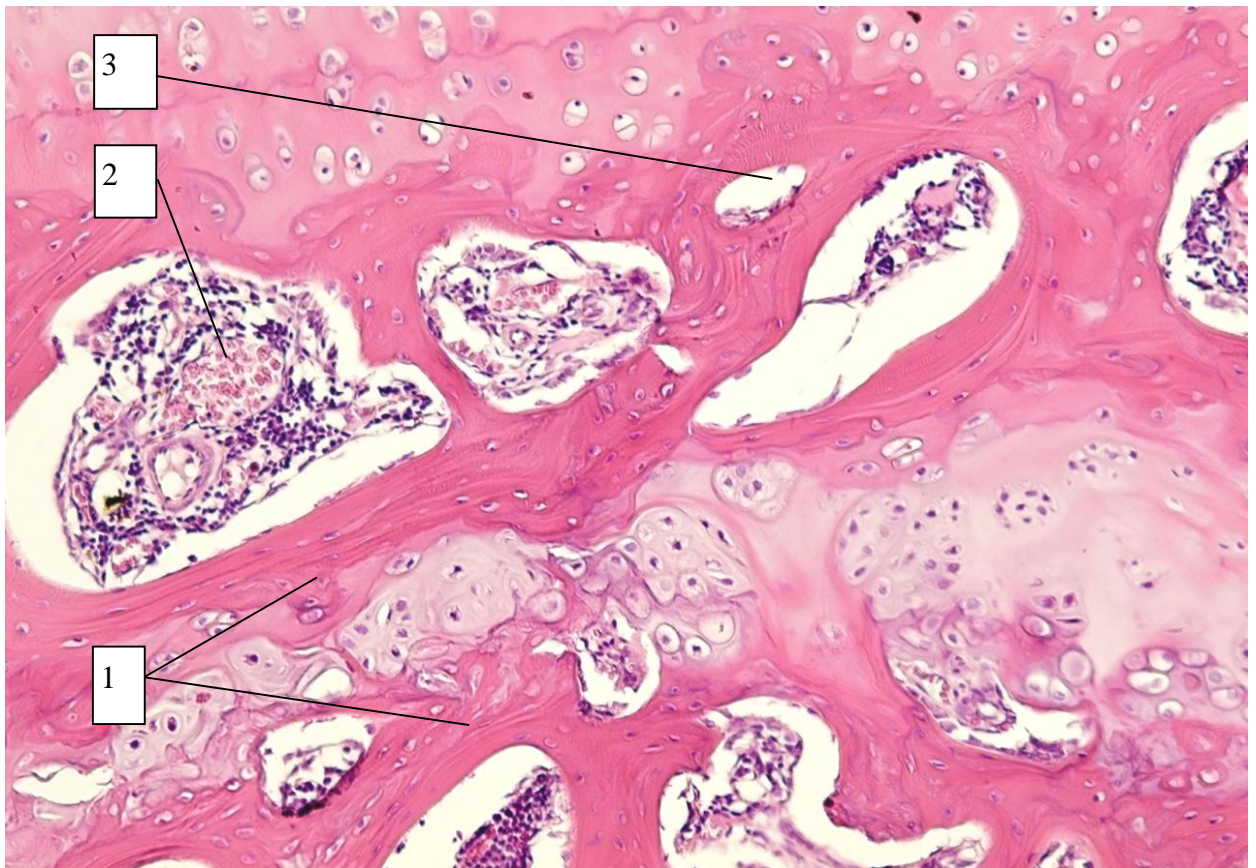


Рис. 3.11. Основна група щурів, 28-ма доба. 1 – анастомозуючі між собою кісткові балки, побудовані з пластинчастої компактної кісткової тканини з великою кількістю остеобластів та остеоцитів; 2 – острівці червоного кісткового мозку; 3 – резорбційна порожнина. Зabarвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Новосформовані кісткові структури характеризувалися рівномірним забарвленням та великою кількістю секретуючих остеобластів на їхній поверхні. Про достатній ангиогенез свідчила наявність в судинних каналах та резорбційних порожнинах дрібних артерій м'язового типу. У міжбалковому просторі простежувались острівці червоного кісткового мозку, представленого всіма трьома ростками в нормальному їх співвідношенні з деякою перевагою гранулоцитарного ростка (рис. 3.12).

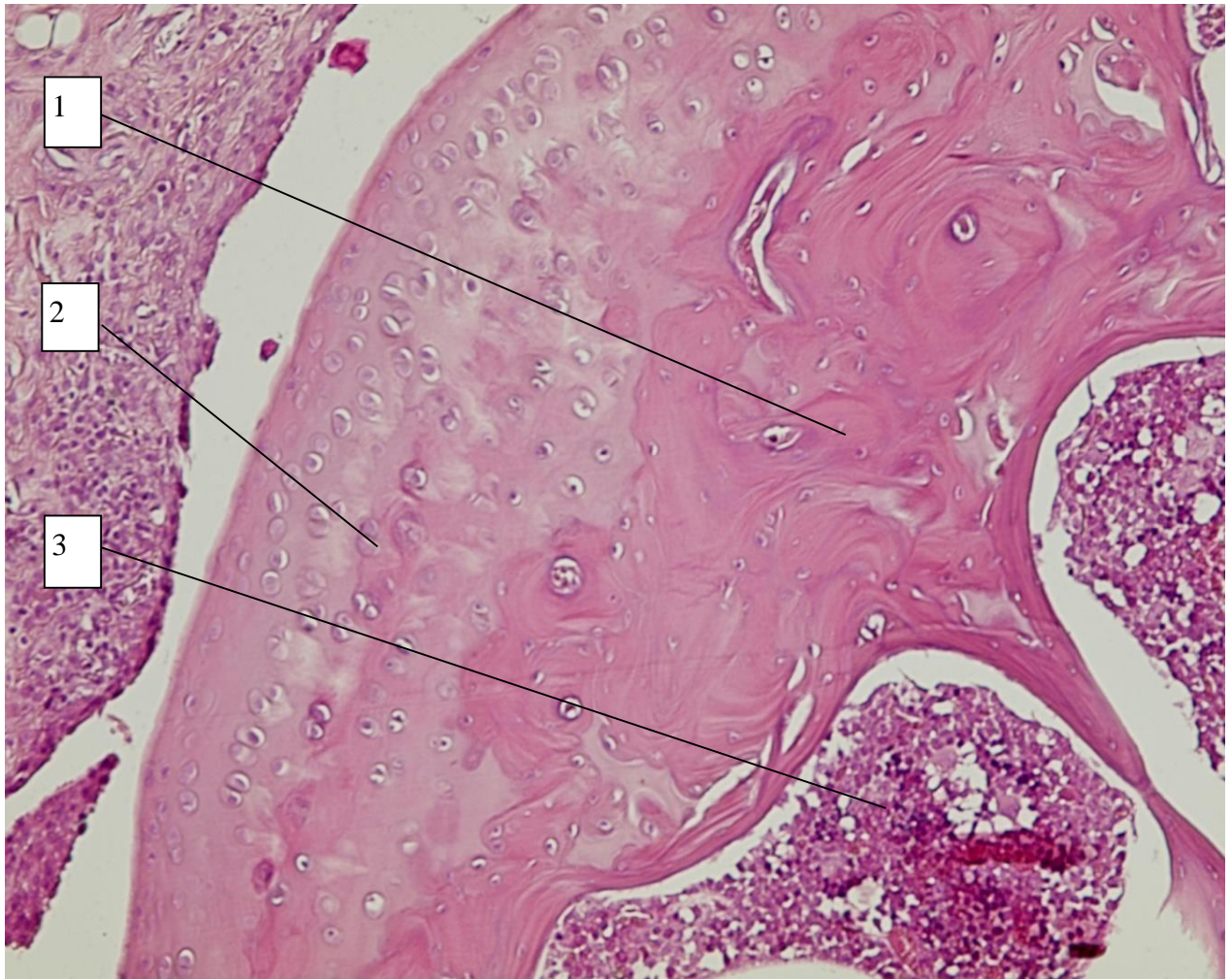


Рис. 3.12. Основна група щурів, 28-ма доба. 1 – надлишково розвинуті кісткові балки, побудовані з пластинчастої компактної кісткової тканини з великою кількістю остеобластів та остеоцитів; 2 – надлишково розвинута хрящова тканина; 3 – острівці червоного кісткового мозку. Забарвлення гематоксилін-еозин. $\times 200$.

3.3 Розмірні параметри елементів кісткової тканини щурів у ділянці перелому при застосуванні мезенхімальних стовбурових клітин з Вартонових драглів

За показниками з таблиці 3.1 встановлено, що площа кісткових трабекул у місці перелому у щурів експериментальної групи на 7-му добу була на 19,4% більша за аналогічні показники у щурів контрольної групи. Площа міжтрабекулярних просторів також була дещо більшою, ніж у групі контролю, на 11,2%.

Показники експериментальної та контрольної груп на 7-му добу (M±σ)

Показник	Контроль	Експеримент	p
Площа кісткових трабекул (мкм ²)	19,44±1,25	24,12±1,60	<0,01
Площа міжтрабекулярних просторів (мкм ²)	63,10±1,82	71,11±2,70	<0,01
Відношення площ	0,308±0,016	0,340±0,027	=0,076
Товщина кісткових трабекул (мкм)	48,36±1,90	55,72±2,62	<0,01
Кількість контактів трабекул з кортексом (од.)	2,092±0,108	4,020±0,351	<0,01
Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах (од.)	23,49±2,47	30,10±1,92	<0,01
Кількість порожніх остеоцитарних лакун (од.)	2,646±0,134	3,562±0,492	<0,01
Кількість функціонально активних остеобластів (од.)	12,29±2,36	16,46±1,28	<0,01

Децо більшим (на 9,4%) був коефіцієнт відношення площ кісткових трабекул і міжтрабекулярних просторів у порівнянні з інтактними тваринами. Також мали місце такі явища: незначне збільшення товщини кісткових трабекул (на 13,2%), збільшення кількості остеоцитів на їхній поверхні (19,8%) та контактів кісткових трабекул з кортексом (на 47,9%) щодо місця

перелому стегнової кістки інтактних тварин. При порівнянні показників кісткової тканини у великогомільковій кістці, де моделювали перелом, збільшення цих показників становило відповідно 17,9%.

Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах у групі експерименту була більшою на 21,9%, кількість порожніх остеоцитарних лакун – більшою на 25,7%. Кількість функціонально активних остеобластів була більша на 25,3% у групі експерименту, що є свідченням більш активного загоєння перелому та остеогенезу у групі експерименту на 7-му добу порівняно з групою контролю.

Таблиця 3.2

Показники експериментальної та контрольної груп на 14-ту добу (M±σ)

Показник	Контроль	Експеримент	p
Площа кісткових трабекул (мкм ²)	29,45±2,41	23,66±2,22	<0,02
Площа міжтрабекулярних просторів (мкм ²)	84,36±2,95	99,22±7,79	<0,01
Відношення площ	0,349±0,017	0,238±0,008	<0,01
Товщина кісткових трабекул (мкм)	76,36±4,08	90,48±6,55	<0,01
Кількість контактів трабекул з кортексом (од.)	5,908±1,252	7,084±0,769	<0,12
Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах (од.)	38,48±2,75	46,13±3,97	<0,02
Кількість порожніх остеоцитарних лакун (од.)	4,616±1,227	6,480±0,795	<0,03
Кількість функціонально активних остеобластів (од.)	16,58±2,61	24,22±1,73	<0,01

Відмічені якісні та кількісні зміни на 14-ту добу в структурній

організації кісткової частини великогомілкової кістки з діафізарним переломом, які підтверджуються одержаними морфометричними даними досліджених параметрів, що представлені в таблиці 3.2. Як видно з них, усі досліджувані показники стану кістки в місці перелому щурів експериментальної групи також були значно кращими за показники в інтактних тварин.

Встановлено, що площа кісткових трабекул у місці перелому у щурів дослідної групи була на 19,6% більша за аналогічні показники в щурів контрольної групи. Площа міжтрабекулярних просторів також була дещо більшою, ніж у групі контролю – на 14,9%.

Більшим на 24,6% був коефіцієнт відношення площі кісткових трабекул і міжтрабекулярних просторів порівняно з інтактними тваринами.

Також мали місце суттєве збільшення товщини кісткових трабекул (на 15,6%), збільшення кількості остеоцитів на їхній поверхні (16,5%) та контактів кісткових трабекул з кортексом (на 16,6%) щодо великогомілкової кістки інтактних тварин.

Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах у групі експерименту була більшою на 16,5%, кількість порожніх остеоцитарних лакун – більшою на 28,7%. Кількість функціонально активних остеобластів була більша на 31,5% у групі експерименту. Всі ці показники є свідченням ще більш активного загоєння перелому та остеогенезу у групі експерименту на 14-ту добу в порівнянні з групою контролю.

Відмічені якісні та кількісні зміни на 21-шу добу в структурній організації кортикальної частини великогомілкової кістки з діафізарним переломом, які підтверджуються одержаними морфометричними даними досліджених параметрів, що представлені в таблиці 3.3. Як видно з них, усі досліджувані показники стану кістки в місці перелому щурів експериментальної групи були кращими за показники в інтактних тварин.

Так, площа кісткових трабекул у місці перелому у щурів дослідної групи була на 23,7% більша за аналогічні показники в щурів контрольної групи.

Площа міжтрабекулярних просторів також була дещо більшою, ніж у групі контролю – на 11,2%.

Таблиця 3.3

Показники експериментальної та контрольної груп на 21-шу добу (M±σ)

Показник	Контроль	Експеримент	p
Площа кісткових трабекул (мкм ²)	32,17±2,69	42,21±3,56	<0,01
Площа міжтрабекулярних просторів (мкм ²)	112,2±3,6	126,3±4,0	<0,01
Відношення площ	0,286±0,015	0,334±0,018	<0,01
Товщина кісткових трабекул (мкм)	83,51±4,03	98,89±3,92	<0,01
Кількість контактів трабекул з кортексом (од.)	7,732±0,553	9,378±1,470	<0,03
Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах (од.)	45,26±2,99	68,50±3,23	<0,01
Кількість порожніх остеоцитарних лакун (од.)	6,536±0,582	9,300±1,522	<0,02
Кількість функціонально активних остеобластів (од.)	61,60±2,99	46,08±3,85	<0,01

Більшим на 14,4% був коефіцієнт відношення площ кісткових трабекул і міжтрабекулярних просторів порівняно з інтактними тваринами.

Також мали місце суттєве збільшення товщини кісткових трабекул (на 15,5%), збільшення кількості остеоцитів на їхній поверхні (33,9%) та контактів кісткових трабекул з кортексом (на 17,5%) щодо стегнової кістки інтактних тварин.

Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах у групі

експерименту була більшою на 33,9%, кількість порожніх остеоцитарних лакун – більшою на 29,7%. Кількість функціонально активних остеобластів була більша на 33,6% у групі експерименту. Всі ці показники є свідченням ще більш активного загоєння перелому та остеогенезу у групі експерименту на 21-шу добу в порівнянні з групою контролю.

Таблиця 3.4

Показники експериментальної та контрольної груп на 28-му добу (M±σ)

Показник	Контроль	Експеримент	p
Площа кісткових трабекул (мкм ²)	42,11±3,98	53,62±3,85	<0,01
Площа міжтрабекулярних просторів (мкм ²)	122,7±5,7	142,1±4,2	<0,01
Відношення площ	0,343±0,019	0,377±0,016	<0,02
Товщина кісткових трабекул (мкм)	96,36±3,47	111,9±6,0	<0,01
Кількість контактів трабекул з кортексом (од.)	10,11±1,46	13,32±2,69	<0,05
Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах (од.)	55,10±4,09	77,79±3,17	<0,01
Кількість порожніх остеоцитарних лакун (од.)	9,438±0,994	14,46±1,69	<0,01
Кількість функціонально активних остеобластів (од.)	54,74±4,17	78,33±3,28	<0,01

Відмічені якісні та кількісні зміни на 28-му добу в структурній організації кортикальної частини великогомілкової кістки з діафізарним переломом, які підтверджуються одержаними морфометричними даними досліджених параметрів, що представлені в таблиці 3.4. Як видно з них, усі досліджувані показники стану кістки в місці перелому у щурів експериментальної групи були ще кращими за показники в інтактних тварин.

Площа кісткових трабекул у місці перелому у щурів дослідної групи була на 21,4% більша за аналогічні показники в щурів контрольної групи. Площа міжтрабекулярних просторів також була дещо більшою, ніж у групі контролю – на 13,6%.

Більшим на 9,0% був коефіцієнт відношення площ кісткових трабекул і міжтрабекулярних просторів порівняно з інтактними тваринами.

Також мали місце суттєве збільшення товщини кісткових трабекул (на 13,8%), збільшення кількості остеоцитів на їхній поверхні (29,1%) та контактів кісткових трабекул з кортексом (на 24,1%) щодо стегнової кістки інтактних тварин.

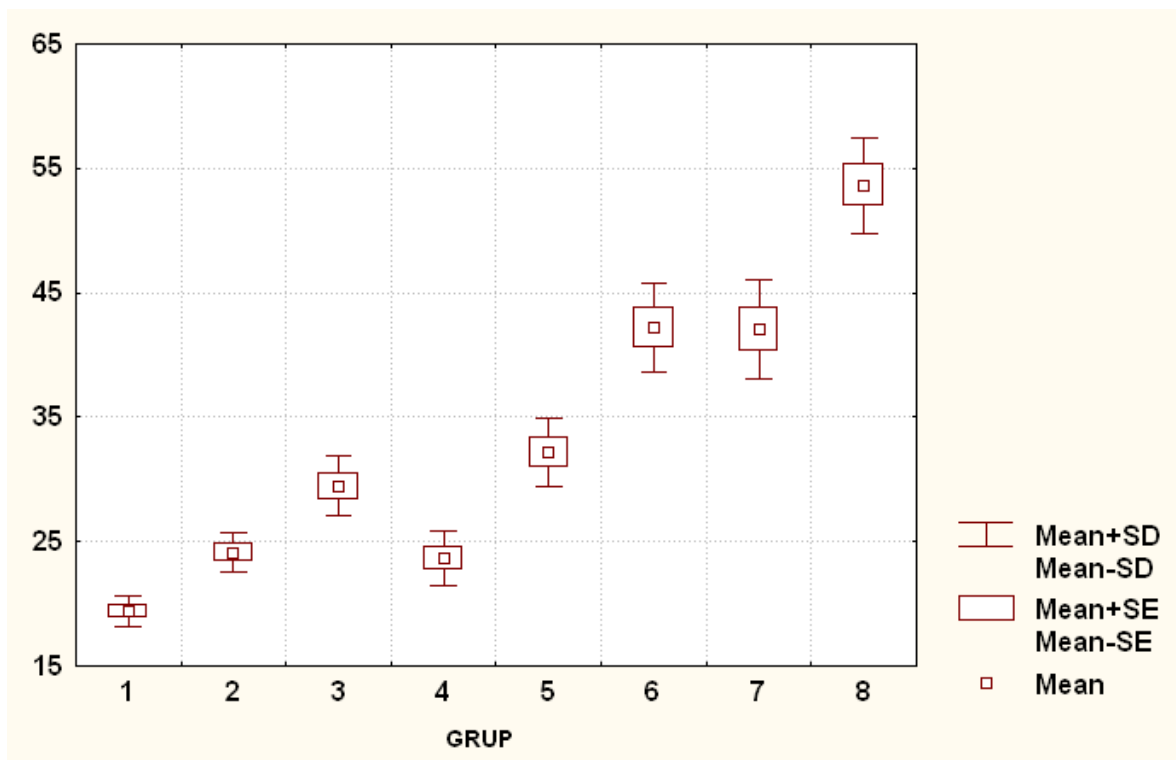
Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах у групі експерименту була більшою на 29,1%. Кількість порожніх остеоцитарних лакун – більшою на 34,7%.

Кількість функціонально активних остеобластів була більша на 30,1% у групі експерименту. Всі ці показники є свідченням ще більш активного загоєння перелому та остеогенезу в групі експерименту на 28-му добу порівняно з групою контролю.

При порівнянні показника площі кісткових трабекул в різних групах спостереження відмічено поступове його зростання як в контрольній, так і в експериментальній групах, за винятком експериментальної групи на 14-ту добу від моменту проведення постановки перелому з наступним введенням мезенхімальних стовбурових клітин. На 14-й день може відбуватися фаза переходу між раннім етапом ремоделювання кісткової тканини та пізнішим етапом, коли клітини активно виробляють нову кісткову матрицю. Цей перехід

може супроводжуватися тимчасовим зменшенням площі кісткових трабекул. Не виключено, що на 14-й день відбувається тимчасова ресорбція кісткової тканини, коли стара тканина розчиняється, щоб зробити місце для нової тканини. Це може призвести до зменшення площі кісткових трабекул на цьому етапі.

Фактично показники площі кісткових трабекул не відрізнялися на 7-му і 14-ту добу, проте надалі, в наступні інтервали спостереження, а саме на 21-шу і на 28-му добу, існувала суттєва різниця в досліджуваних показниках між контрольною та експериментальною групами зі значним відривом значень в групі, якій вводили мезенхімальні стовбурові клітини (рис. 3.13).



Примітки: тут і в наступних графіках: GRUP – групи спостереження; **1** – контроль, 7-ма доба; **2** – експеримент, 7-ма доба; **3** – контроль, 14-та доба; **4** – експеримент, 14-та доба; **5** – контроль, 21-ша доба; **6** – експеримент, 21-ша доба; **7** – контроль, 28-ма доба; **8** – експеримент, 28-ма доба; Mean – середнє значення для кожної ознаки; Mean±SE – середня ± стандартна похибка середньої; Mean±SD – середня ± стандартне квадратичне відхилення.

Рис. 3.13. Показники площі кісткових трабекул в різних групах спостереження.

Аналіз показників площі міжтрабекулярних просторів в досліджуваних групах показав поступове підвищення значень досліджуваного параметра як в експериментальній, так і в контрольній групах зі значним переважанням його в групах щурів, яким вводили клітинну терапію на основі мезенхімальних стовбурових клітин, джерелом яких були Вартонові драгли.

Така лінійність отриманих даних вказує на закономірні наростання процесів остегенезу, що мають місце після перелому і водночас показує значний ефект, що його спричинює клітинна терапія на мікроскопічному рівні, де показники експериментальної групи значною мірою випереджають показники контрольної групи (рис. 3.14).

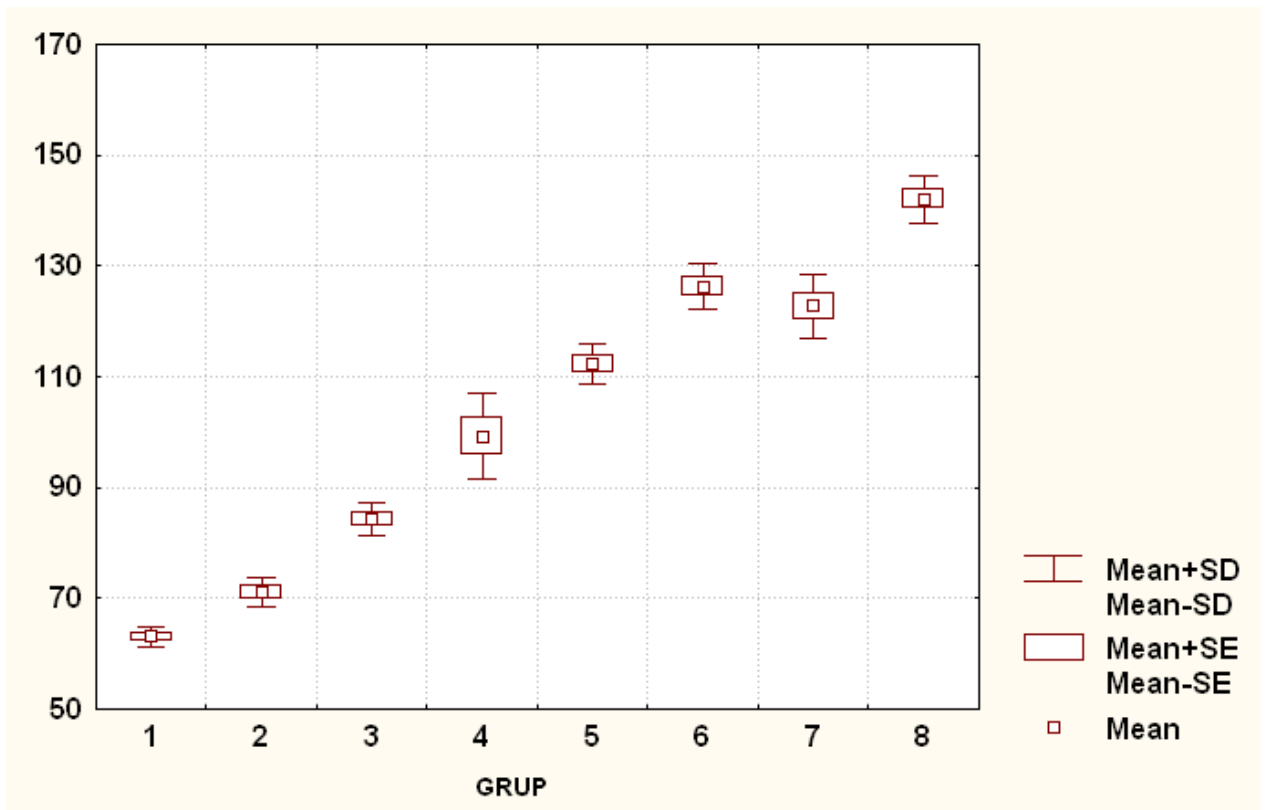


Рис. 3.14. Показники площі міжтрабекулярних просторів у різних групах спостереження.

Значення відношення площі кісткових трабекул до площі міжтрабекулярних просторів не має такої лінійності, як у попередньому випадку, за рахунок впливу аномалії, що спостерігалася на 14-ту добу в

експериментальній групі при дослідженні параметра площі кісткових трабекул.

Окрім цього, відмічено погіршення показника на 21-шу добу спостереження в контрольній групі щурів, яка на 28-му добу підвищується, однак не відрізняється значно від його значення на 14-ту добу спостереження від моменту постановки експериментального перелому.

Значне покращення досліджуваного параметра відбувається лише на 28-му добу в групі, де щурам вводили мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів (рис. 3.15).

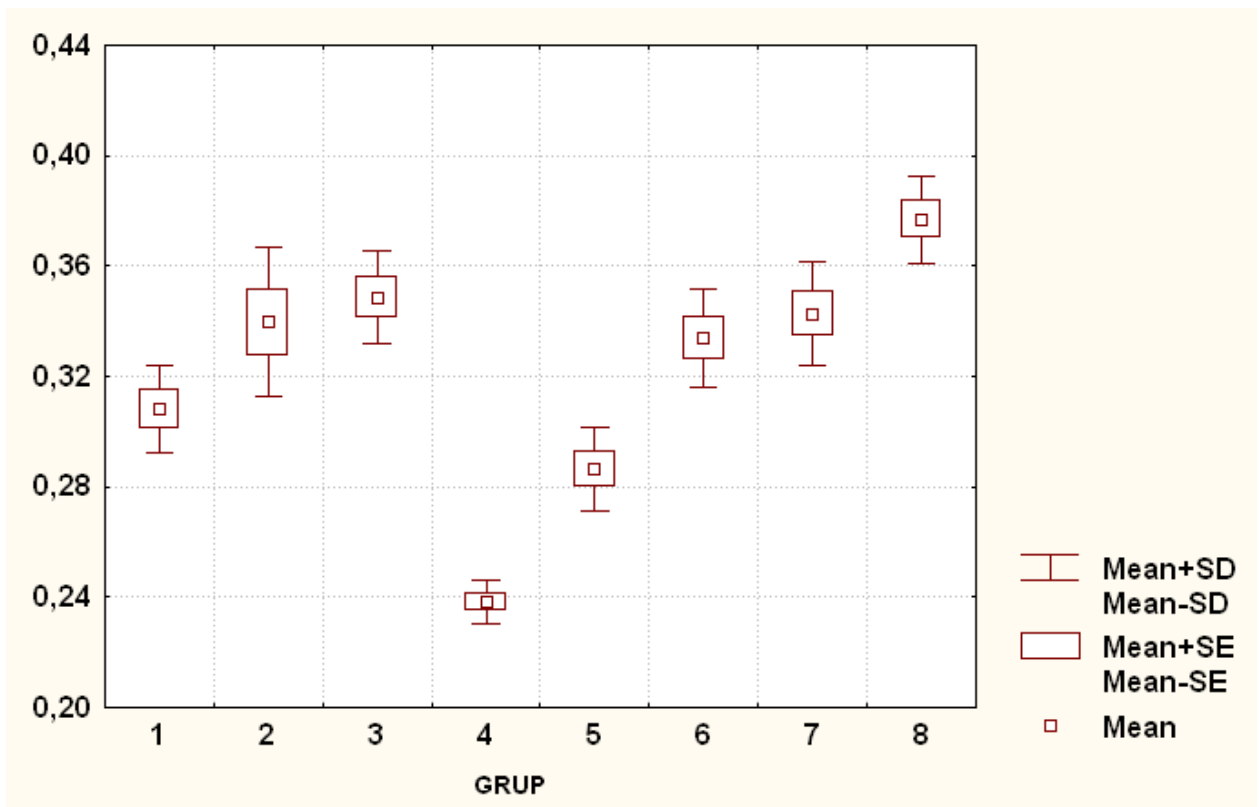


Рис. 3.15. Відношення площі кісткових трабекул до площі міжтрабекулярних просторів у різних групах спостереження.

Про розгляді результатів морфометрії товщини кісткових трабекул відмічено зростання досліджуваного показника з часом як в експериментальних, так і в досліджуваних групах, що має практично лінійний характер, окрім періоду з 7-ї до 14-ї доби спостереження після виконання

перелому, коли і в експериментальній, і в контрольній групі виявлено різкий стрибок параметра товщини кісткових трабекул. Таке зростання цього показника вказує на активізацію після 7-ї доби репаративних механізмів в організмі щурів і відповідає появі кісткового регенерату в ділянці перелому.

Надалі, після 14-ї доби зростання показника є поступовим зі значним випередженням його параметрів в експериментальних групах (рис. 3.16).

У різних групах спостереження кількість контактів трабекул з кортексом має відмінності залежно від приналежності до експериментальної чи контрольної та залежно від пройденого часу з моменту постановки експериментального перелому.

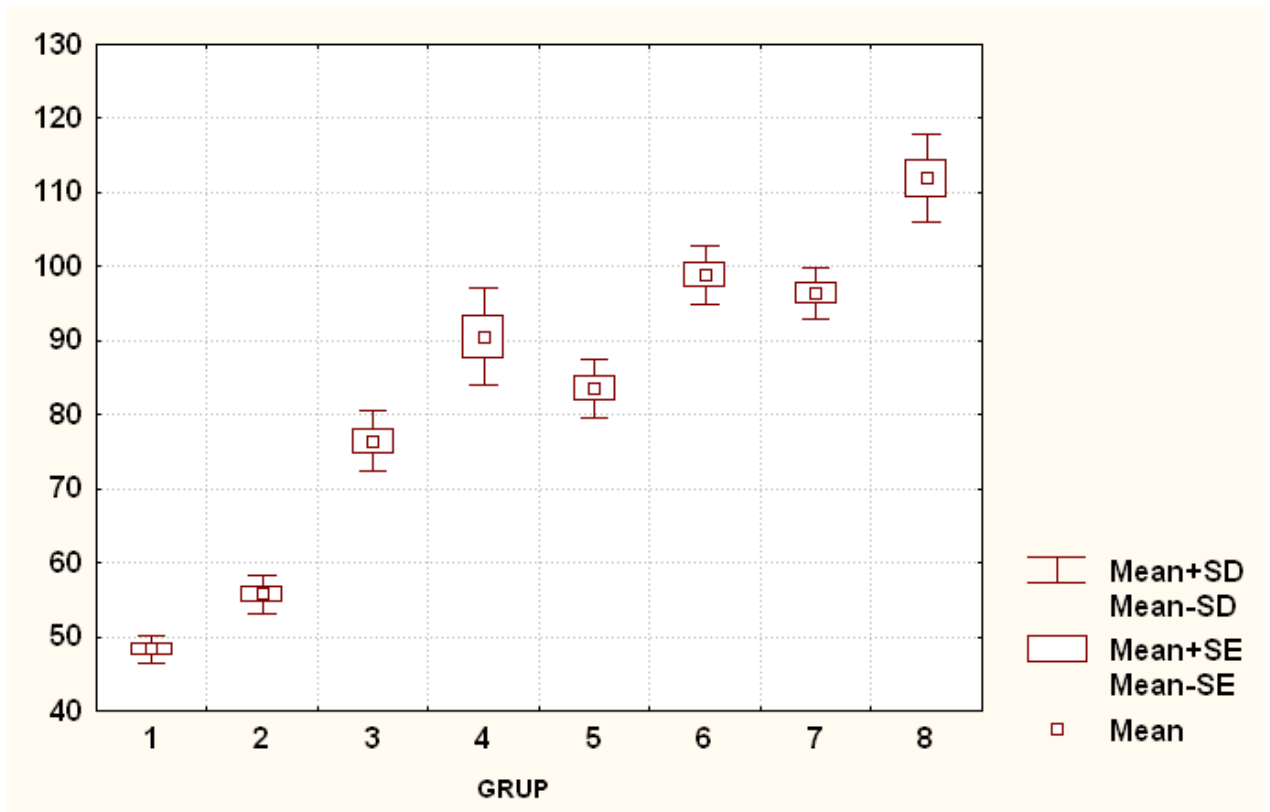


Рис. 3.16. Товщина кісткових трабекул в різних групах спостереження.

У цілому спостерігається поступове, практично лінійне зростання показника від 7-ї до 28-ї доби спостереження з переважанням значення параметра в групах щурів, що підлягали клітинній терапії.

Привертає увагу незначне сповільнення зростання досліджуваного

показника між 14-ю і 21-ю добою та незначний ривок з 7-ї на 14-ту і з 21-ї на 28-му добу спостереження як в контрольній, так і в експериментальній групах щурів, яким вводили мезенхімальні стовбурові клітини (рис. 3.17).

Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах в різних групах спостереження поступово зростала в період спостережень і досягала максимальних показників в групах на 28-му добу.

Поступове, лінійне зростання показників простежувалося з 7-ї до 14-ї доби експерименту в групах щурів контрольної та експериментальних груп. Водночас, якщо в групі контролю надалі показник зростав незначною мірою, то в групах щурів, яким вводили мезенхімальні стовбурові клітини в ділянку перелому, відбувалося різке зростання кількості остеоцитів на кісткових трабекулах.

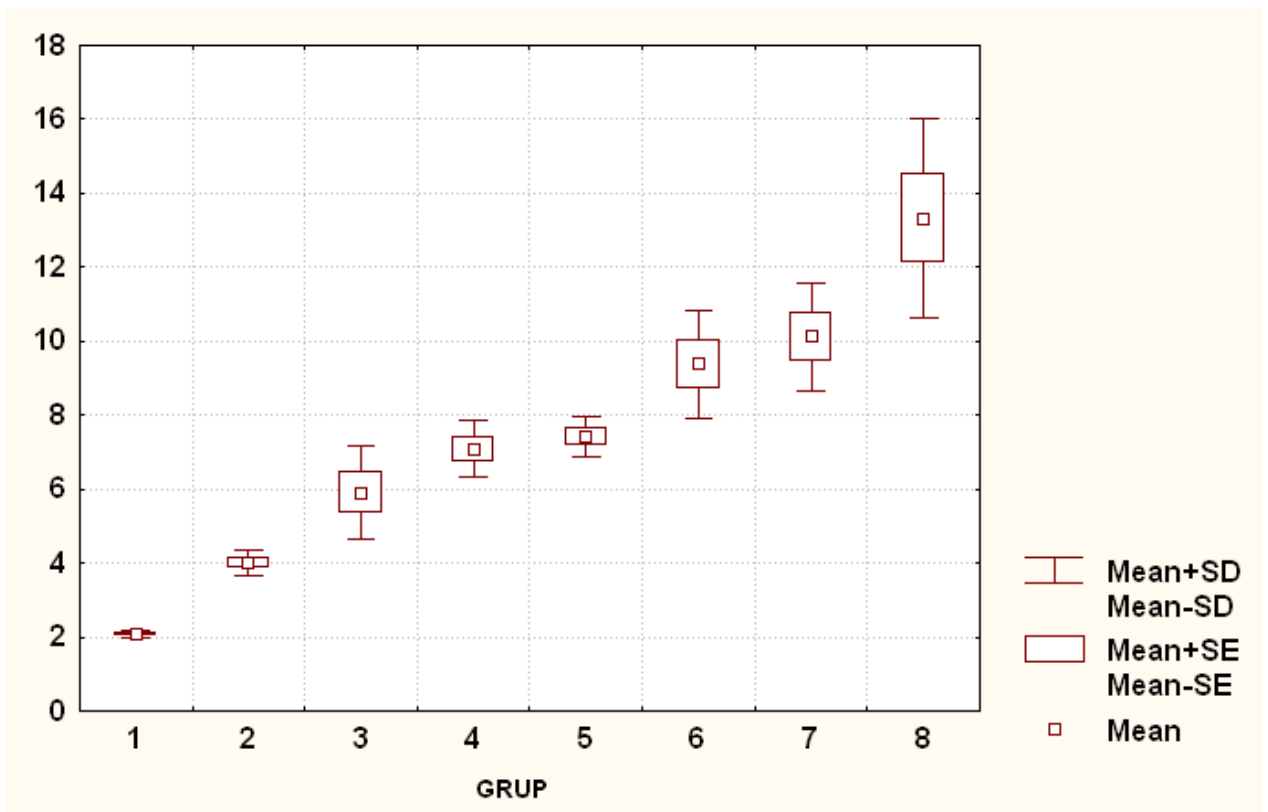


Рис. 3.17. Кількість контактів трабекул з кортексом в різних групах спостереження.

Як на 21-шу, так і на 28-му добу спостереження показники в

експериментальних групах значно випередили ті, що були отримані в групах контролю (рис. 3.18).

Схожий характер розташування показників виявлений і при аналізі кількості порожніх остеоцитарних лакун. Як і в попередньому випадку, після поступового, лінійного характеру зростання показника в часі, на 21-шу та 28-му добу спостереження ставався різкий стрибок у значенні досліджуваного параметра в групах, яким вводили мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів.

Такий стрибок може бути зумовлений закінченням фази ресорбції та початком фази синтезу в ці часові проміжки, коли фрагменти старої кістки розчиняються, і відбувається початок фази синтезу, коли нова кістка активно формується. Це може призвести до зростання кількості остеоцитів на кісткових трабекулах, оскільки нова кістка вимагає більш активної комунікації та контролю клітин. (рис. 3.19).

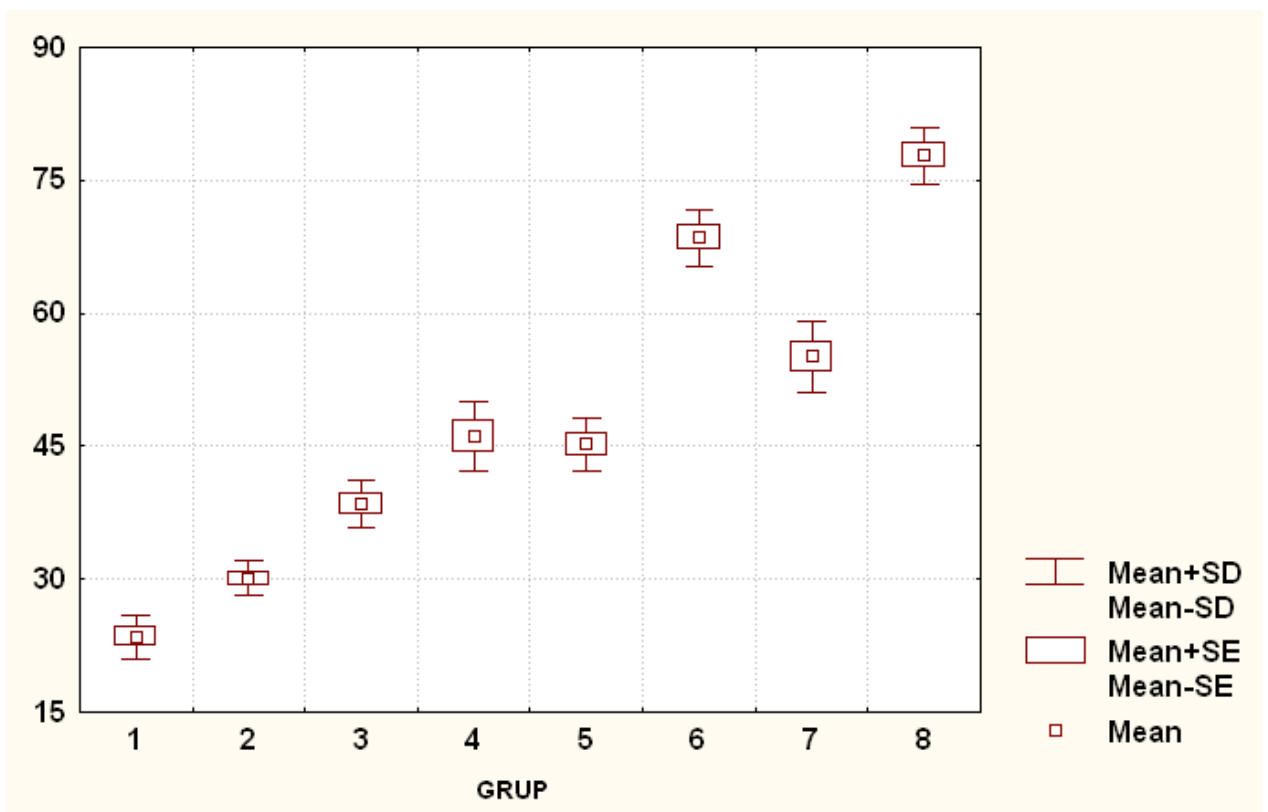


Рис. 3.18. Середня кількість остеоцитів на кісткових трабекулах в різних групах спостереження.

Встановлено особливості кількості функціонально активних остеобластів серед досліджуваних груп. У першій половині термінів спостереження в обох досліджуваних групах відмічено незначне зростання досліджуваного параметра. Надалі ж виявлено суттєві відмінності в прогресуванні кількості функціонально активних остеобластів. У групі контролю на 21-шу добу зафіксовано різке зростання показника, що випереджало значення експериментальної групи, проте на 28-му добу цей показник вже зменшився. В експериментальній же групі на 28-му добу стався різкий підйом показника.

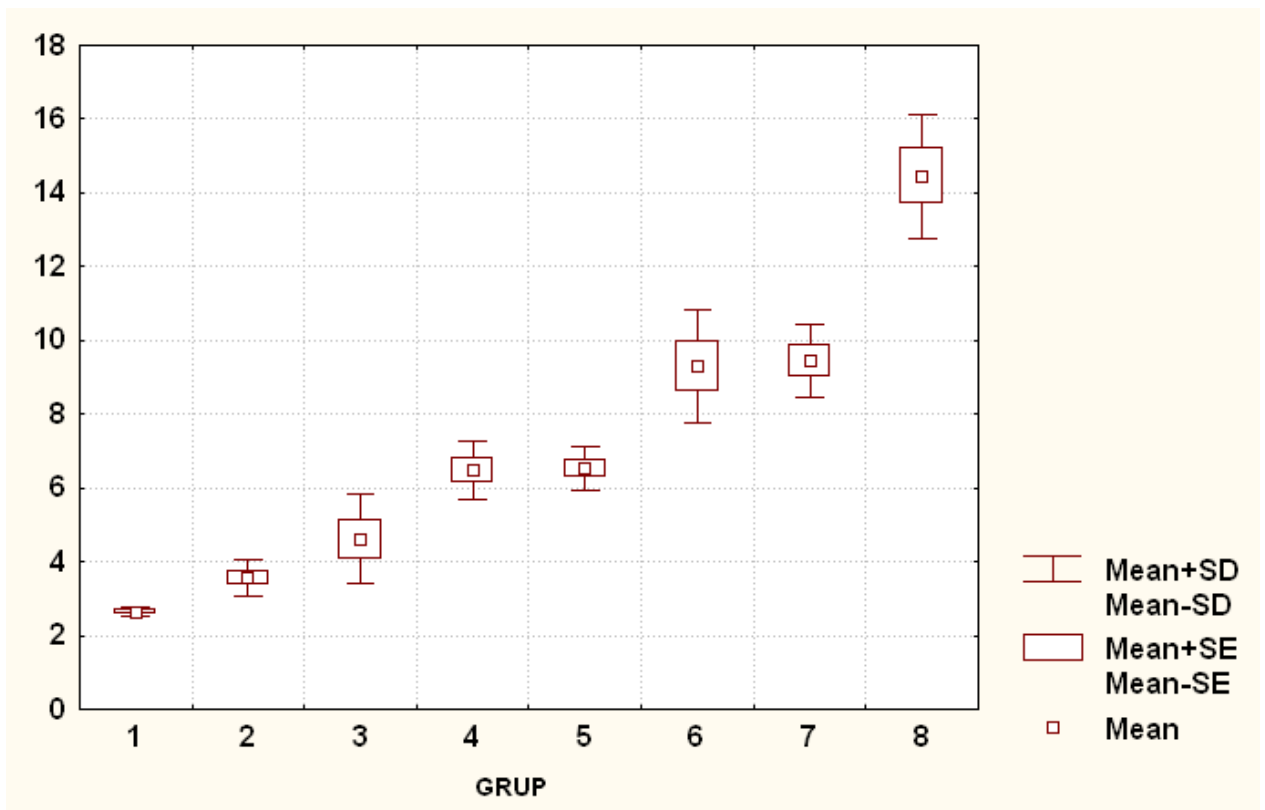


Рис. 3.19. Кількість порожніх остеоцитарних лакун в різних групах спостереження.

Дане явище може бути пояснене так само, як і в попередньому випадку, або за рахунок активного розпаду старих остеоцитів: на цій стадії остеогенезу може відбуватися активний розпад старих остеоцитів, які вже виконали свої функції в кістці. Цей процес може бути спровокований активністю

мезенхімальних стовбурових клітин, які стимулюють ремоделювання кісткової тканини (рис. 3.20).

Отже, дані морфологічного дослідження, проведеного нами, показав, що репаративна регенерація кістки являє собою послідовність процесів міграції, проліферації та диференціювання клітин, утворення первинних та вторинних гістіонних структур, що завершується формуванням повноцінної кісткової тканини.

На основі гістологічних досліджень доведено, що фізіологічна та патологічна перебудова кісткової тканини великогомілкових кісток в умовах їх перелому без лікування та при застосуванні клітинної терапії значно відрізняється у контрольній та дослідній групах білих лабораторних щурів.

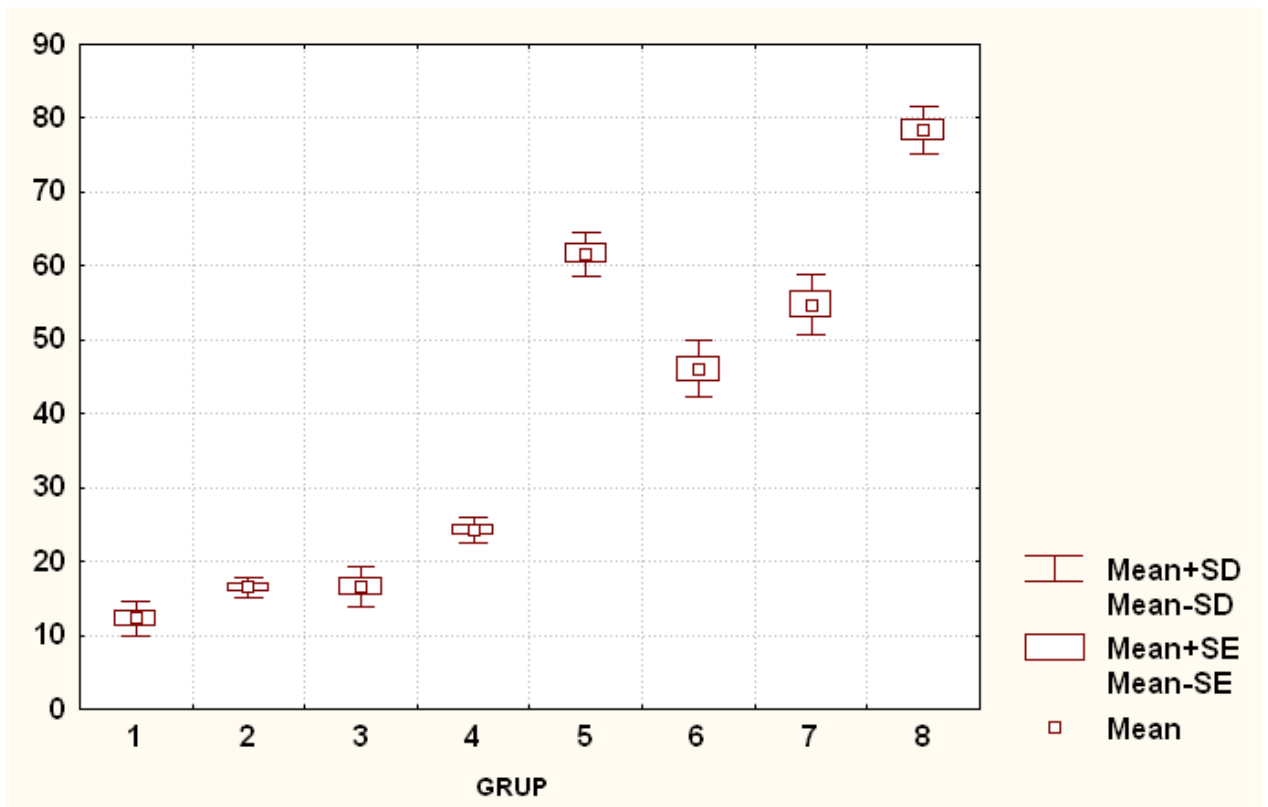


Рис. 3.20. Кількість функціонально активних остеобластів у різних групах спостереження.

Отримані дані гістологічного дослідження свідчать, що за відсутності лікування довше тривають запальні зміни, що значно сповільнюють процеси

регенерації кісткової тканини.

Формування кісткового регенерату великогомілкової кістки при загоєнні перелому супроводжується послідовною зміною тканинноспецифічних структур з утворенням повноцінної кісткової тканини на місці перелому через 28 днів спостереження.

Отримані наукові результати необхідні для подальшого вивчення стану реадaptaційних змін кісткової тканини в організмі, для розробки різних методів лікування та корекції з метою запобігання патологічній регенерації кісткової тканини.

Результати досліджень, які представлені у даному розділі дисертації, відображені в 3 статтях у фахових наукових журналах України [61, 154, 155] та в 4 тезах міжнародних науково-практичних конференцій [3, 4, 5, 6].

РОЗДІЛ 4

РЕЗУЛЬТАТИ ЛІКУВАННЯ ВОГНЕПАЛЬНИХ ПЕРЕЛОМІВ КІСТОК З ВИКОРИСТАННЯМ МЕЗЕНХІМАЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

4.1 Оцінка результатів лікування пацієнтів з переломами кісток, яких лікували локальним уведенням стовбурових клітин Вартонових драглів пупкового канатика

Проаналізовано результати лікування 30 пацієнтів з вогнепальними переломами трубчастих кісток. Вік хворих становив від 20 до 45 років, в середньому – $28 \pm 1,2$ року. Серед хворих в дослідженні брали участь лише чоловіки – 30 (100,0%).

Основним видом травми, що призводила до переломів, була бойова травма 30 пацієнтів (100,0%). У складі вогнепальних переломів перевагу мають переломи кісток гомілки (40,1%), рідше спостерігаються переломи стегнової та плечової кісток (27,8% та 21,3% відповідно); переломи кісток передпліччя складають 10,8%. На всіх сегментах переважають діафізарні переломи, а внутрішньосуглобові переломи наявні у 11,3% постраждалих. Серед 88,7% вогнепальних переломів, отриманих при пораненнях різною зброєю, 37,1% мають уламковий характер, а 51,6% – роздроблений характер. Первинні дефекти кісток були зареєстровані у 7,1% постраждалих.

Тобто більшість переломів відбуваються в кістках гомілки, що може вказувати на те, що цей сегмент тіла є більш уразливим або частіше травмується порівняно з іншими – гомілкова кістка більш вразлива до вогнепальних ушкоджень через її відкрите місцезнаходження та недостатній захист.

Також роздроблені переломи переважають над уламковими, що може вказувати на більшу тяжкість травм та/або особливості використовуваної зброї (рис. 4.1).



Рис. 4.1. Структура вогнепальних переломів за локалізацією.

У 2 (13,33%) хворих контрольної групи наявна резорбція кісткових уламків та у 3 (20,00%) хворих присутні остеопоротичні зміни в кістках. У хворих клінічної групи резорбція кісткових уламків спостерігалась у 3 (20,00%) хворих та у 4 (26,64%) хворих наявні остеопоротичні зміни в кістках.

Початкових результатів консолідації не встановлено у жодного пацієнта із контрольної та дослідної груп (рис. 4.2).

Аналіз рентгенологічних показників через 3 місяці після введення мезенхімальних стовбурових клітин засвідчує, що більшість хворих клінічної групи – 13 (86,66%), мали наявність ангіогенної кісткової структури (перебудова кісткової тканини), у деяких хворих клінічної групи – 2 (13,33%), спостерігалась резорбція країв уламків. У 2 (13,33%) пацієнтів даної групи встановлено наявність остеопоротичних змін. Лише у 2 (13,33%) пацієнтів цієї групи незрощення перелому. У контрольній групі більшість хворих – 8 (53,33%), мали наявність ангіогенної кісткової структури (перебудова кісткової тканини), у 6 (40,00%) спостерігалась резорбція країв уламків. У 7 (46,66%) пацієнтів даної групи встановлено наявність остеопоротичних змін.

Більшість хворих – 7 (46,66%), даної групи мали незрощення перелому. При порівнянні віддалених результатів лікування пацієнтів клінічної та контрольної груп встановлено достовірно кращі показники відсутності резорбції кісткових уламків та остеопоротичних змін, достовірно кращі результати ангіогенної кісткової структури (перебудова кісткової тканини), меншу кількість випадків слабokonсолідуєчого перелому/незрощення перелому.

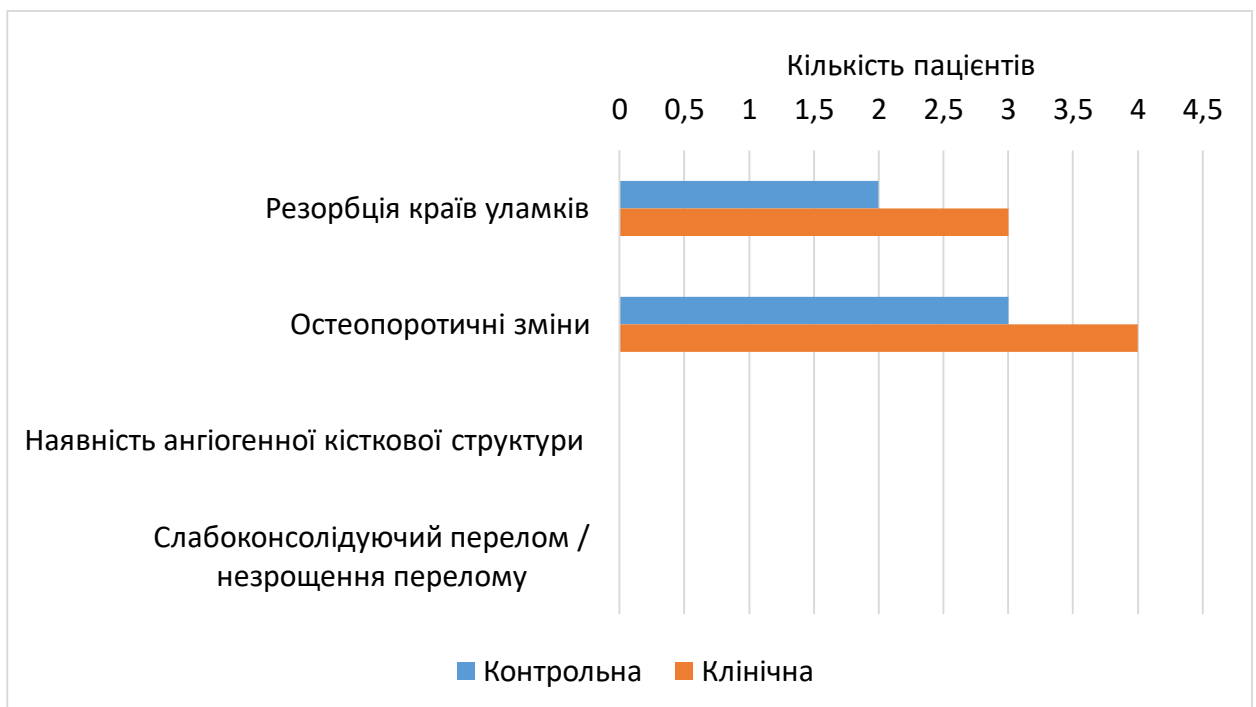


Рис. 4.2. Порівняльна характеристика рентгенограм на початковому етапі дослідження пацієнтів клінічної та контрольної груп.

Із всіх обстежених та прооперованих нами хворих, у яких застосовували активацію репаративного остеогенезу з використанням мезенхімальних стовбурових клітин (15 осіб), у 13 (86,66%) отримані добрі результати і лише у 2 хворих (13,33%) наявний слабokonсолідуєчий або незрощений перелом. У порівнянні контрольна група пацієнтів мала такі результати на завершальному етапі дослідження: у більшості хворих 7 (46,66%) наявний слабokonсолідуєчий або незрощений перелом, який оцінений як негативний результат лікування без застосування мезенхімальних стовбурових клітин

(рис. 4.3).

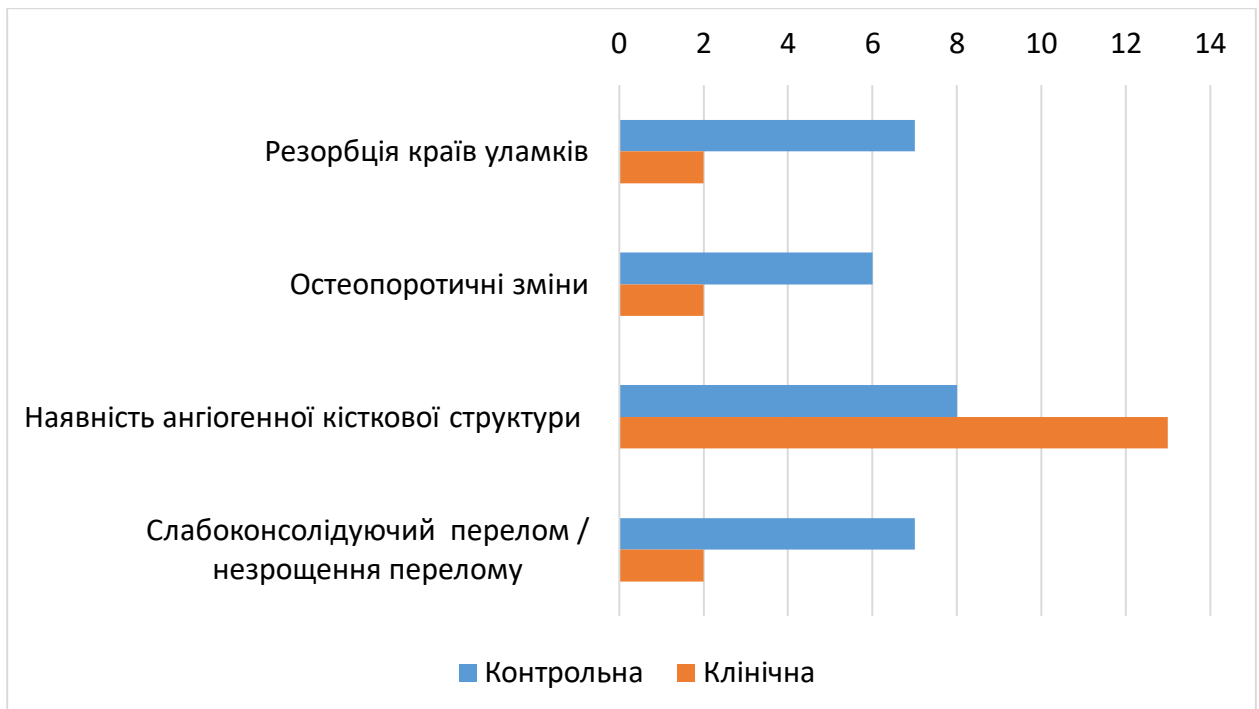


Рис. 4.3. Порівняльна характеристика рентгенограм через 3 місяці після введення мезенхімальних стовбурових клітин у віддаленому етапі дослідження пацієнтів клінічної та контрольної груп.

4.2 Клінічні випадки пацієнтів з переломами кісток, яких лікували введенням мезенхімальних стовбурових клітин з Вартонових драглів

Клінічний приклад № 1 (із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин).

Хворий Ш., 23 роки, погоджувальний лист № 12. Зі слів хворого та супровідної документації бойову травму отримав 31.10.2022. Перша допомога полягала у виконанні первинної хірургічної обробки вогнепального поранення із налагодженням апарата зовнішньої фіксації, знеболювальної терапії, антибіотикотерапії.

07.11.2022 був доставлений етапами медичної евакуації до Комунального некомерційного підприємства “Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги”. З діагнозом: поєднана вогнепальна

вибухова травма кінцівок та тулуба (від 31.10.2022). Вогнепальне вибухове осколкове сліпе поранення правого плеча із вогнепальним уламковим переломом діафіза правої плечової кістки у верхній третині, синтезований апарат зовнішньої фіксації. Вогнепальне осколкове дотичне поранення правого передпліччя із вогнепальним переломом правої ліктьової кістки в нижній третині без зміщення з наявністю стороннього тіла (металевого осколка).

На рентгенограмі правого плечового суглоба у прямій проекції від 07.11.2022 (рис 4.4). Кінцівка фіксована стрижневим апаратом зовнішньої фіксації, вісь кісток частково відновлено. Багатоуламковий перелом верхньої третини діафіза плечової кістки зі зміщенням та діастазом уламків 6-8 мм. Стороннє тіло металевої щільності (імовірно уламок) в м'яких тканинах правої аксілярної ділянки, розміром 4 мм × 5 мм.

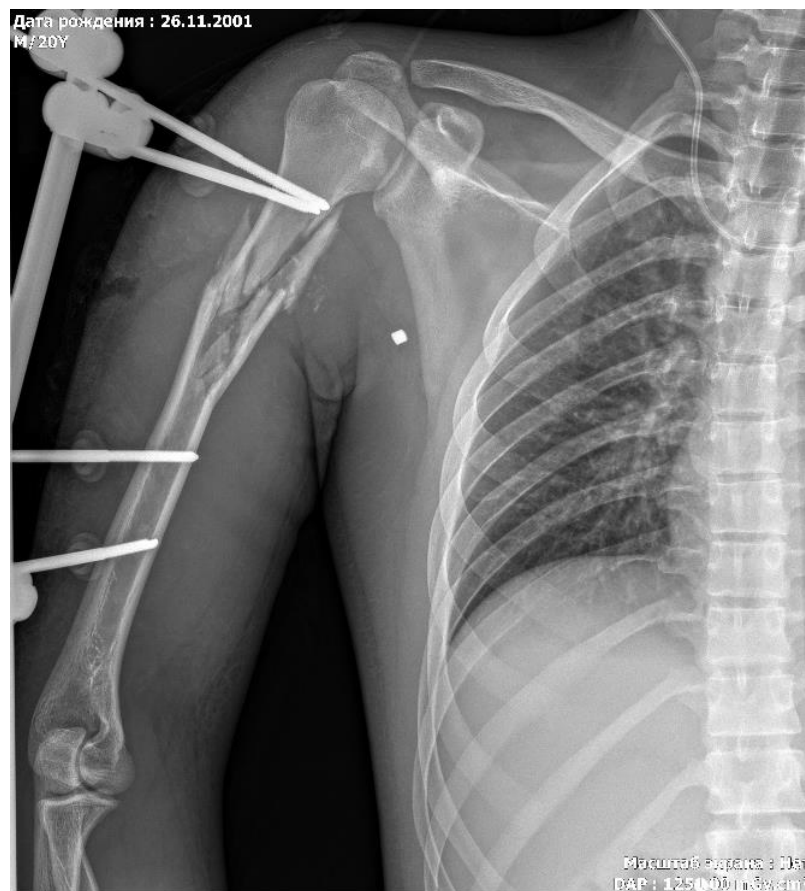


Рис. 4.4. Вогнепальний перелом верхньої третини правої плечової кістки, синтезований апаратом зовнішньої фіксації.

В умовах КНП “МКЛ ШМД” м. Вінниця було виконано вторинну хірургічну обробку та етапні хірургічні обробки ран (07.11.22, 11.11.22), демонтаж апарата зовнішньої фіксації та проведений блокований інтрамедулярний остеосинтез правого плеча (18.11.22).

На рентгенограмі правого плечового суглоба у прямій проекції від 18.11.2022 (рис 4.5) апарат зовнішньої фіксації демонтовано. Стан після інтрамедулярного остеосинтезу блокуючим стержнем. Вісь плечової кістки відновлена, збережена. Багатоуламковий перелом верхньої третини діафіза плечової кістки без зміщення. Стороннє тіло металевої щільності (імовірно, уламок) в м’яких тканинах правої аксілярної ділянки, розміром 4 мм × 5 мм.

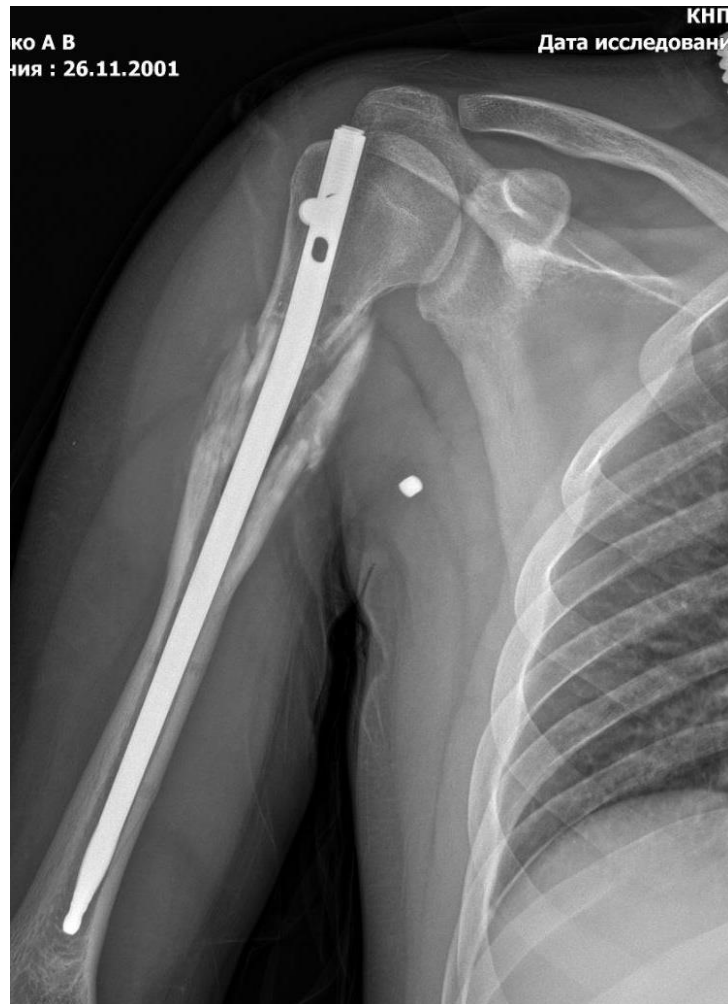


Рис. 4.5. Рентгенограма вогнепального перелому верхньої третини правої плечової кістки, стан після БІОС.

Хворому 21.11.2022 у зону перелому введено мезенхімальні стовбурові

клітини в кількості 30 мільйонів одиниць.

На контрольній рентгенограмі правого плеча у прямій проекції від 10.03.2023 (рис 4.6). Консолідований багатоуламковий перелом верхньої третини діяфіза плечової кістки після інтрамедулярного остеосинтезу блокуючим стержнем. Вісь кістки відновлена, збережена. Кістковий мозоль розвинений задовільно, достатньо, однорідної структури, практично відтворює кісткову структуру плеча, контури чіткі, рівні. Діастаз між уламками відсутній. Округлі кісткові дефекти у плечовій кістці (стан після демонтажу спице-стрижневого апарата зовнішньої фіксації), згладжені, чітко не контуруються. Стороннє тіло металевої щільності (імовірно, уламок) в м'яких тканинах правої аксілярної ділянки, зберігається. М'якотканинний компонент без особливостей. Кістково-деструктивних змін не спостерігається.

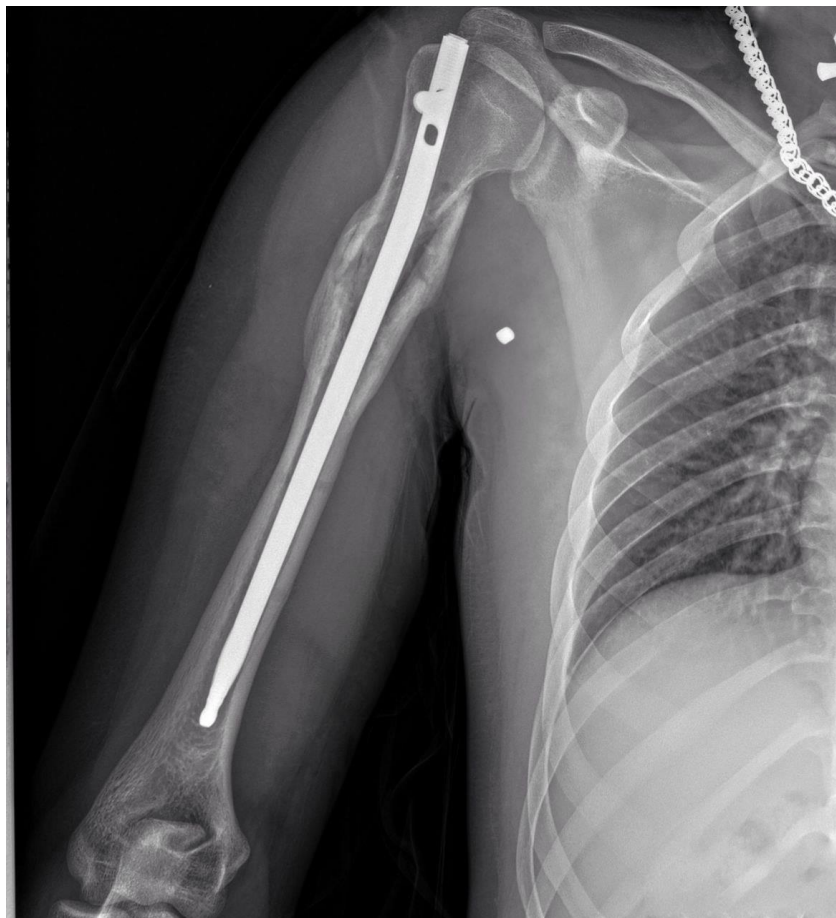


Рис. 4.6. Консолідований багатоуламковий перелом верхньої третини діяфіза плечової кістки.

Клінічний приклад № 1 (без застосування мезенхімальних стовбурових клітин).

Хворий Н., 33 роки. Згідно із супровідною документацією бойову травму отримав 05.12.2022 під час виконання військових обов'язків. Перша медична допомога та лікування на етапах медичної евакуації 05.12.2022, госпіталізований до відділення політравми. 06.12.2022 виконано оперативне втручання: відкрита репозиція перелому правої плечової кістки у верхній третині із зміщенням, з монтажем апарата зовнішньої фіксації. 09.12.2022 доставлений етапами медичної евакуації до Комунального некомерційного підприємства “Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги” з діагнозом: вибухова травма. Вогнепальний осколковий перелом правої плечової кістки у верхній третині із зміщенням уламків. Вогнепальне осколкове поранення правої половини попереку. Госпіталізований у відділення політравматології для подальшого лікування.

На представленій рентгенограмі плеча від 09.12.2022 (рис. 4.7) в одній вимушеній проекції візуалізується: плече фіксоване стрижневим апаратом зовнішньої фіксації за допомогою 4 стержнів, 2 з яких фіксують голівку плечової кістки. Положення стержнів задовільне, резорбції кісткової структури перифокально не виявлено. Багатоуламковий перелом верхньої третини діяфіза плечової кістки зі зміщенням кістки на ширину кортикалу у фронтальній площині, діастазом між уламками до 10 мм та дефектом кістки протяжністю до 35 мм. Включення дрібних сторонніх тіл металевої щільності в м'яких тканинах верхньої третини плеча. Краї уламків згладжені, ознак консолидації не виявлено.

Суглобові поверхні у плечовому суглобі інконгруентні, вірогідно за рахунок ушкодження зв'язкового апарата суглоба. Кістково-деструктивні зміни не простежуються.

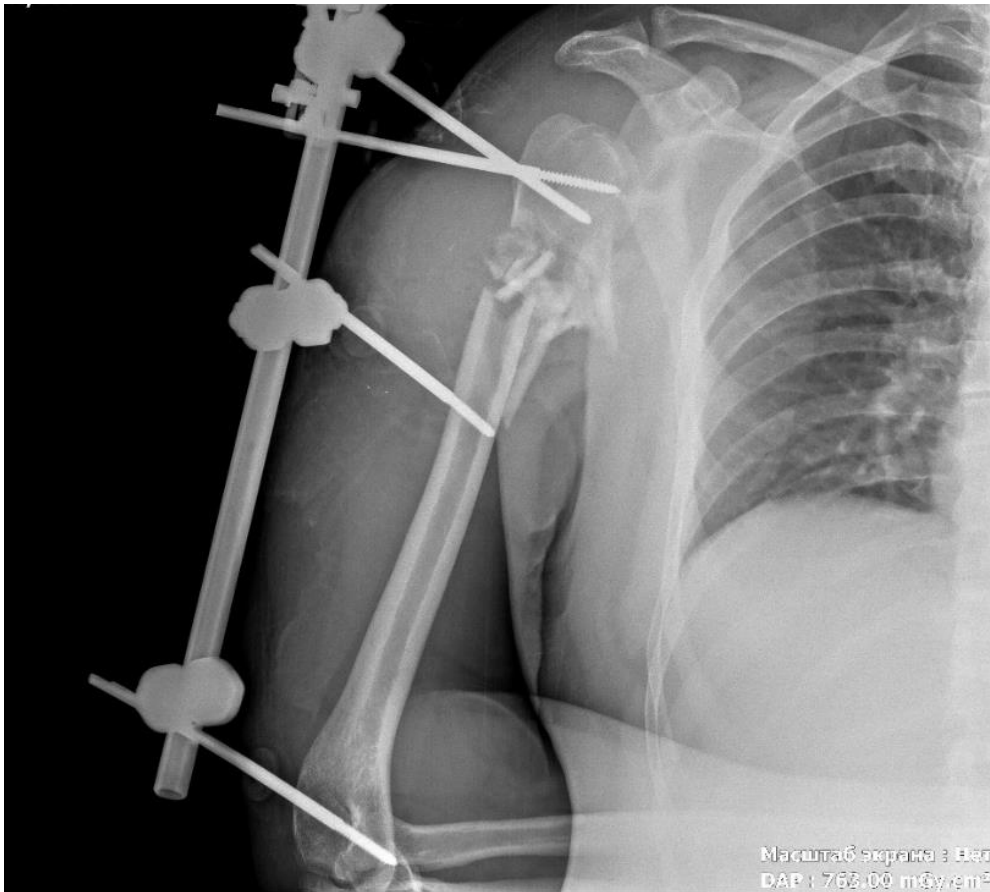


Рис 4.7. Вогнепальний уламковий перелом правої плечової кістки у верхній третині із зміщенням уламків, синтезований апаратом зовнішньої фіксації.

Враховуючи характер перелому, наявність запального процесу у вогнепальній рані, налагоджений апарат зовнішньої фіксації був залишений як остаточний метод фіксації, однак при контрольній рентгенографії від 22.02.2023 позитивної динаміки у лікуванні не прослідковано, що вимагало заміни методу фіксації. На контрольній рентгенограмі від 22.02.2023 (рис. 4.8) в одній проекції візуалізується: стан після демонтажу апарата зовнішньої фіксації. Кісткові дефекти в місцях вилучення стержнів без ознак літичних змін, з склерозованим краєм. Положення кісткових уламків перелому плечової кістки без значних динамічних змін. Вісь кістки зміщена на 1/2 ширину поперечника. Структура проксимального епіметадіафіза плечової кістки з вираженими остеопоротичними змінами. Конгруентність суглобових поверхонь не відновлена. Ознак консолидації перелому не виявлено. Кістково-

деструктивні зміни не простежуються.



Рис 4.8. Неконсолідований багатотламковий перелом верхньої третини правої плечової кістки.

Клінічний приклад № 2 (із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин).

Хворий Р., 27 років, погоджувальний лист № 12. Зі слів хворого та супровідної документації 16.06.2022 отримав бойову травму. Перша допомога була надана на місці травмування. У клінічній лікарні було виконано: ремонт апарата зовнішньої фіксації (17.06.2022), неодноразові вторинні хірургічні обробки лівої гомілки, знеболення, антибіотикотерапія. 09.07.2022 доставлений етапами медичної евакуації у КНП “ВМКЛ ШМД” із діагнозом: Стан після вибухової травми (16.06.2022) множинних вогнепальних сліпих осколкових поранень м’яких тканин голови, ший, тулуба, верхніх та нижніх кінцівок (із наявністю сторонніх тіл); вогнепального багатотламкового перелому обох кісток лівої гомілки, остеометалосинтез апаратом зовнішньої

фіксації (17.06.2022) та госпіталізований у травматологічне відділення. Беручи до уваги характер перелому, наявність ушкодження м'яких тканин та наявність протипоказів до внутрішнього остеосинтезу, основним методом фіксації вогнепального перелому обох кісток лівої гомілки був апарат Ілізарова. 19.07.2022 виконано демонтаж стрижневого апарата зовнішньої фіксації з лівої гомілки та проведено черезкістковий остеосинтез лівої гомілки апаратом Ілізарова.

На рентгенограмі лівої гомілки у прямій та бічній проекції від 19.07.2022 (рис. 4.9

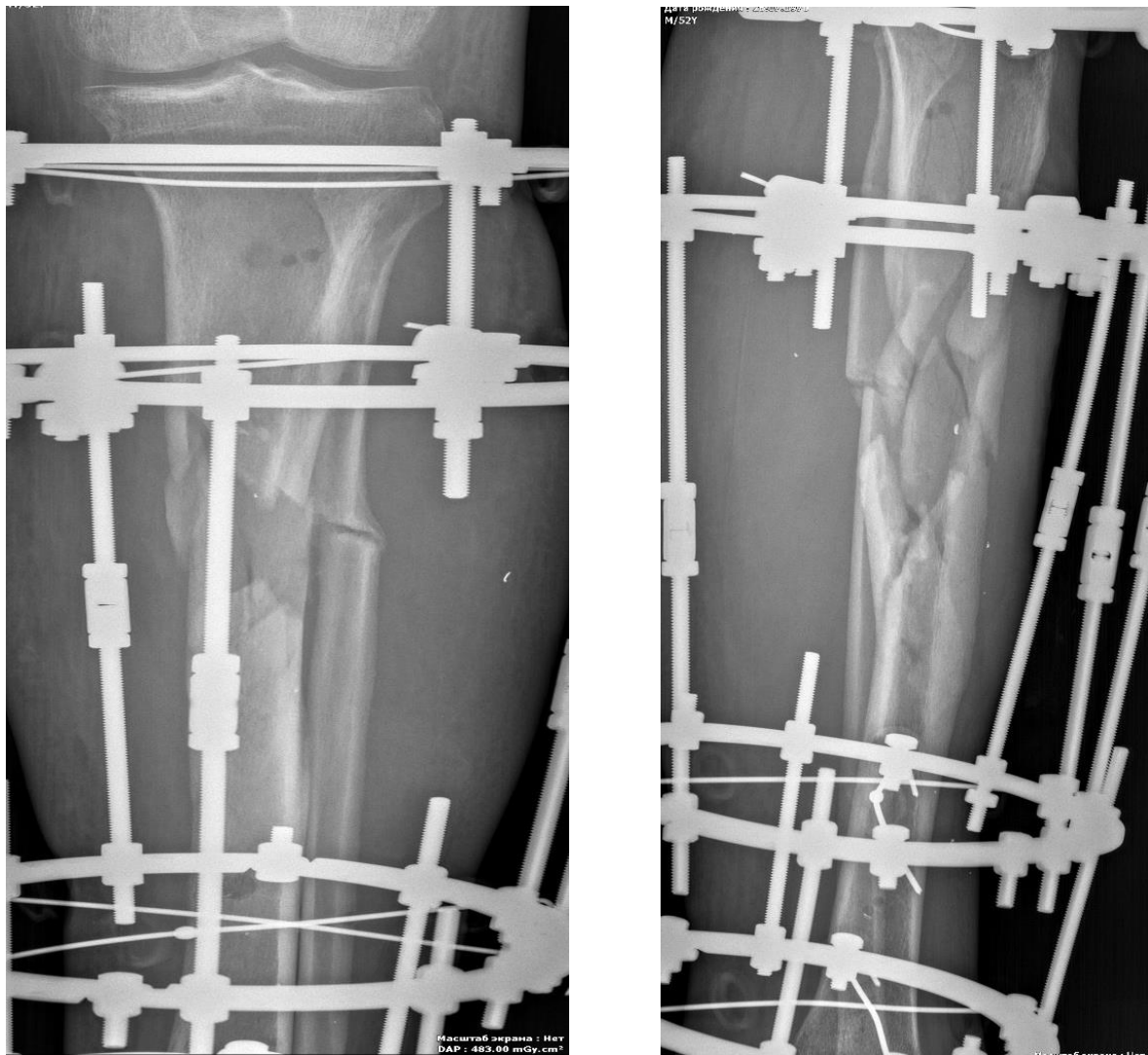


Рис. 4.9. Вогнепальний багатоуламковий перелом на межі верхньої та середньої третини обох кісток лівої гомілки.

). Кінцівка фіксована спице-стрижневим апаратом зовнішньої фіксації по типу апарата Ілізарова, вісь кісток збережена. Визначається багатоуламковий перелом на межі верхньої та середньої третини діафіза лівої великогомілкової кістки із розповсюдженням лінії перелому на проксимальний метафіз кістки; на рівні перелому – кістковий дефект. Поперечний перелом середньої третини діафіза малоюмілкової кістки зі зміщенням на 1/3 ширини діафіза та діастазом між уламками. Округлі кісткові дефекти діафіза великогомілкової кістки, із чітким рівним контуром (стан після демонтажу спице-стрижневого апарата зовнішньої фіксації). Множинні, дрібні, сторонні тіла м'яких тканин гомілки, імовірно, уламки на рівні перелому, розміром до 2 мм.

Враховуючи характер перелому, наявність відкритих ран, налагоджений апарат Ілізарова залишено як остаточний метод фіксації. 21.07.2022 хворому в зону перелому великогомілкової кістки введено мезенхімальні стовбурові клітини в кількості 30 млн.од.

На контрольній рентгенограмі лівої гомілки у прямій та бічній проекції від 29.10.2022 (рис 4.10). У процесі лікування стабільне положення компонентів апарата Ілізарова, вісь кісток стабільна, рентген-динаміка позитивна за рахунок кісткового мозоля, що сформований задовільно, неоднорідної структури (негомогенний), з відносно чітким, згладженим контуром. Діастаз між уламками відсутній, виповнений кістковим мозолем. Кістковий дефект великогомілкової кістки відсутній. Округлі кісткові дефекти діафіза великогомілкової кістки (стан після демонтажу стрижневого апарата зовнішньої фіксації), згладжені, чітко не контуруються. Множинні, дрібні сторонні тіла м'яких тканин гомілки, імовірно, уламки на рівні перелому, розміром до 2 мм, зберігаються. Кістково- деструктивних змін не спостерігається.

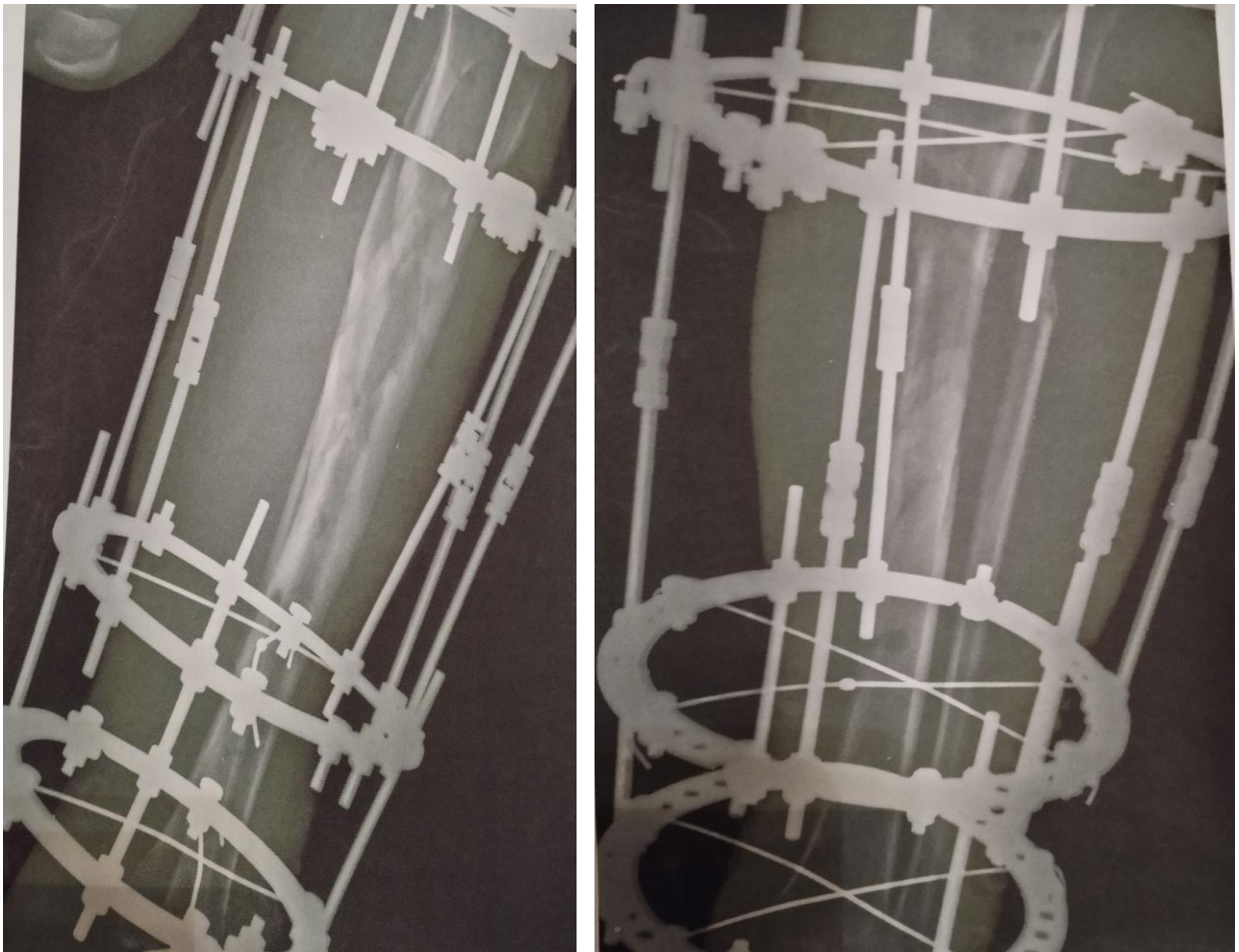


Рис. 4.10. Консолідований багатоуламковий перелом на межі верхньої та середньої третини обох кісток лівої гомілки.

Клінічний приклад № 2 (без застосування мезенхімальних стовбурових клітин).

Хворий К., 39 років. Поранення отримав під час бойових дій. 06.02.23. Перша допомога надана на етапах медичної евакуації, що полягала у первинній хірургічній обробці, налагоджені стержевого апарата зовнішньої фіксації, медикаментозного лікування. 13.02.2023 етапами медичної евакуації доставлений до Комунального некомерційного підприємства “Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги” із діагнозом: вибухова травма. Вогнепальні багатоуламкові переломи обох кісток лівої гомілки у середній третині зі зміщенням уламків та наявністю сторонніх тіл (металевих осколків) та дефектом м’яких тканин лівої гомілки. Госпіталізований у відділення травматології для подальшого лікування.

На представленій рентгенограмі гомілки від 13.02.2023 (рис. 4.11) візуалізується: гомілка фіксована стрижневим апаратом зовнішньої фіксації, положення стержнів задовільне, ознак резорбції вздовж них не виявлено.



Рис. 4.11. Багатоуламковий мультифокальний перелом обох кісток гомілки у середньо-нижній третині зі зміщенням та дислокацією уламків.

Багатоуламковий мультифокальний перелом обох кісток гомілки у середньо-нижній третині зі зміщенням та дислокацією уламків. Вісь великогомілкової кістки зміщена на 1/2 ширини поперечника, малогомілкової на 2 поперечника.

На рівні переломів включення сторонніх тіл металевої щільності, максимальним розміром до 4,5 мм. М'якотканинний дефект гомілки на рівні переломів з орієнтовними розмірами 71 × 16 мм за довжиною та глибиною

відповідно. Гомілка деформована за рахунок м'якотканинного дефекту та значного зміщення уламків кісток. Ознак кістково-деструктивних змін не виявлено.

Враховуючи характер перелому, наявність запального процесу у вогнепальній рані, масивний дефект м'яких тканин налагоджений апарат зовнішньої фіксації був залишений як остаточний метод фіксації. Однак при динамічній рентгенографії від 22.05.2023 позитивної динаміки у лікуванні не прослідковано, що вимагало заміни тактики лікування вогнепального перелому.

На контрольній рентгенограмі від 22.02.2023 у 2 проекціях (рис. 4.12) візуалізується: положення металоконструкції без динамічних змін, ознаки лінійної резорбції вздовж стержнів апарата до 1 мм. Стан після операції, часткове видалення кісткових та металевих уламків. Зміщення кісткової осі обох кісток гомілки до 1/2 ширини поперечника. Ознак консолидації не виявлено, кістковий мозоль не простежується. Візуалізуються виражені остеопоротичні зміни кісток гомілки, краї уламків кісток резорбовані. Ознак кістково-деструктивних змін не виявлено.

Враховуючи результати експериментальних досліджень, клінічних спостережень можна стверджувати, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин значно покращує ефективність лікування хворих з вогнепальними переломами трубчастих кісток та здатність до репаративної регенерації кісткової тканини.

Доповнення процесу лікування переломів введенням мезенхімальних стовбурових клітин сприяє швидшому відновленню цілісності кісткової тканини. Отже, ретельний цілісний аналіз процесів остеогенезу та науково обґрунтований підхід до вибору тактики лікування з урахуванням біологічних характеристик пошкодженої ділянки дозволить покращити результати лікування хворих з розладами репаративного остеогенезу, скоротити терміни непрацездатності та зменшити частоту ускладнень.

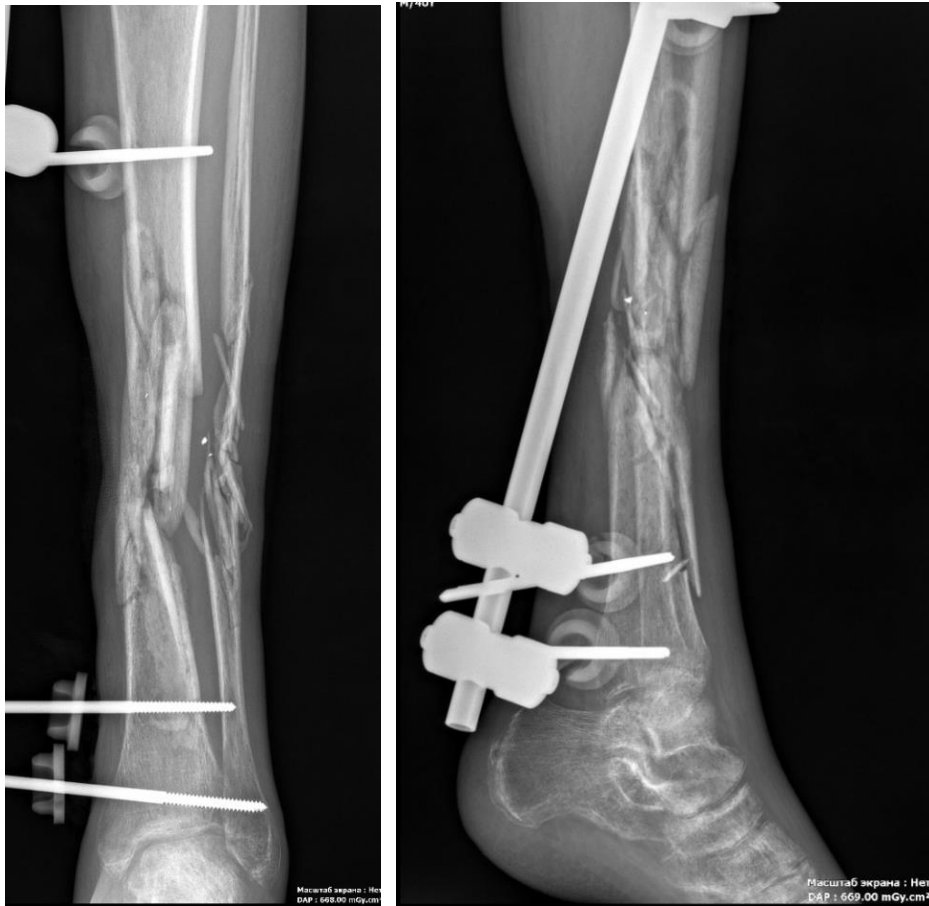


Рис 4.12. Неконсолідуєний багатоуламковий вогнепальний перелом обох кісток гомілки у середньо-нижній третині зі зміщенням та дислокацією уламків.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Переломи є поширеними травмами, що часто виникають в результаті нещасних випадків, спортивних травм або через ослаблення кісткової тканини з віком. Вони становлять значний медичний і соціальний виклик для суспільства. Лікування переломів потребує великих витрат ресурсів, а також може бути пов'язане із сильними болісними відчуттями та обмеженням фізичної активності для пацієнтів. Зокрема, значна тривалість загоєння перелому (в середньому 4-6 місяців у здорових осіб та більше в осіб із супутньою патологією) спричинює випадання особи із соціального життя, роботи та звичайної активності, способу життя – усі ці фактори ще більше посилюються у випадку ураження крупних кісток кінцівок [162].

Дослідження Adeyemi A. та Delhougne G. [8] показує, що середні витрати на кожного пацієнта з переломом стегнової кістки становлять \$50,508, що призводить до загальної оцінки вартості в \$5.96 мільярдів для системи охорони здоров'я США. Госпіталізація та послуги з догляду в спеціалізованих лікувальних закладах разом складають 76,3% від оцінених витрат у розмірі \$44,135 на пацієнта та 75,6% від оцінених витрат у розмірі \$42,388 на пацієнта протягом 90-денного періоду після перелому для всіх видів переломів стегнової кістки.

Станом на 2000 рік було оцінено, що щорічно майже 9 мільйонів людей зазнають остеопоротичних переломів, з яких найбільше – 1,6 мільйона – припадає на стегнову кістку, 1,7 мільйона – на передпліччя, і 1,4 мільйона – на хребет. Згідно зі звітом Генерального хірурга США 2004 року, близько половини жінок та однієї п'ятої частини чоловіків старше 50 років матимуть перелом протягом свого життя. Економічні та особисті наслідки остеопоротичних переломів є значними, з оцінковими щорічними витратами в розмірі 37 мільярдів євро у 27 країнах Європейського Союзу та втратою 1 180 000 якісних років життя у 2010 році. У зв'язку з поширенням явища старіння

населення, глобальні витрати на остеопоротичні переломи очікувано будуть зростати на 25% у період з 2010 р. до 2025 р. [47].

Враховуючи поширеність переломів та їхній вплив на якість життя, пошук нових, більш ефективних методів лікування стає надзвичайно важливим завданням для медичної спільноти. Розвиток нових технологій, вдосконалення хірургічних методів та використання новітніх матеріалів сприяють покращенню результатів лікування та швидшому і повнішому відновленню функцій уражених кінцівок. Крім того, розвиток інноваційних методів реабілітації після переломів допомагає пацієнтам швидше повернутися до активного способу життя.

Актуальність дослідження лікування переломів полягає в пошуку оптимальних та ефективних стратегій, спрямованих на зменшення болю, прискорення зрощення кісткових фрагментів, запобігання ускладнень та максимальне відновлення функцій уражених ділянок. Інноваційні підходи, що базуються на останніх досягненнях у медичній науці, можуть значно поліпшити результати лікування та підвищити якість життя пацієнтів з переломами.

Найбільш перспективним засобом до вирішення такої актуальної проблеми є застосування клітинної терапії, а саме мезенхімальних стовбурових клітин, які можна використовувати для різноманітних лікувальних цілей, що пов'язано з їх здатністю диференціюватися в різні типи клітин – від міоцитів до остеоцитів [66, 92]. Останнє робить їх перспективним для розгляду засобом стосовно лікування переломів кісток.

Для перевірки теорії щодо позитивного впливу мезенхімальних стовбурових клітин нами було використано тваринну модель експерименту з постановкою штучного перелому, з подальшим застосуванням в експериментальній групі мезенхімальних стовбурових клітин. Відбір зразків відбувався в різні інтервали з метою оцінки процесів остеогенезу.

Джерелом мезенхімальних стовбурових клітин для експерименту обрано Вартонові драглі – желеподібну тканину всередині пупкового

канатика, яка містить міофібробластоподібні стромальні клітини. Клітини цього походження мають більш виразні та функціональні порівняно з іншими джерелами (такими, як кістковий мозок або жирова тканина) проліферативні, імуносупресивні та терапевтичні функції. Важливим є той фактор, що вони легко трансплантуються, мають можливість експансії в культурі, здатність до диференціації, ухилення від імунної атаки та регуляції імунної відповіді. Усе це надає їм значні переваги порівняно з іншими джерелами стовбурових клітин [10, 33, 97]. Вибір джерела походження мезенхімальних стовбурових клітин є критично важливим, адже доведено, що вони чинять різний ефект при застосуванні. Так, при порівнянні результатів використання мезенхімальних стовбурових клітин за походженням з жирової тканини та кісткового мозку для лікування перелому щелепи на тваринній моделі виявлено, що відновлення цілісності кістки спостерігалось на 40-ву добу в 92 та 75% відповідно. При застосуванні клітин походженням з жирової тканини виявлено достовірні більші значення кількості судин ($P = 0,001$), товщини судин ($P = 0,035$) і об'ємної частки судин ($P = 0,007$) [120].

Час введення стовбурових клітин відіграє важливу роль у визначенні ефективності остеогенезу. Експериментальне дослідження на мишах, яким після перелому вводили мезенхімальні стовбурові клітини на 1-шу, 7-му та 14-ту добу після моделювання перелому, показало утворення трабекулярних кісткових гілок поблизу місця перелому в усіх досліджуваних групах, але в групі, якій вводили клітини на 7-му добу, виявлено більше кісткових трабекул і зрілого хряща. У цілому ж через 42 доби в усіх групах відмічено зникнення лінії перелому, але більша кількість хрящової та фіброзної тканини була в контрольній групі, яка не отримувала клітинну терапію [195].

Також важливим є проведення оцінки комбінованого впливу мезенхімальних стовбурових клітин з іншими методами лікування переломів. Комбіноване введення стовбурових клітин, губчастого кісткового трансплантата і гідрогелю хітозану дозволяє отримати вже через 2 тижні позитивну динаміку в загоєнні незрощеного перелому кістки, що

підтверджено рентгенологічними і гістологічними дослідженнями [134].

Модифіковані стовбурові клітини можуть покращити результати остеогенезу. Мезенхімальні стовбурові клітини з надмірною експресією *miR-21* (мікроРНК) дозволили через 7 днів виявити часткове досягнення ендохондральної осифікації, тоді як в контрольній групі було визначено велику кількість некальцифікованих хондроцитів, які залишилися в місці перелому, що свідчить про уповільнене загоєння [182].

При введенні нами мезенхімальних стовбурових клітин, походження яких – Вартонові драгли пупкового канатика, у місце перелому великогомілкової кістки щурів виявлено значно активніший процес репаративного остеогенезу протягом всього періоду спостереження порівняно з контрольною групою. Репаративна регенерація кістки описується послідовністю міграції, проліферації та диференціювання клітин, утворенням первинних та вторинних гістіонних структур, завершуючись формуванням повноцінної кісткової тканини.

Процес загоєння перелому відбувається відповідно до загальновідомого патофізіологічного механізму. У процесі зцілення перелому відбувається складна координація між різними типами клітин, включаючи запальні, стовбурові, остеобласти, хондроцити, остеокласти та ендотеліальні клітини разом з оточуючими перицитами, цитокінами і факторами росту. Початкова подія у процесі зцілення перелому – це запальна фаза та подальше утворення гематоми, де механізми клітинного сигналізування працюють через запалення та хемотаксис, щоб привернути клітини, необхідні для ініціації процесу загоєння. Багато джерел скелетних прогеніторних клітин були запропоновані для участі у ремонті кістки, включаючи місцевий кістковий мозок, окістя, м'язи та жирові тканини, що оточують пошкоджену кістку, стінки кровоносних судин, а також клітини, що потрапляють на місце ушкодження через кровоносні судини. Проте ці системно рекрутовані клітини мінімально сприяють утворенню хряща та кістки, але переважно викликають запальний процес та формування остеокластів. Окістя вкриває більшу частину

зовнішньої поверхні кістки і складається з двох відмінних шарів. Зовнішній більш “волокнистий” шар окістя складається з фібробластів, колагену та еластинових волокон. Внутрішній шар містить дорослі мезенхімні прогеніторні клітини, диференційовані остеогенні прогеніторні клітини й остеобласти, фібробласти, симпатичні нерви та ендотеліальні перицити. Окістя містить клітини остеохондрогенітори, які беруть участь у формуванні кістки і хряща під час нормального розвитку та зцілення перелому [194].

Починаючи із запальних клітин і закінчуючи остеокластами, весь процес проходить низку клітинних етапів, кожен з яких має свої особливості. Важливо враховувати, що хоча процес може бути розглянутий як послідовний у часі, значна частина клітинних типів співіснує та взаємодіє у процесі загоєння. Наприклад, хондроцити та остеобласти можуть сприяти проростанню кровоносних судин за допомогою продукції фактора росту ендотелію судин, тоді як ендотеліальні клітини стимулюють формування кісткової тканини за допомогою продукції білка, що індукує кістковий ріст. Водночас судини керують формуванням хрящового шаблону та стимулюють перетворення гіпертрофованих хондроцитів у остеобласти [16].

Варто зауважити, що мезенхімальні стовбурові клітини власне тіла людини в нормі беруть участь в процесі загоєння перелому – вони безпосередньо утворюють остеобласти та хондроцити. Одночасно мезенхімальні стовбурові клітини чинять також непрямий вплив на процес остеогенезу за рахунок вироблення цитокінів, факторів росту, регулюючи васкуляризацію та модулюючи запалення [100].

На 7-й день експерименту гістологічне дослідження тканин місця перелому великогомілкової кістки щурів основної групи показало присутність, крім еритроцитів, одноядерних клітин, схожих на моноцити крові (мононуклеари), макрофагальних клітин та мезенхімальних фібробластоподібних клітин, мало- та недиференційованих клітин у значно більшій кількості, ніж у контрольній групі.

Початкові зміни відповідають фазі запалення, що відбувається відразу після пошкодження кістки та навколишніх м'яких тканин і триває до початку формування хряща або кістки. Ця фаза може тривати 3-4 дні і більше залежно від ступеня травми, що спричинила перелом. Травматичне переривання кровопостачання призводить до ішемічного некрозу кістки, що характеризується гістологічно присутністю порожніх лакун, у ділянці перелому надходять фагоцити, що допомагають формувати мозоль. Низька концентрація кисню, погана васкуляризація, фактори росту стимулюють вироблення хрящового мозоля [25].

На 14-й день експерименту після лікування перелому між кістковими фрагментами також були виявлені ознаки формування ендостального та періостального кісткового регенерату. На 21-й день у щурів досліджуваної групи спостерігалися ознаки зрощування перелому через формування ендостального, періостального та інтермедіарного кісткових мозолів, кісткова тканина була більш зрілою. В основній групі на 28-й день були виявлені значно більш інтенсивні ознаки перебудови кісткового регенерату, ніж у контрольній групі.

На підставі гістологічних досліджень показано, що фізіологічна та патологічна перебудова кісткової тканини великогомілкових кісток при їх переломі без лікування та за лікування з використанням мезенхімальних стовбурових клітин, походження яких – Вартонові драгли, значно відрізняється в контрольній та дослідній групах. Отримані дані гістологічного дослідження свідчать, що при відсутності лікування тривають запальні зміни, що значно уповільнюють процеси регенерації кісткової тканини.

Отже, формування кісткового регенерату великогомілкової кістки при загоєнні перелому супроводжується послідовною зміною тканинноспецифічних структур з утворенням повноцінної кісткової тканини на місці перелому протягом 28 днів спостереження. Отримані результати підтверджуються даними імунологічного та рентгенологічного досліджень Zhou J. та його колег [214] в експериментальній моделі на щурах. Також ними

відмічено значне покращення результатів за умови комбінування мезенхімальних стовбурових клітин з екзосомами.

Zhang L. та співавтори показали, що застосування екзосом мезенхімальних стовбурових клітин є ще одним потенційно актуальним напрямком для дослідження. Експериментальні дослідження на тваринній моделі щурів з переломами стегнової кістки показують переплетення кістки в місці перелому серед тварин, яким вводили мезенхімальні стовбурові клітини. Водночас в контрольній групі тварин були значні розростання фіброзної тканини та синостоз у місці перелому стегнової кістки [210].

Виявлені нами особливості морфометричних параметрів у зоні перелому у щурів контрольної та експериментальної груп свідчать про значну перевагу репаративного остеогенезу в експериментальній групі, де використовували мезенхімальні стовбурові клітини з Вартонових драглів. Особливо на 14-й день спостереження площа кісткових трабекул виявилася суттєво більшою в експериментальній групі, що може бути результатом взаємодії мезенхімальних стовбурових клітин та їхніх виділених факторів, а також адаптаційних процесів у зоні перелому.

У всі періоди спостереження, за винятком 14-го дня, значення морфометричних показників репаративного остеогенезу були істотно вищими в експериментальній групі ($p < 0,01-0,02$). На 14-й день спостереження значення одного з параметрів було вищим у щурів контрольної групи. Отримані результати вказують на прогресування репаративних процесів у зоні перелому в обох групах протягом усього періоду спостереження, причому ці процеси були виразнішими в експериментальній групі. Варто зазначити, що менші значення площі кісткових трабекул в контрольній групі на 14-й день можуть свідчити про наявність раніше невідомих адаптаційних процесів, які можливо стримують активність мезенхімальних стовбурових клітин та їхніх факторів у цей період репаративного остеогенезу.

Ймовірним поясненням такого феномену може бути факт того, що введення мезенхімальних стовбурових клітин може спричинити зміни у

темпах або механізмах розвитку кісткових трабекул. Мезенхімальні стовбурові клітини можуть впливати на сигнальні шляхи або вироблення факторів росту, що можуть змінити процеси ремоделювання кістки. Це може призвести до швидшого формування менших або менш кількісно виражених трабекул в групі, де застосовували мезенхімальні стовбурові клітини, порівняно з контрольною групою. Цілком можливо, що самі мезенхімальні стовбурові клітини, введені в рану, взаємодіють з оточуючими клітинами та матрицею, що може вплинути на розвиток кісткових трабекул. Ця взаємодія може призвести до змін у темпах або масштабах ремоделювання кістки, що відображається на розмірах кісткових трабекул.

Під час аналізу інших морфометричних параметрів кістки в ділянці ураження ми виявили деякі підтвердження того, що застосування мезенхімальних стовбурових клітин Вартонових драглів дозволяє значно збільшити активність репаративного остеогенезу на всіх його етапах. У всіх досліджених випадках значення товщини кісткових трабекул, кількості контактів трабекул з кортексом, середньої кількості остеоцитів на кісткових трабекулах, кількості порожніх остеоцитарних лакун, кількості функціонально активних остеобластів були істотно більшими в експериментальній групі. Лише кількість функціонально активних фібробластів була вищою в контрольній групі на 21-й день. Ці дані підтверджують позитивний вплив мезенхімальних стовбурових клітин на процес лікування переломів у відведеній області протягом усього періоду спостереження. Крім того, вперше було виявлено зменшення кількості функціонально активних фібробластів при використанні клітинної терапії на 21-й день експерименту.

Даний феномен зменшення функціонально активних фібробластів можна пояснити як потребою більшої кількості часу для мобілізації та активації фібробластів з боку мезенхімальних стовбурових клітин у порівнянні з природними процесами загоєння, так і непередбачуваним впливом на регулювання імунної системи та вироблення запальних медіаторів

мезенхімальними стовбуровими клітинами.

Роботи, що стосуються морфометричного аналізу показників клітинних структур в процесі остеогенезу під впливом мезенхімальних стовбурових клітин, є поодинокими в науковій літературі. У публікації Cheung W. H. та інших [43] під час такого дослідження на щурах на 7-му добу відмічали в обох групах (експериментальна і контрольна) значну кількість хондроїдних тканин у мозолі, на 14-ту добу ініціацію активної ендохондральної осифікації, але тільки в експериментальній групі (контрольна «відставала» на тиждень). На 21-шу добу в експериментальних групах вже зникла хондроїдна тканина. Показник співвідношення площі хряща до площі мозоля не відрізнявся в обох групах в перші 2 тижні, але вже на 3-му тижні відмічено значне зниження ($p=0,029$) порівняно з контролем, яке також виявлено на 4-й тиждень ($p=0,029$). Наведені дані щодо «відставання» мікроскопічної картини в контрольній групі на тиждень повністю відповідають даним, отриманим нами в процесі дисертаційного дослідження.

В іншому дослідженні морфометрію виконано в експериментальній (введення мезенхімальних стовбурових клітин) і контрольній групах щурів з остеопорозом, що виникав на тлі оваріоектомії. В експериментальній групі порівняно з контрольною виявлено достовірно ($p<0,05$) більшу кількість остеокластів та площі трабекулярної зони кістки [65], що також узгоджується з нашими результатами.

Но С. У. та інші [79] під час дослідження впливу мезенхімальних стовбурових клітини з підвищеною експресією фактору 1, отриманого зі стромальних клітин, на загоєння перелому виявили, що як через 3 тижні, так і через 6 тижнів спостерігаються достовірно більші значення ($p=0,02$ та $p\leq 0,05$ відповідно) площі новоутвореної кістки порівняно з групою контролю.

Морфометричне дослідження на експериментальній моделі щурів з незрощеними переломами кінцівок показали, що введення мезенхімальних стовбурових клітин, джерелом яких є жирова тканина, дозволяє формувати значно більшу кількість зрілої кісткової тканини в місці перелому порівняно з

контролем ($p < 0,05$), проте при аналізі площі хрящової тканини, фіброзної тканини або недиференційованої тканини між досліджуваними групами різниці не було виявлено ($p > 0,05$) [186].

Після проведеного дослідження були отримані результати щодо ефективності застосування мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні кісткових переломів в клініці. Початковий аналіз рентгенологічних даних вказав на те, що пацієнти, які отримували мезенхімальні стовбурові клітини, мали кращі показники відновлення кісткової тканини порівняно зі звичайними методами лікування, що застосовувалися в контрольній групі. На третій місяць лікування більшість пацієнтів у клінічній групі відзначалися наявністю ангиогенної кісткової структури та відсутністю розчинення кісткових фрагментів, що свідчить про успішну регенерацію тканини. У контрольній групі було виявлено більше випадків неповного зрощення переломів, що підтверджує менш ефективні результати традиційного лікування.

Castillo-Cardiel G. зі співавторами [37] провели дослідження за участі 20 пацієнтів, яким виконували або класичне лікування перелому нижньої щелепи, або з використанням мезенхімальних стовбурових клітин. Зміни оцінювали на 4-му та 12-му тижні за допомогою панорамного рентгенівського зображення та комп'ютерної томографії. Порівняно з контрольною групою, у дослідній групі спостерігалось значне покращення якості кісток на обох термінах спостереження. Якщо після 4 тижнів значення остеогенезу були схожі в обох групах, то після 12 тижнів група, якій було застосовано мезенхімальні стовбурові клітини, мала вищий рівень остеогенезу на 36,48%.

Quarto R. та іншими [152] наведено клінічний випадок з лікування 3 пацієнтів з крупними дефектами трубчастих кісток (стегнова, великогомілкова та ліктьова кістки) у хворих різного віку (41, 16 та 22 роки) із застосуванням клітинної терапії. Введення мезенхімальних стовбурових клітин, джерелом яких був кістковий мозок, дозволило досягти повного відновлення як за рентгенологічними, так і за клінічними показниками за 27, 16 та 15 місяців для пацієнта 1, 2 та 3 відповідно.

Отже, порівняння отриманих нами результатів (як клінічної, так і експериментальної частини) з даними нещодавніх дотичних за тематикою наукових досліджень, показало повне узгодження стосовно позитивного впливу клітинної терапії на лікування перелому. Водночас нами не виявлено робіт, де б виконувалось достатнє морфометричне дослідження ефективності застосування мезенхімальних стовбурових клітин, джерелом яких є Вартонові драгли.

Підводячи підсумок слід підкреслити, що проведені дослідження дають змогу стверджувати про значну перевагу застосування мезенхімальних стовбурових клітин, джерелом яких є Вартонові драгли, у покращенні процесів репаративного остеогенезу, що підтверджено результатами як морфологічного, так і морфометричного методів на тваринній моделі експерименту та на клінічних дослідженнях на пацієнтах з вогнепальними пораненнями кісток, про що свідчать дані обробки рентгенограм та клінічної картини пацієнтів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано вирішення науково-практичного завдання, яке полягає у дослідженні гістологічних особливостей репаративного остеогенезу в ділянці перелому великогомілкової кістки щурів під впливом введення мезенхімальних стовбурових клітин, визначенні особливостей динаміки репаративного остеогенезу при локальному введенні мезенхімальних стовбурових клітин в ділянку перелому кісткової тканини в експериментальних тварин та визначенні ефективності застосування мезенхімальних стовбурових клітин при лікуванні порушень репаративного остеогенезу в осіб з вогнепальними переломами кісток.

1. Проведений аналіз літературних джерел виявив, що проблема лікування переломів кісток досі лишається актуальним питанням для практичної медицини – значна поширеність переломів серед різних вікових груп та високий ризик інвалідизації й розвитку тривалого розладу здоров'я. Наведені дані стосовно клітинної терапії показують, що експансивний розвиток, якого зазнала дана галузь медицини, надає перспективи для лікування різного роду патологій, включно і переломів кісток, що підтверджується даними попередніх клінічних досліджень.

2. Результати гістологічних досліджень показали, що на мікроскопічному рівні як в контрольній, так і в експериментальній групах відбувається фізіологічна та патологічна перебудова кісткової тканини, що значною мірою відрізнялася між цими групами. Отримані дані свідчать про те, що в контрольній групі відбувається значне сповільнення регенеративних процесів за рахунок сповільнення регресії гематоми та довготривале збереження круглоклітинної інфільтрації і, як наслідок, сповільнення утворення кісткового мозоля.

3. Виявлені особливості морфометричних параметрів, які свідчать про процеси репаративного остеогенезу в ділянці перелому в щурів контрольної та експериментальної груп, вказують на значну перевагу застосування клітинної

терапії. Ін'єкція із застосуванням мезенхімальних стовбурових клітин, джерелом яких були Вартонові драгли, дозволила значною мірою активізувати процеси відновлення кісткової тканини, що спостерігалось на всіх етапах експерименту.

4. Встановлено ефективність застосування мезенхімальних стовбурових клітин у практично всіх випадках, незалежно від терміну дослідження чи досліджуваного параметра. Достовірно більші значення товщини кісткових трабекул, кількості контактів трабекул з кортексом, середньої кількості остецитів на кісткових трабекулах, кількості порожніх остецитарних лакун, кількості функціонально активних остеобластів були в експериментальній групі.

5. Використання мезенхімальних стовбурових клітин у лікуванні переломів кісток в клініці засвідчило їх позитивний вплив на репаративний остеогенез, що проявилось зменшенням кількості незрощених переломів. Аналіз клініко-рентгенологічних показників виявив, що пацієнти, яким застосовували мезенхімальні стовбурові клітини, мали кращі показники регенерації кісткової тканини порівняно з контрольною групою, де використовувалися традиційні методи лікування. Встановлено, що використання мезенхімальних стовбурових клітин є перспективним та ефективним підходом у лікуванні переломів кісток. Отримані результати свідчать про значне покращення регенерації кісткової тканини та зниження випадків незрощення перелому під впливом мезенхімальних стовбурових клітин.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Застосування мезенхімальних стовбурових клітин, отриманих із Вартонових драглів пупкового канатика, сприяє активізації процесів регенерації кісткової тканини в період всього остеогенезу, що призводить до прискороного формування кісткового регенерату.

2. З метою профілактики незрощення переломів у клінічній практиці рекомендовано введення мезенхімальних стовбурових клітин шляхом обколювання зони перелому (4-5 введень з поворотом шприца, але без його виймання з ділянки ураження, проходячи голкою м'які тканини до впирання голки в кістку). Загальна доза введених пацієнту мезенхімальних стовбурових клітин має складати 30×10^6 клітин.

3. Результати дисертаційного дослідження відкривають нові перспективи в медичній практиці та науковій роботі: відкрито нові можливості для розробки і впровадження інноваційних методів лікування переломів кісток, спрямованих на покращення якості життя пацієнтів, що водночас потребує додаткових досліджень в галузі репаративної медицини, які в подальшому зможуть допомогти розширити розуміння механізмів репарації кісткової тканини та вдосконалити методи лікування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антомонов, М. Ю. (2018). *Математическая обработка и анализ медико-биологических данных*. К.: МИЦ «Мединформ».
2. Рябошапко, О. (2023). Mesenchymal stem cells: a promising means of activating reparative osteogenesis. *Перспективи та інновації науки*, 12(30), 860-869.
3. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху морфологічних показників при введенні мезенхімальних стовбурових клітин на фоні ушкодження кістки: дані експериментального дослідження на 14 добу. In *The 11th International scientific and practical conference "Scientific research in the modern world" (August 24-26, 2023) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2023. 395 p. (p. 68)*.
4. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху мікроскопічних показників ураженої кісткової тканини за умови введення мезенхімальних стовбурових клітин: дані на 21 добу експерименту. In *The 9th International scientific and practical conference "Innovations and prospects in modern science" (August 28-30, 2023) SSPG Publish, Stockholm, Sweden. 2023. 265 p. (p. 39)*.
5. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху морфометричних показників в ураженій кістковій тканині на 7 добу експерименту при введенні мезенхімальних стовбурових клітин. In *The 12th International scientific and practical conference "Scientific progress: innovations, achievements and prospects" (August 21-23, 2023) MDPC Publishing, Munich, Germany. 2023. 254 p. (p. 29)*.
6. Рябошапко, О. М. (2023, September). Межі процентильного розмаху морфологічних показників на 28 добу експерименту при введенні в зону перелому мезенхімальних стовбурових клітин. In *The 12th International scientific and practical conference "Science and technology: problems, prospects and innovations" (September 1-3, 2023) CPN Publishing Group, Osaka, Japan*.

2023. 238 p. (p. 29).

7. Abou-Khalil, R., Yang, F., Lieu, S., Julien, A., Perry, J., Pereira, C., ... & Colnot, C. (2015). Role of muscle stem cells during skeletal regeneration. *Stem cells*, 33(5), 1501-1511.
8. Adeyemi, A., & Delhougne, G. (2019). Incidence and economic burden of intertrochanteric fracture: a Medicare claims database analysis. *JBJS Open Access*, 4(1), e0045.
9. Almigdad, A., Mustafa, A., Alazaydeh, S., Alshawish, M. M., Bani Mustafa, M., & Alfukaha, H. (2022). Bone fracture patterns and distributions according to trauma energy. *Advances in Orthopedics*, 2022, 8695916.
10. Ansari, A. S., Yazid, M. D., Sainik, N. Q. A. V., Razali, R. A., Saim, A. B., & Idrus, R. B. H. (2018). Osteogenic induction of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cell for bone regeneration: a systematic review. *Stem cells international*, 2018, 2406462.
11. Appaix, F., Nissou, M. F., van der Sanden, B., Dreyfus, M., Berger, F., Issartel, J. P., & Wion, D. (2014). Brain mesenchymal stem cells: the other stem cells of the brain?. *World journal of stem cells*, 6(2), 134-143.
12. Arno, A. I., Amini-Nik, S., Blit, P. H., Al-Shehab, M., Belo, C., Herer, E., & Jeschke, M. G. (2014). Effect of human Wharton's jelly mesenchymal stem cell paracrine signaling on keloid fibroblasts. *Stem cells translational medicine*, 3(3), 299-307.
13. Arthur, A., & Gronthos, S. (2020). Clinical application of bone marrow mesenchymal stem/stromal cells to repair skeletal tissue. *International journal of molecular sciences*, 21(24), 9759.
14. Asatrian, G., Pham, D., Hardy, W. R., James, A. W., & Peault, B. (2015). Stem cell technology for bone regeneration: current status and potential applications. *Stem cells and cloning: advances and applications*, 8, 39-48.
15. Assinck, P., Duncan, G. J., Hilton, B. J., Plemel, J. R., & Tetzlaff, W. (2017). Cell transplantation therapy for spinal cord injury. *Nature neuroscience*, 20(5), 637-647.

16. Bahney, C. S., Zondervan, R. L., Allison, P., Theologis, A., Ashley, J. W., Ahn, J., ... & Hankenson, K. D. (2019). Cellular biology of fracture healing. *Journal of Orthopaedic Research®*, 37(1), 35-50.
17. Baht, G. S., Vi, L., & Alman, B. A. (2018). The role of the immune cells in fracture healing. *Current osteoporosis reports*, 16, 138-145.
18. Ballane, G., Cauley, J. A., Luckey, M. M., & El-Hajj Fuleihan, G. (2017). Worldwide prevalence and incidence of osteoporotic vertebral fractures. *Osteoporosis International*, 28, 1531-1542.
19. Bang, U. C., Benfield, T., Bendtsen, F., Hyldstrup, L., & Jensen, J. E. B. (2014). The risk of fractures among patients with cirrhosis or chronic pancreatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12(2), 320-326.
20. Bashir, J., Sherman, A., Lee, H., Kaplan, L., & Hare, J. M. (2014). Mesenchymal stem cell therapies in the treatment of musculoskeletal diseases. *PM&R*, 6(1), 61-69.
21. Benavides-Castellanos, M. P., Garzón-Orjuela, N., & Linero, I. (2020). Effectiveness of mesenchymal stem cell-conditioned medium in bone regeneration in animal and human models: a systematic review and meta-analysis. *Cell Regeneration*, 9, 5.
22. Bharti, D., Shivakumar, S. B., Park, J. K., Ullah, I., Subbarao, R. B., Park, J. S., ... & Rho, G. J. (2018). Comparative analysis of human Wharton's jelly mesenchymal stem cells derived from different parts of the same umbilical cord. *Cell and tissue research*, 372, 51-65.
23. Bhavsar, M. B., Han, Z., DeCoster, T., Leppik, L., Costa Oliveira, K. M., & Barker, J. H. (2020). Electrical stimulation-based bone fracture treatment, if it works so well why do not more surgeons use it?. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 46, 245-264.
24. Bible, J. E., Kadakia, R. J., Wegner, A., Richards, J. E., & Mir, H. R. (2013). One-year mortality after isolated pelvic fractures with posterior ring involvement in elderly patients. *Orthopedics*, 36(6), 760-764.
25. Bigham-Sadegh, A., & Oryan, A. (2015). Basic concepts regarding

fracture healing and the current options and future directions in managing bone fractures. *International wound journal*, 12(3), 238-247.

26. Black, J. D., & Tadros, B. J. (2020). Bone structure: from cortical to calcium. *Orthopaedics and Trauma*, 34(3), 113-119.

27. Bonafede, M., Espindle, D., & Bower, A. G. (2013). The direct and indirect costs of long bone fractures in a working age US population. *Journal of medical economics*, 16(1), 169-178.

28. Borgström, F., Karlsson, L., Ortsäter, G., Norton, N., Halbout, P., Cooper, C., ... & International Osteoporosis Foundation Cyrus Cooper Jean-Yves Reginster Serge Ferrari Philippe Halbout. (2020). Fragility fractures in Europe: burden, management and opportunities. *Archives of osteoporosis*, 15, 1-21.

29. Bragdon, B. C., & Bahney, C. S. (2018). Origin of reparative stem cells in fracture healing. *Current osteoporosis reports*, 16, 490-503.

30. Bronckaers, A., Hilkens, P., Martens, W., Gervois, P., Ratajczak, J., Struys, T., & Lambrichts, I. (2014). Mesenchymal stem/stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis. *Pharmacology & therapeutics*, 143(2), 181-196.

31. Bunnell, B. A. (2021). Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Cells*, 10(12), 3433.

32. Bunpetch, V., Zhang, Z. Y., Zhang, X., Han, S., Zongyou, P., Wu, H., & Hong-Wei, O. (2019). Strategies for MSC expansion and MSC-based microtissue for bone regeneration. *Biomaterials*, 196, 67-79.

33. Cabrera-Pérez, R., Monguió-Tortajada, M., Gámez-Valero, A., Rojas-Márquez, R., Borràs, F. E., Roura, S., & Vives, J. (2019). Osteogenic commitment of Wharton's jelly mesenchymal stromal cells: mechanisms and implications for bioprocess development and clinical application. *Stem cell research & therapy*, 10, 1-11.

34. Caplan, A. I. (2017). Mesenchymal stem cells: time to change the name!. *Stem cells translational medicine*, 6(6), 1445-1451.

35. Capone, A., Congia, S., Civinini, R., & Marongiu, G. (2017).

Periprosthetic fractures: epidemiology and current treatment. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 14(2), 189-196.

36. Carpintero, P., Caeiro, J. R., Carpintero, R., Morales, A., Silva, S., & Mesa, M. (2014). Complications of hip fractures: A review. *World journal of orthopedics*, 5(4), 402-411.

37. Castillo-Cardiel, G., López-Echaury, A. C., Saucedo-Ortiz, J. A., Fuentes-Orozco, C., Michel-Espinoza, L. R., Irusteta-Jiménez, L., ... & González-Ojeda, A. (2017). Bone regeneration in mandibular fractures after the application of autologous mesenchymal stem cells, a randomized clinical trial. *Dental Traumatology*, 33(1), 38-44.

38. Cauley, J. A. (2021). The global burden of fractures. *The Lancet Healthy Longevity*, 2(9), e535-e536.

39. Cesarz, Z., & Tamama, K. (2016). Spheroid culture of mesenchymal stem cells. *Stem cells international*, 2016, 9176357.

40. Chatterton, B. D., Moores, T. S., Ahmad, S., Cattell, A., & Roberts, P. J. (2015). Cause of death and factors associated with early in-hospital mortality after hip fracture. *The bone & joint journal*, 97(2), 246-251.

41. Chen, J. Y., Mou, X. Z., Du, X. C., & Xiang, C. (2015). Comparative analysis of biological characteristics of adult mesenchymal stem cells with different tissue origins. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 8(9), 739-746.

42. Chen, Y. T., Tenforde, A. S., & Fredericson, M. (2013). Update on stress fractures in female athletes: epidemiology, treatment, and prevention. *Current reviews in musculoskeletal medicine*, 6, 173-181.

43. Cheung, W. H., Chin, W. C., Wei, F. Y., Li, G., & Leung, K. S. (2013). Applications of exogenous mesenchymal stem cells and low intensity pulsed ultrasound enhance fracture healing in rat model. *Ultrasound in medicine & biology*, 39(1), 117-125.

44. Clark, D., Nakamura, M., Miclau, T., & Marcucio, R. (2017). Effects of aging on fracture healing. *Current osteoporosis reports*, 15, 601-608.

45. Cohen, J. A. (2013). Mesenchymal stem cell transplantation in multiple

sclerosis. *Journal of the neurological sciences*, 333(1-2), 43-49.

46. Cosman, F., Krege, J. H., Looker, A. C., Schousboe, J. T., Fan, B., Sarafrazi Isfahani, N., ... & Genant, H. K. (2017). Spine fracture prevalence in a nationally representative sample of US women and men aged ≥ 40 years: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2013-2014. *Osteoporosis international*, 28, 1857-1866.

47. Curtis, E. M., van der Velde, R., Moon, R. J., van den Bergh, J. P., Geusens, P., de Vries, F., ... & Harvey, N. C. (2016). Epidemiology of fractures in the United Kingdom 1988–2012: variation with age, sex, geography, ethnicity and socioeconomic status. *Bone*, 87, 19-26.

48. Dallas, S. L., Prideaux, M., & Bonewald, L. F. (2013). The osteocyte: an endocrine cell... and more. *Endocrine reviews*, 34(5), 658-690.

49. Davies, J. E., Walker, J. T., & Keating, A. (2017). Concise review: Wharton's jelly: the rich, but enigmatic, source of mesenchymal stromal cells. *Stem cells translational medicine*, 6(7), 1620-1630.

50. Dempster, D. W., & Raisz, L. G. (2015). Bone physiology: Bone cells, modeling, and remodeling. *Nutrition and bone health*, 37-56.

51. Ding, D. C., Chang, Y. H., Shyu, W. C., & Lin, S. Z. (2015). Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy. *Cell transplantation*, 24(3), 339-347.

52. Dong, P., Gu, X., Zhu, G., Li, M., Ma, B., & Zi, Y. (2018). Melatonin induces osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells and promotes fracture healing in a rat model of femoral fracture via neuropeptide Y/neuropeptide Y receptor Y1 signaling. *Pharmacology*, 102(5-6), 272-280.

53. Dreger, T., Watson, J. T., Akers, W., Molligan, J., Achilefu, S., Schon, L. C., & Zhang, Z. (2014). Intravenous application of CD271-selected mesenchymal stem cells during fracture healing. *Journal of orthopaedic trauma*, 28, S15-S19.

54. Duchamp de Lageneste, O., Julien, A., Abou-Khalil, R., Frangi, G., Carvalho, C., Cagnard, N., ... & Colnot, C. (2018). Periosteum contains skeletal stem cells with high bone regenerative potential controlled by Periostin. *Nature*

communications, 9(1), 773.

55. Eirin, A., & Lerman, L. O. (2014). Mesenchymal stem cell treatment for chronic renal failure. *Stem cell research & therapy*, 5, 83.

56. Ekegren, C. L., Edwards, E. R., De Steiger, R., & Gabbe, B. J. (2018). Incidence, costs and predictors of non-union, delayed union and mal-union following long bone fracture. *International journal of environmental research and public health*, 15(12), 2845.

57. El Omar, R., Beroud, J., Stoltz, J. F., Menu, P., Velot, E., & Decot, V. (2014). Umbilical cord mesenchymal stem cells: the new gold standard for mesenchymal stem cell-based therapies?. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 20(5), 523-544.

58. Ensrud, K. E. (2013). Epidemiology of fracture risk with advancing age. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 68(10), 1236-1242.

59. Fakhry, M., Hamade, E., Badran, B., Buchet, R., & Magne, D. (2013). Molecular mechanisms of mesenchymal stem cell differentiation towards osteoblasts. *World journal of stem cells*, 5(4), 136-148.

60. Falhammar, H., Frisén, L., Hirschberg, A. L., Nordenskjöld, A., Almqvist, C., & Nordenström, A. (2022). Increased prevalence of fractures in congenital adrenal hyperplasia: a Swedish population-based national cohort study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 107(2), e475-e486.

61. Fishchenko V. O., & Riaboshapko O. M. (2023). Morphological features of reparative osteogenesis under the influence of mesenchymal stem cells. *Morphology*, 1(168), 331-342.

62. Florencio-Silva, R., Sasso, G. R. D. S., Sasso-Cerri, E., Simões, M. J., & Cerri, P. S. (2015). Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed research international*, 2015, 421746.

63. Foulke, B. A., Kendal, A. R., Murray, D. W., & Pandit, H. (2016). Fracture healing in the elderly: A review. *Maturitas*, 92, 49-55.

64. Freitag, J., Bates, D., Boyd, R., Shah, K., Barnard, A., Huguenin, L., &

Tenen, A. (2016). Mesenchymal stem cell therapy in the treatment of osteoarthritis: reparative pathways, safety and efficacy—a review. *BMC musculoskeletal disorders*, *17*, 230.

65. Fu, Y. S., Lu, C. H., Chu, K. A., Yeh, C. C., Chiang, T. L., Ko, T. L., ... & Chen, C. F. (2018). Xenograft of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly differentiating into osteocytes and reducing osteoclast activity reverses osteoporosis in ovariectomized rats. *Cell transplantation*, *27*(1), 194-208.

66. Furuta, T., Miyaki, S., Ishitobi, H., Ogura, T., Kato, Y., Kamei, N., ... & Ochi, M. (2016). Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote fracture healing in a mouse model. *Stem cells translational medicine*, *5*(12), 1620-1630.

67. Garg, P., Mazur, M. M., Buck, A. C., Wandtke, M. E., Liu, J., & Ebraheim, N. A. (2017). Prospective review of mesenchymal stem cells differentiation into osteoblasts. *Orthopaedic surgery*, *9*(1), 13-19.

68. Gasser, J. A., & Kneissel, M. (2017). Bone physiology and biology. *Bone toxicology*, 27-94.

69. Ghiasi, M. S., Chen, J., Vaziri, A., Rodriguez, E. K., & Nazarian, A. (2017). Bone fracture healing in mechanobiological modeling: A review of principles and methods. *Bone reports*, *6*, 87-100.

70. Gibon, E., Lu, L., & Goodman, S. B. (2016). Aging, inflammation, stem cells, and bone healing. *Stem cell research & therapy*, *7*(1), 44.

71. Glavaski-Joksimovic, A., & Bohn, M. C. (2013). Mesenchymal stem cells and neuroregeneration in Parkinson's disease. *Experimental neurology*, *247*, 25-38.

72. Gómez-Barrena, E., Rosset, P., Lozano, D., Stanovici, J., Ermthaller, C., & Gerbhard, F. (2015). Bone fracture healing: cell therapy in delayed unions and nonunions. *Bone*, *70*, 93-101.

73. Goradel, N. H., Hour, F. G., Negahdari, B., Malekshahi, Z. V., Hashemzahi, M., Masoudifar, A., & Mirzaei, H. (2018). Stem cell therapy: a new therapeutic option for cardiovascular diseases. *Journal of cellular biochemistry*, *119*(1), 95-104.

74. Grayson, W. L., Bunnell, B. A., Martin, E., Frazier, T., Hung, B. P., & Gimble, J. M. (2015). Stromal cells and stem cells in clinical bone regeneration. *Nature Reviews Endocrinology*, *11*(3), 140-150.
75. Grottkau, B. E., & Lin, Y. (2013). Osteogenesis of adipose-derived stem cells. *Bone research*, *1*(1), 133-145.
76. Hadjiargyrou, M., & O'Keefe, R. J. (2014). The convergence of fracture repair and stem cells: interplay of genes, aging, environmental factors and disease. *Journal of bone and mineral research*, *29*(11), 2307-2322.
77. Hao, Z. C., Lu, J., Wang, S. Z., Wu, H., Zhang, Y. T., & Xu, S. G. (2017). Stem cell-derived exosomes: a promising strategy for fracture healing. *Cell Proliferation*, *50*(5), e12359.
78. Hedström, E. M., Svensson, O., Bergström, U., & Michno, P. (2010). Epidemiology of fractures in children and adolescents: Increased incidence over the past decade: a population-based study from northern Sweden. *Acta orthopaedica*, *81*(1), 148-153.
79. Ho, C. Y., Sanghani, A., Hua, J., Coathup, M., Kalia, P., & Blunn, G. (2015). Mesenchymal stem cells with increased stromal cell-derived factor 1 expression enhanced fracture healing. *Tissue Engineering Part A*, *21*(3-4), 594-602.
80. Ho-Shui-Ling, A., Bolander, J., Rustom, L. E., Johnson, A. W., Luyten, F. P., & Picart, C. (2018). Bone regeneration strategies: Engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives. *Biomaterials*, *180*, 143-162.
81. Huang, S., Xu, L., Zhang, Y., Sun, Y., & Li, G. (2015). Systemic and local administration of allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells promotes fracture healing in rats. *Cell transplantation*, *24*(12), 2643-2655.
82. Iaquinta, M. R., Mazzoni, E., Bononi, I., Rotondo, J. C., Mazziotta, C., Montesi, M., ... & Martini, F. (2019). Adult stem cells for bone regeneration and repair. *Frontiers in cell and developmental biology*, *7*, 268.
83. Infante, A., & Rodríguez, C. I. (2018). Osteogenesis and aging: lessons from mesenchymal stem cells. *Stem cell research & therapy*, *9*(1), 244.

84. Irfan, D., Ahmad, I., Patra, I., Margiana, R., Rasulova, M. T., Sivaraman, R., ... & Ansari, M. J. (2023). Stem cell-derived exosomes in bone healing: Focusing on their role in angiogenesis. *Cytotherapy*, 25(4), 353-361.
85. Isakson, M., De Blacam, C., Whelan, D., McArdle, A., & Clover, A. J. P. (2015). Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: current evidence and future potential. *Stem cells international*, 2015, 831095.
86. Jin, H. J., Bae, Y. K., Kim, M., Kwon, S. J., Jeon, H. B., Choi, S. J., ... & Chang, J. W. (2013). Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *International journal of molecular sciences*, 14(9), 17986-18001.
87. Jin, Y. Z., & Lee, J. H. (2018). Mesenchymal stem cell therapy for bone regeneration. *Clinics in orthopedic surgery*, 10(3), 271-278.
88. Joeris, A., Lutz, N., Wicki, B., Slongo, T., & Audigé, L. (2014). An epidemiological evaluation of pediatric long bone fractures—a retrospective cohort study of 2716 patients from two Swiss tertiary pediatric hospitals. *BMC pediatrics*, 14(1), 314.
89. Jones, M. S., & Waterson, B. (2020). Principles of management of long bone fractures and fracture healing. *Surgery (Oxford)*, 38(2), 91-99.
90. K Batsali, A., Kastrinaki, M. C., A Papadaki, H., & Pontikoglou, C. (2013). Mesenchymal stem cells derived from Wharton's Jelly of the umbilical cord: biological properties and emerging clinical applications. *Current stem cell research & therapy*, 8(2), 144-155.
91. Kabat, M., Bobkov, I., Kumar, S., & Grumet, M. (2020). Trends in mesenchymal stem cell clinical trials 2004-2018: Is efficacy optimal in a narrow dose range?. *Stem cells translational medicine*, 9(1), 17-27.
92. Karimineko, S., Movassaghpour, A., Rahimzadeh, A., Talebi, M., Shamsasenjan, K., & Akbarzadeh, A. (2016). Implications of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(3), 749-757.
93. Karl, J. W., Olson, P. R., & Rosenwasser, M. P. (2015). The

epidemiology of upper extremity fractures in the United States, 2009. *Journal of orthopaedic trauma*, 29(8), e242-e244.

94. Karnes, J. M., Daffner, S. D., & Watkins, C. M. (2015). Multiple roles of tumor necrosis factor-alpha in fracture healing. *Bone*, 78, 87-93.

95. Karpouzou, A., Diamantis, E., Farmaki, P., Savvanis, S., & Troupis, T. (2017). Nutritional aspects of bone health and fracture healing. *Journal of osteoporosis*, 2017, 4218472.

96. Khosrotehrani, K. (2013). Mesenchymal stem cell therapy in skin: why and what for?. *Experimental dermatology*, 22(5), 307-310.

97. Kim, D. W., Staples, M., Shinozuka, K., Pantcheva, P., Kang, S. D., & Borlongan, C. V. (2013). Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells: phenotypic characterization and optimizing their therapeutic potential for clinical applications. *International journal of molecular sciences*, 14(6), 11692-11712.

98. Kim, J. E., Hsieh, M. H., Soni, B. K., Zayzafoon, M., & Allison, D. B. (2013). Childhood obesity as a risk factor for bone fracture: a mechanistic study. *Obesity*, 21(7), 1459-1466.

99. Kim, N., & Cho, S. G. (2013). Clinical applications of mesenchymal stem cells. *The Korean journal of internal medicine*, 28(4), 387-402.

100. Knight, M. N., & Hankenson, K. D. (2013). Mesenchymal stem cells in bone regeneration. *Advances in wound care*, 2(6), 306-316.

101. Kollitz, K. M., Hammert, W. C., Vedder, N. B., & Huang, J. I. (2014). Metacarpal fractures: treatment and complications. *Hand*, 9(1), 16-23.

102. Kotake, S., & Nanke, Y. (2014). Effect of TNF α on osteoblastogenesis from mesenchymal stem cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1840(3), 1209-1213.

103. Krause, M., Phan, T. G., Ma, H., Sobey, C. G., & Lim, R. (2019). Cell-based therapies for stroke: are we there yet?. *Frontiers in neurology*, 10, 656.

104. Lalloo, R., Lucchesi, L. R., Bisignano, C., Castle, C. D., Dingels, Z. V., Fox, J. T., ... & James, S. L. (2020). Epidemiology of facial fractures: incidence, prevalence and years lived with disability estimates from the Global Burden of

Disease 2017 study. *Injury prevention*, 26(Suppl 2), i27-i35.

105. Ledesma-Martínez, E., Mendoza-Núñez, V. M., & Santiago-Osorio, E. (2016). Mesenchymal stem cells derived from dental pulp: a review. *Stem cells international*, 2016, 4709572.

106. Lee, D. E., Ayoub, N., & Agrawal, D. K. (2016). Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: novel methods to increase cell delivery and therapeutic efficacy. *Stem cell research & therapy*, 7(1), 37.

107. Li, C. Y., Wu, X. Y., Tong, J. B., Yang, X. X., Zhao, J. L., Zheng, Q. F., ... & Ma, Z. J. (2015). Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. *Stem cell research & therapy*, 6(1), 55.

108. Li, T., Xia, M., Gao, Y., Chen, Y., & Xu, Y. (2015). Human umbilical cord mesenchymal stem cells: an overview of their potential in cell-based therapy. *Expert opinion on biological therapy*, 15(9), 1293-1306.

109. Li, X., Bai, J., Ji, X., Li, R., Xuan, Y., & Wang, Y. (2014). Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *International Journal of Molecular Medicine*, 34(3), 695-704.

110. Liao, H. T., & Chen, C. T. (2014). Osteogenic potential: Comparison between bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells. *World journal of stem cells*, 6(3), 288-295.

111. Liau, L. L., Ruszymah, B. H. I., Ng, M. H., & Law, J. X. (2020). Characteristics and clinical applications of Wharton's jelly-derived mesenchymal stromal cells. *Current research in translational medicine*, 68(1), 5-16.

112. Liebergall, M., Schroeder, J., Mosheiff, R., Gazit, Z., Yoram, Z., Rasooly, L., ... & Beyth, S. (2013). Stem cell-based therapy for prevention of delayed fracture union: a randomized and prospective preliminary study. *Molecular Therapy*, 21(8), 1631-1638.

113. Lin, F. C. F., Li, R. Y., Tung, Y. W., Jeng, K. C., & Tsai, S. C. S. (2016). Morbidity, mortality, associated injuries, and management of traumatic rib

fractures. *Journal of the Chinese Medical Association*, 79(6), 329-334.

114. Lin, H., Sohn, J., Shen, H., Langhans, M. T., & Tuan, R. S. (2019). Bone marrow mesenchymal stem cells: Aging and tissue engineering applications to enhance bone healing. *Biomaterials*, 203, 96-110.

115. Lin, Z. Z., Wang, J. J., Chung, C. R., Huang, P. C., Su, B. A., Cheng, K. C., ... & Chien, C. C. (2014). Epidemiology and mortality of hip fracture among patients on dialysis: Taiwan National Cohort Study. *Bone*, 64, 235-239.

116. Liu, H., Li, D., Zhang, Y., & Li, M. (2018). Inflammation, mesenchymal stem cells and bone regeneration. *Histochemistry and cell biology*, 149, 393-404.

117. Liu, W., Li, L., Rong, Y., Qian, D., Chen, J., Zhou, Z., ... & Cai, W. (2020). Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126. *Acta Biomaterialia*, 103, 196-212.

118. Liu, Y., Wu, J., Zhu, Y., & Han, J. (2014). Therapeutic application of mesenchymal stem cells in bone and joint diseases. *Clinical and experimental medicine*, 14, 13-24.

119. Loi, F., Córdova, L. A., Pajarinen, J., Lin, T. H., Yao, Z., & Goodman, S. B. (2016). Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*, 86, 119-130.

120. Lynn, J. V., Ranganathan, K., Luby, A. O., Urlaub, K. M., Donneys, A., Nelson, N. S., & Buchman, S. R. (2022). Therapeutic efficacy of adipose-derived stem cells versus bone marrow stromal cells for irradiated mandibular fracture repair. *Annals of Plastic Surgery*, 89(4), 459-464.

121. Marenzana, M., & Arnett, T. R. (2013). The key role of the blood supply to bone. *Bone research*, 1(1), 203-215.

122. Marin, C., Luyten, F. P., Van der Schueren, B., Kerckhofs, G., & Vandamme, K. (2018). The impact of type 2 diabetes on bone fracture healing. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 6.

123. Marino, L., Castaldi, M. A., Rosamilio, R., Ragni, E., Vitolo, R., Fulgione, C., ... & Selleri, C. (2019). Mesenchymal stem cells from the Wharton's jelly of the human umbilical cord: biological properties and therapeutic potential. *Int*

J stem cells, 12(2), 218-226.

124. Marolt Presen, D., Traweger, A., Gimona, M., & Redl, H. (2019). Mesenchymal stromal cell-based bone regeneration therapies: from cell transplantation and tissue engineering to therapeutic secretomes and extracellular vesicles. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 352.

125. Marongiu, G., Contini, A., Cozzi Lepri, A., Donadu, M., Verona, M., & Capone, A. (2020). The treatment of acute diaphyseal long-bones fractures with orthobiologics and pharmacological interventions for bone healing enhancement: a systematic review of clinical evidence. *Bioengineering*, 7(1), 22.

126. Meals, C., & Meals, R. (2013). Hand fractures: a review of current treatment strategies. *The Journal of hand surgery*, 38(5), 1021-1031.

127. Melton, L. 3., Achenbach, S. J., Atkinson, E. J., Therneau, T. M., & Amin, S. (2013). Long-term mortality following fractures at different skeletal sites: a population-based cohort study. *Osteoporosis International*, 24, 1689-1696.

128. Miki, T. (2018). Stem cell characteristics and the therapeutic potential of amniotic epithelial cells. *American Journal of Reproductive Immunology*, 80(4), e13003.

129. Mo, M., Wang, S., Zhou, Y., Li, H., & Wu, Y. (2016). Mesenchymal stem cell subpopulations: phenotype, property and therapeutic potential. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 3311-3321.

130. Mohammadi, M., Jaafari, M. R., Mirzaei, H. R., & Mirzaei, H. (2016). Mesenchymal stem cell: a new horizon in cancer gene therapy. *Cancer gene therapy*, 23(9), 285-286.

131. Moon, R. J., Harvey, N. C., Curtis, E. M., de Vries, F., van Staa, T., & Cooper, C. (2016). Ethnic and geographic variations in the epidemiology of childhood fractures in the United Kingdom. *Bone*, 85, 9-14.

132. Moreira, A., Kahlenberg, S., & Hornsby, P. (2017). Therapeutic potential of mesenchymal stem cells for diabetes. *Journal of molecular endocrinology*, 59(3), R109-R120.

133. Moriarty, T. F., Metsemakers, W. J., Morgenstern, M., Hofstee, M. I.,

Vallejo Diaz, A., Cassat, J. E., ... & Richards, R. G. (2022). Fracture-related infection. *Nature Reviews Disease Primers*, 8(1), 67.

134. Mousaei Ghasroldasht, M., Matin, M. M., Kazemi Mehrjerdi, H., Naderi-Meshkin, H., Moradi, A., Rajabioun, M., ... & Bahrami, A. R. (2019). Application of mesenchymal stem cells to enhance non-union bone fracture healing. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 107(2), 301-311.

135. Musiał-Wysocka, A., Kot, M., & Majka, M. (2019). The pros and cons of mesenchymal stem cell-based therapies. *Cell transplantation*, 28(7), 801-812.

136. Nagamura-Inoue, T., & He, H. (2014). Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: their advantages and potential clinical utility. *World journal of stem cells*, 6(2), 195-202.

137. Najar, M., Bouhtit, F., Melki, R., Afif, H., Hamal, A., Fahmi, H., ... & Lagneaux, L. (2019). Mesenchymal stromal cell-based therapy: new perspectives and challenges. *Journal of clinical medicine*, 8(5), 626.

138. Nery, A. A., Nascimento, I. C., Glaser, T., Bassaneze, V., Krieger, J. E., & Ulrich, H. (2013). Human mesenchymal stem cells: from immunophenotyping by flow cytometry to clinical applications. *Cytometry Part A*, 83(1), 48-61.

139. Ng, T. K., Fortino, V. R., Pelaez, D., & Cheung, H. S. (2014). Progress of mesenchymal stem cell therapy for neural and retinal diseases. *World journal of stem cells*, 6(2), 111-119.

140. Ntoliou, P., & Janes, S. M. (2013). Mesenchymal stem cell therapy for lung diseases: oasis or mirage?. *Respiration*, 85(4), 279-280.

141. Ono, T., & Takayanagi, H. (2017). Osteoimmunology in bone fracture healing. *Current osteoporosis reports*, 15, 367-375.

142. Oryan, A., Kamali, A., Moshiri, A., & Baghaban Eslaminejad, M. (2017). Role of mesenchymal stem cells in bone regenerative medicine: what is the evidence?. *Cells Tissues Organs*, 204(2), 59-83.

143. Oryan, A., Monazzah, S., & Bigham-Sadegh, A. (2015). Bone injury and fracture healing biology. *Biomedical and environmental sciences*, 28(1), 57-71.

144. Pajarinen, J., Lin, T., Gibon, E., Kohno, Y., Maruyama, M., Nathan, K.,

... & Goodman, S. B. (2019). Mesenchymal stem cell-macrophage crosstalk and bone healing. *Biomaterials*, 196, 80-89.

145. Pandey, R. K., & Panda, S. S. (2013). Drilling of bone: A comprehensive review. *Journal of clinical orthopaedics and trauma*, 4(1), 15-30.

146. Papadimitriou, N., Tsilidis, K. K., Orfanos, P., Benetou, V., Ntzani, E. E., Soerjomataram, I., ... & Trichopoulou, A. (2017). Burden of hip fracture using disability-adjusted life-years: a pooled analysis of prospective cohorts in the CHANCES consortium. *The Lancet Public Health*, 2(5), e239-e246.

147. Patka, P. (2017). Damage control and intramedullary nailing for long bone fractures in polytrauma patients. *Injury*, 48, S7-S9.

148. Pavić, R., Hnatešen, D., & Margetić, P. (2017). Epidemiology of adult fractures in eastern Croatia by cause of injury, fracture location and type of treatment. *Acta Clin Croat*, 56(3), 494-504.

149. Pereira, G. J. C., Damasceno, E. R., Dinhane, D. I., Bueno, F. M., Leite, J. B. R., & Ancheschi, B. D. C. (2017). Epidemiology of pelvic ring fractures and injuries. *Revista Brasileira de Ortopedia*, 52, 260-269.

150. Pittenger, M. F., Discher, D. E., Péault, B. M., Phinney, D. G., Hare, J. M., & Caplan, A. I. (2019). Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *NPJ Regenerative medicine*, 4(1), 22.

151. Qin, Y., Guan, J., & Zhang, C. (2014). Mesenchymal stem cells: mechanisms and role in bone regeneration. *Postgraduate Medical Journal*, 90(1069), 643-647.

152. Quarto, R., Mastrogiacomo, M., Cancedda, R., Kutepov, S. M., Mukhachev, V., Lavroukov, A., ... & Marcacci, M. (2001). Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *New england journal of medicine*, 344(5), 385-386.

153. Ranjbaran, H., Abediankenari, S., Mohammadi, M., Jafari, N., Khalilian, A., Rahmani, Z., ... & Ebrahimi, P. (2018). Wharton's jelly derived-mesenchymal stem cells: Isolation and characterization. *Acta Medica Iranica*, 56(1), 28-33.

154. Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2023). Peculiarities of planar microscopic parameters of rat bone tissue in the fracture area when using Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Перспективи та інновації науки*, 16(34), 743-752.
155. Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2024). Morphometric indicators of bone tissue of rats when using mesenchymal stem cells from Warton's jelly against the background of a fracture. *Перспективи та інновації науки*, 1(35), 797-806.
156. Rodríguez-Fuentes, D. E., Fernández-Garza, L. E., Samia-Meza, J. A., Barrera-Barrera, S. A., Caplan, A. I., & Barrera-Saldaña, H. A. (2021). Mesenchymal stem cells current clinical applications: a systematic review. *Archives of medical research*, 52(1), 93-101.
157. Romagnoli, C., & Brandi, M. L. (2014). Adipose mesenchymal stem cells in the field of bone tissue engineering. *World journal of stem cells*, 6(2), 144-152.
158. Rupp, M., Walter, N., Pfeifer, C., Lang, S., Kerschbaum, M., Krutsch, W., ... & Alt, V. (2021). The incidence of fractures among the adult population of Germany: An analysis from 2009 through 2019. *Deutsches Ärzteblatt International*, 118(40), 665-669.
159. Saeed, H., Ahsan, M., Saleem, Z., Iqtedar, M., Islam, M., Danish, Z., & Khan, A. M. (2016). Mesenchymal stem cells (MSCs) as skeletal therapeutics—an update. *Journal of biomedical science*, 23(1), 41.
160. Sakai, D., & Schol, J. (2017). Cell therapy for intervertebral disc repair: clinical perspective. *Journal of orthopaedic translation*, 9, 8-18.
161. Sanganalmath, S. K., & Bolli, R. (2013). Cell therapy for heart failure: a comprehensive overview of experimental and clinical studies, current challenges, and future directions. *Circulation research*, 113(6), 810-834.
162. Sanghani-Kerai, A., McCreary, D., Lancashire, H., Osagie, L., Coathup, M., & Blunn, G. (2018). Stem cell interventions for bone healing: fractures and osteoporosis. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 13(5), 369-377.
163. Santolini, E., West, R., & Giannoudis, P. V. (2015). Risk factors for

long bone fracture non-union: a stratification approach based on the level of the existing scientific evidence. *Injury*, 46, S8-S19.

164. Saran, U., Piperni, S. G., & Chatterjee, S. (2014). Role of angiogenesis in bone repair. *Archives of biochemistry and biophysics*, 561, 109-117.

165. Sattui, S. E., & Saag, K. G. (2014). Fracture mortality: associations with epidemiology and osteoporosis treatment. *Nature Reviews Endocrinology*, 10(10), 592-602.

166. Schell, H., Duda, G. N., Peters, A., Tsitsilonis, S., Johnson, K. A., & Schmidt-Bleek, K. (2017). The haematoma and its role in bone healing. *Journal of experimental orthopaedics*, 4(1), 5.

167. Schilcher, J., Sandberg, O., Isaksson, H., & Aspenberg, P. (2014). Histology of 8 atypical femoral fractures: remodeling but no healing. *Acta orthopaedica*, 85(3), 280-286.

168. Schlundt, C., El Khassawna, T., Serra, A., Dienelt, A., Wendler, S., Schell, H., ... & Schmidt-Bleek, K. (2018). Macrophages in bone fracture healing: their essential role in endochondral ossification. *Bone*, 106, 78-89.

169. Schmidt-Bleek, K., Schell, H., Lienau, J., Schulz, N., Hoff, P., Pfaff, M., ... & Duda, G. (2014). Initial immune reaction and angiogenesis in bone healing. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 8(2), 120-130.

170. Schousboe, J. T. (2016). Epidemiology of vertebral fractures. *Journal of Clinical Densitometry*, 19(1), 8-22.

171. Shang, F., Yu, Y., Liu, S., Ming, L., Zhang, Y., Zhou, Z., ... & Jin, Y. (2021). Advancing application of mesenchymal stem cell-based bone tissue regeneration. *Bioactive materials*, 6(3), 666-683.

172. Shao, J., Zhang, W., & Yang, T. (2015). Using mesenchymal stem cells as a therapy for bone regeneration and repairing. *Biological research*, 48, 62.

173. Sharpe, P. T. (2016). Dental mesenchymal stem cells. *Development*, 143(13), 2273-2280.

174. Sheyn, D., Ben-David, S., Shapiro, G., De Mel, S., Bez, M., Ornelas, L., ... & Gazit, Z. (2016). Human induced pluripotent stem cells differentiate into

functional mesenchymal stem cells and repair bone defects. *Stem cells translational medicine*, 5(11), 1447-1460.

175. Si, L., Winzenberg, T. M., Jiang, Q., Chen, M., & Palmer, A. J. (2015). Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010–2050. *Osteoporosis International*, 26, 1929-1937.

176. Song, N., Scholtemeijer, M., & Shah, K. (2020). Mesenchymal stem cell immunomodulation: mechanisms and therapeutic potential. *Trends in pharmacological sciences*, 41(9), 653-664.

177. Starnitz, S., & Klimczak, A. (2021). Mesenchymal stem cells, bioactive factors, and scaffolds in bone repair: from research perspectives to clinical practice. *Cells*, 10(8), 1925.

178. Starr, J., Tay, Y. K. D., & Shane, E. (2018). Current understanding of epidemiology, pathophysiology, and management of atypical femur fractures. *Current osteoporosis reports*, 16, 519-529.

179. Stegen, S., Van Gastel, N., & Carmeliet, G. (2015). Bringing new life to damaged bone: the importance of angiogenesis in bone repair and regeneration. *Bone*, 70, 19-27.

180. Steward, A. J., & Kelly, D. J. (2015). Mechanical regulation of mesenchymal stem cell differentiation. *Journal of anatomy*, 227(6), 717-731.

181. Su, P., Tian, Y., Yang, C., Ma, X., Wang, X., Pei, J., & Qian, A. (2018). Mesenchymal stem cell migration during bone formation and bone diseases therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8), 2343.

182. Sun, Y., Xu, L., Huang, S., Hou, Y., Liu, Y., Chan, K. M., ... & Li, G. (2015). mir-21 overexpressing mesenchymal stem cells accelerate fracture healing in a rat closed femur fracture model. *BioMed research international*, 2015, 412327.

183. Sundh, D., Mellström, D., Nilsson, M., Karlsson, M., Ohlsson, C., & Lorentzon, M. (2015). Increased cortical porosity in older men with fracture. *Journal of Bone and Mineral Research*, 30(9), 1692-1700.

184. Tamaki, Y., Nakahara, T., Ishikawa, H., & Sato, S. (2013). In vitro analysis of mesenchymal stem cells derived from human teeth and bone marrow.

Odontology, 101, 121-132.

185. Tan, S. H. S., Wong, J. R. Y., Sim, S. J. Y., Tjio, C. K. E., Wong, K. L., Chew, J. R. J., ... & Toh, W. S. (2020). Mesenchymal stem cell exosomes in bone regenerative strategies—a systematic review of preclinical studies. *Materials Today Bio*, 7, 100067.

186. Tawonsawatruk, T., West, C. C., Murray, I. R., Soo, C., Péault, B., & Simpson, A. H. R. W. (2016). Adipose derived pericytes rescue fractures from a failure of healing—non-union. *Scientific reports*, 6(1), 22779.

187. Thanunchai, M., Hongeng, S., & Thitithanyanont, A. (2015). Mesenchymal stromal cells and viral infection. *Stem Cells International*, 2015, 860950.

188. Toh, W. S., Foldager, C. B., Pei, M., & Hui, J. H. P. (2014). Advances in mesenchymal stem cell-based strategies for cartilage repair and regeneration. *Stem Cell Reviews and Reports*, 10, 686-696.

189. Toupadakis, C. A., Granick, J. L., Sagy, M., Wong, A., Ghassemi, E., Chung, D. J., ... & Yellowley, C. E. (2013). Mobilization of endogenous stem cell populations enhances fracture healing in a murine femoral fracture model. *Cytotherapy*, 15(9), 1136-1147.

190. Ullah, I., Subbarao, R. B., & Rho, G. J. (2015). Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective. *Bioscience reports*, 35(2), e00191.

191. Veronese, N., & Maggi, S. (2018). Epidemiology and social costs of hip fracture. *Injury*, 49(8), 1458-1460.

192. Walmsley, G. G., Ransom, R. C., Zielins, E. R., Leavitt, T., Flacco, J. S., Hu, M. S., ... & Wan, D. C. (2016). Stem cells in bone regeneration. *Stem cell reviews and reports*, 12, 524-529.

193. Wang, L., Yu, W., Yin, X., Cui, L., Tang, S., Jiang, N., ... & Xia, W. (2021). Prevalence of osteoporosis and fracture in China: the China osteoporosis prevalence study. *JAMA network Open*, 4(8), e2121106.

194. Wang, T., Zhang, X., & Bikle, D. D. (2017). Osteogenic differentiation of periosteal cells during fracture healing. *Journal of cellular physiology*, 232(5),

913-921.

195. Wang, X., Wang, C., Gou, W., Xu, X., Wang, Y., Wang, A., ... & Lu, S. (2018). The optimal time to inject bone mesenchymal stem cells for fracture healing in a murine model. *Stem cell research & therapy*, 9, 1-10.

196. Wang, X., Wang, Y., Gou, W., Lu, Q., Peng, J., & Lu, S. (2013). Role of mesenchymal stem cells in bone regeneration and fracture repair: a review. *International orthopaedics*, 37, 2491-2498.

197. Watson, L., Elliman, S. J., & Coleman, C. M. (2014). From isolation to implantation: a concise review of mesenchymal stem cell therapy in bone fracture repair. *Stem cell research & therapy*, 5, 51.

198. Watt, S. M., Gullo, F., van der Garde, M., Markeson, D., Camicia, R., Khoo, C. P., & Zwaginga, J. J. (2013). The angiogenic properties of mesenchymal stem/stromal cells and their therapeutic potential. *British medical bulletin*, 108(1), 25-53.

199. Weaver, J., Sajjan, S., Lewiecki, E. M., Harris, S. T., & Marvos, P. (2017). Prevalence and cost of subsequent fractures among US patients with an incident fracture. *Journal of managed care & specialty pharmacy*, 23(4), 461-471.

200. Wei, X., Yang, X., Han, Z. P., Qu, F. F., Shao, L., & Shi, Y. F. (2013). Mesenchymal stem cells: a new trend for cell therapy. *Acta Pharmacologica Sinica*, 34(6), 747-754.

201. Wildemann, B., Ignatius, A., Leung, F., Taitsman, L. A., Smith, R. M., Pesántez, R., ... & Jupiter, J. B. (2021). Non-union bone fractures. *Nature Reviews Disease Primers*, 7(1), 57.

202. Wu, A. M., Bisignano, C., James, S. L., Abady, G. G., Abedi, A., Abu-Gharbieh, E., ... & Vos, T. (2021). Global, regional, and national burden of bone fractures in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Healthy Longevity*, 2(9), e580-e592.

203. Wu, H., & Mahato, R. I. (2014). Mesenchymal stem cell-based therapy for type 1 diabetes. *Discovery medicine*, 17(93), 139-143.

204. Wu, X., Jiang, J., Gu, Z., Zhang, J., Chen, Y., & Liu, X. (2020). Mesenchymal stromal cell therapies: immunomodulatory properties and clinical progress. *Stem cell research & therapy*, *11*(1), 345.
205. Xu, L., & Li, G. (2014). Circulating mesenchymal stem cells and their clinical implications. *Journal of Orthopaedic Translation*, *2*(1), 1-7.
206. Xu, L., Huang, S., Hou, Y., Liu, Y., Ni, M., Meng, F., ... & Li, G. (2015). Sox11-modified mesenchymal stem cells (MSCs) accelerate bone fracture healing: Sox11 regulates differentiation and migration of MSCs. *The FASEB Journal*, *29*(4), 1143-1152.
207. Xu, T., Luo, Y., Wang, J., Zhang, N., Gu, C., Li, L., ... & Yin, G. (2020). Exosomal miRNA-128-3p from mesenchymal stem cells of aged rats regulates osteogenesis and bone fracture healing by targeting Smad5. *Journal of Nanobiotechnology*, *18*, 47.
208. Zakrzewski, W., Dobrzyński, M., Szymonowicz, M., & Rybak, Z. (2019). Stem cells: past, present, and future. *Stem cell research & therapy*, *10*(1), 68.
209. Zhang, C. L., Huang, T., Wu, B. L., He, W. X., & Liu, D. (2017). Stem cells in cancer therapy: opportunities and challenges. *Oncotarget*, *8*(43), 75756-75766.
210. Zhang, L., Jiao, G., Ren, S., Zhang, X., Li, C., Wu, W., ... & Chen, Y. (2020). Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion. *Stem cell research & therapy*, *11*, 1-15.
211. Zhang, Z., & Wang, F. S. (2013). Stem cell therapies for liver failure and cirrhosis. *Journal of Hepatology*, *59*(1), 183-185.
212. Zheng, C., Chen, J., Liu, S., & Jin, Y. (2019). Stem cell-based bone and dental regeneration: a view of microenvironmental modulation. *International Journal of Oral Science*, *11*(3), 23.
213. Zheng, X. Q., Xu, L., Huang, J., Zhang, C. G., Yuan, W. Q., Sun, C. G., ... & Song, C. L. (2023). Incidence and cost of vertebral fracture in urban China: a

5-year population-based cohort study. *International Journal of Surgery*, 109(7), 1910-1918.

214. Zhou, J., Liu, H. X., Li, S. H., Gong, Y. S., Zhou, M. W., Zhang, J. H., & Zhu, G. Y. (2019). Effects of human umbilical cord mesenchymal stem cells-derived exosomes on fracture healing in rats through the Wnt signaling pathway. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 23(11), 4954-4960.

215. Zimmermann, E. A., Busse, B., & Ritchie, R. O. (2015). The fracture mechanics of human bone: influence of disease and treatment. *BoneKEy reports*, 4, 743.

216. Zura, R., Braid-Forbes, M. J., Jeray, K., Mehta, S., Einhorn, T. A., Watson, J. T., ... & Steen, R. G. (2017). Bone fracture nonunion rate decreases with increasing age: a prospective inception cohort study. *Bone*, 95, 26-32.

ДОДАТОК А

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Fishchenko V. O., & Riaboshapko O. M. (2023). Morphological features of reparative osteogenesis under the influence of mesenchymal stem cells. *Morphology*, 1(168), 331-342.

Fishchenko V. O. – консультативна допомога в організації експерименту, відбору матеріалу на гістологічне дослідження, аналізі та узагальненні результатів.

2. Рябошапко, О. (2023). Mesenchymal stem cells: a promising means of activating reparative osteogenesis. *Перспективи та інновації науки*, 12(30), 860-869.

3. Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2023). Peculiarities of planar microscopic parameters of rat bone tissue in the fracture area when using Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Перспективи та інновації науки*, 16(34), 743-752.

Fishchenko V. O. – консультативна допомога в аналізі та узагальненні результатів, інтерпретації морфологічних особливостей результатів.

4. Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2024). Morphometric indicators of bone tissue of rats when using mesenchymal stem cells from Warton's jelly against the background of a fracture. *Перспективи та інновації науки*, 1(35), 797-806.

Fishchenko V. O. – консультативна допомога в постановці експерименту, відборі матеріалу на гістологічне дослідження, аналізі та узагальненні результатів.

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

5. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху морфологічних показників при введенні мезенхімальних стовбурових клітин

на фоні ушкодження кістки: дані експериментального дослідження на 14 добу. In *The 11th International scientific and practical conference “Scientific research in the modern world”* (August 24-26, 2023) Perfect Publishing, Toronto, Canada. 2023. 395 p. (p. 68).

6. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху мікроскопічних показників ураженої кісткової тканини за умови введення мезенхімальних стовбурових клітин: дані на 21 добу експерименту. In *The 9th International scientific and practical conference “Innovations and prospects in modern science”* (August 28-30, 2023) SSPG Publish, Stockholm, Sweden. 2023. 265 p. (p. 39).

7. Рябошапко, О. М. (2023, August). Межі процентильного розмаху морфометричних показників в ураженій кістковій тканині на 7 добу експерименту при введенні мезенхімальних стовбурових клітин. In *The 12th International scientific and practical conference “Scientific progress: innovations, achievements and prospects”* (August 21-23, 2023) MDPC Publishing, Munich, Germany. 2023. 254 p. (p. 29).

8. Рябошапко, О. М. (2023, September). Межі процентильного розмаху морфологічних показників на 28 добу експерименту при введенні в зону перелому мезенхімальних стовбурових клітин. In *The 12th International scientific and practical conference “Science and technology: problems, prospects and innovations”* (September 1-3, 2023) CPN Publishing Group, Osaka, Japan. 2023. 238 p. (p. 29).

Апробація результатів дисертації:

- науково-практична конференція з міжнародною участю The 11th International scientific and practical conference “Scientific research in the modern world” (Торонто, 2021) – публікація;
- науково-практична конференція з міжнародною участю The 9th International scientific and practical conference “Innovations and prospects in

modern science” (Стокгольм, 2023) – публікація;

- науково-практична конференція з міжнародною участю The 12th International scientific and practical conference “Scientific progress: innovations, achievements and prospects” (Мюнхен, 2023) – публікація;

- науково-практична конференція з міжнародною участю The 12th International scientific and practical conference “Science and technology: problems, prospects and innovations” (Осака, 2023) – публікація.

ДОДАТОК Б-2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
Комунального некомерційного підприємства
«Вінницька міська клінічна лікарня швидкої
медичної допомоги»

проф. Олександр ФОМІН

(підпис)

«_____» 2024 р.

(печатка)

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

у практичну роботу травматологічного пункту Комунального некомерційного підприємства «Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги» матеріалів публікацій: Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2023). Peculiarities of planar microscopic parameters of rat bone tissue in the fracture area when using Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Перспективи та інновації науки*, 16(34), 743-752 (автори Рябошапко О.М., Фіщенко В.О.); Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2024). Morphometric indicators of bone tissue of rats when using mesenchymal stem cells from Warton's jelly against the background of a fracture. *Перспективи та інновації науки*, 1(35), 797-806 (автори Рябошапко О.М., Фіщенко В.О.).

Ми, які підписались нижче, комісія в складі:

Голови — завідувача травматологічного пункту Сергій КОВАЛЕНКО

Членів комісії — лікарі травматологічного пункту:

Кристофор ГОЛОВАТЮК

Олег РОЗБИЦЬКИЙ

засвідчуємо, що матеріали, викладені у публікаціях: Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2023). Peculiarities of planar microscopic parameters of rat bone tissue in the fracture area when using Wharton's jelly mesenchymal stem cells. *Перспективи та інновації науки*, 16(34), 743-752 (автори Рябошапко О.М., Фіщенко В.О.); Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2024). Morphometric indicators of bone tissue of rats when using mesenchymal stem cells from Warton's jelly against the background of a fracture. *Перспективи та інновації науки*, 1(35), 797-806 (автори Рябошапко О.М., Фіщенко В.О.) використовуються при проведенні лікування пацієнтів з переломами довгих трубчастих кісток.

Голова комісії: Сергій КОВАЛЕНКО

Члени комісії: Кристофор ГОЛОВАТЮК

Олег РОЗБИЦЬКИЙ

(підписи)

ДОДАТОК Б-3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
Комунального некомерційного підприємства
«Вінницька міська клінічна лікарня швидкої
медичної допомоги»
проф. Олександр ФОМІН

« 1 » _____ 2024 р.

(печатка)

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

у практичну роботу відділення травматології та ортопедії Комунального некомерційного підприємства «Вінницька міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги» матеріалів публікацій: Рябошапко, О. (2023). Mesenchymal stem cells: a promising means of activating reparative osteogenesis. *Перспективи та інновації науки*, 12(30), 860-869 (автор Рябошапко, О.); Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2024). Morphometric indicators of bone tissue of rats when using mesenchymal stem cells from Warton's jelly against the background of a fracture. *Перспективи та інновації науки*, 1(35), 797-806 (автори Рябошапко О.М., Фіщенко В.О.).

Ми, які підписались нижче, комісія в складі:

Голови — завідувача відділення травматології та ортопедії Сергій ПСЮК

Членів комісії — лікарів відділення травматології та ортопедії:

Павло МАЛЕЦЬКИЙ
Олександр ФІЩЕНКО

засвідчуємо, що матеріали, викладені у публікаціях: Рябошапко, О. (2023). Mesenchymal stem cells: a promising means of activating reparative osteogenesis. *Перспективи та інновації науки*, 12(30), 860-869 (автор Рябошапко, О.); Riaboshapko O. M. & Fishchenko V. O. (2024). Morphometric indicators of bone tissue of rats when using mesenchymal stem cells from Warton's jelly against the background of a fracture. *Перспективи та інновації науки*, 1(35), 797-806 (автори Рябошапко О.М., Фіщенко В.О.) використовуються при проведенні лікування пацієнтів з переломами довгих трубчастих кісток.

Голова комісії: Сергій ПСЮК

Члени комісії: Павло МАЛЕЦЬКИЙ

Олександр ФІЩЕНКО

(підписи)

ДОДАТОК Б-5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО з наукової роботи
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д.мед.ц. професор Олег ВЛАСЕНКО



[Handwritten signature]

(підпис)

[Handwritten signature]

(печатка)

2024 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

у навчальну роботу кафедри травматології та ортопедії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова матеріалів публікацій: Fishchenko V. O., & Riaboshapko O. M. (2023). Morphological features of reparative osteogenesis under the influence of mesenchymal stem cells. *Morphology*, 1(168), 331-342 (автори Фіщенко В.О., Рябошапко О.М.); Рябошапко, О. (2023). Mesenchymal stem cells: a promising means of activating reparative osteogenesis. *Перспективи та інновації науки*, 12(30), 860-869 (автор Рябошапко О.М.).

Ми, які підписались нижче, комісія в складі:

Голови — завідувача кафедри травматології та ортопедії Володимир ФІЩЕНКО

Членів комісії — викладачі кафедри травматології та ортопедії:

Станіслав ЯРЕМИН

Василь КИРИЧЕНКО

засвідчуємо, що матеріали, викладені у публікаціях: Fishchenko V. O., & Riaboshapko O. M. (2023). Morphological features of reparative osteogenesis under the influence of mesenchymal stem cells. *Morphology*, 1(168), 331-342 (автори Фіщенко В.О., Рябошапко О.М.); Рябошапко, О. (2023). Mesenchymal stem cells: a promising means of activating reparative osteogenesis. *Перспективи та інновації науки*, 12(30), 860-869 (автор Рябошапко О.М.) використовуються при проведенні практичних занять та лекцій на кафедрі травматології та ортопедії

Голова комісії: Володимир ФІЩЕНКО

Члени комісії: Станіслав ЯРЕМИН

Василь КИРИЧЕНКО

(підписи)

ДОДАТОК В-1**ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 13**

засідання Вченої ради Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова

25 травня 2017 р.

СЛУХАЛИ: Про організацію наукового співробітництва з Інститутом молекулярної біології та генетики НАН України.

УХВАЛИЛИ: – до 01.06.2017 року заключити договір про співпрацю з Інститутом молекулярної біології та генетики НАН України;
– створити науково-дослідну лабораторію для проведення наукових розробок в області молекулярної біології та генетики;
– запровадити розвиток сумісних наукових проєктів в області молекулярної біології та генетики, які можна виконувати на базі ВНМУ ім. М.І. Пирогова та Інституту молекулярної біології та генетики НАН України;
– для виконання сумісних наукових проєктів залучати фахівців ВНМУ ім. М.І. Пирогова та Інституту молекулярної біології та генетики НАН України.

Голова Вченої ради *академік НАН України,
проф. В.М. Мороз*

Секретар Вченої ради *доц. О. А. Серебреннікова*

ЗГІДНО: Секретар Вченої ради Вінницького національного
медичного університету
ім. М.І. Пирогова



доц. О. А. Серебреннікова

ДОДАТОК В-2

ДОГОВІР про співпрацю

«22» березня 2017 року

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (далі – ВНМУ), в особі ректора, академіка НАМН України **Мороза Василя Максимовича**, який діє на підставі Статуту, з однієї сторони, й **Інститут молекулярної біології і генетики НАН України** (далі – ІМБіГ), в особі директора ІМБіГ НАН України, академіка НАН України **Єльської Ганни Валентимівни**, який діє на підставі Статуту, з метою об'єднання зусиль в галузі науки, освіти та інновацій уклали Договір (далі – Договір) про таке:

1. Предмет і мета договору

1.1. Предметом договору є провадження науково-дослідної діяльності на третьому (освітньо-науковому) рівні вищої освіти.

1.2. Метою договору є формування осередку наукової освіти, яке завдяки поєднаному науковому, педагогічному потенціалу, посиленню матеріально-технічного й інформаційного забезпечення, стане активним дослідницьким середовищем, яке зможе забезпечити високу якість освітніх і дослідницьких можливостей для науковців обох сторін.

2. Напрями діяльності

2.1. Основними напрямками співпраці Сторін є такі:

2.1.1. Об'єднання зусиль з впровадження сучасних форм, методів проведення наукових досліджень за пріоритетними напрямками науки у поєднанні з сучасними формами освітньої діяльності на третьому рівні вищої освіти.

2.1.2. Забезпечення ефективних зв'язків науково-освітньої діяльності з виробництвом.

2.1.3. Створення умов для найбільш ефективної реалізації творчого потенціалу Сторін у взаємовигідних напрямках науки та освіти.

2.1.4. Удосконалення третього рівня вищої освіти через формування високої якості її науково-дослідної компоненти за рахунок виконання спільних наукових досліджень з використанням матеріально-технічної та лабораторної бази Сторін.

2.1.5. Організація заходів для:

- розширення практики створення науково-навчальних центрів, спільних кафедр та дослідницьких лабораторій;

- підготовки фахівців на засадах взаємодії науки і освіти;

- запровадження нових організаційних форм науково-дослідної та навчальної діяльності для ефективного проведення комплексних наукових досліджень у поєднанні з інноваційною діяльністю.

2.1.6. Спільне використання наукового обладнання.

2.1.7. Надання взаємної можливості проведення лекцій, семінарів та навчань за участю спеціалістів Сторін.

2.1.8. Співпраця в інших напрямках на основі взаємної зацікавленості сторін.

3. Зобов'язання та права сторін

3.1. Сторони зобов'язуються:

3.1.1. Призначити контактну особу (групу осіб), яка буде відповідальною за зв'язок і співпрацю та обмін необхідною інформацією, яка не є конфіденційною.

3.1.2. Забезпечувати якісне виконання сумісних науково-дослідних програм.

3.1.3. Забезпечувати цільове використання наданого Сторонами устаткування та обладнання.

3.1.4. Дотримуватись умов, що ставляться Сторонами до кожного виду співпраці, спільно розроблених та затверджених Сторонами положень про порядок проведення конкурсів на отримання грантів та стипендій, практик, стажувань, наукових розробок, публікацій, проведення дослідів, придбання обладнання та інших видів співпраці.

3.2. Сторони також:

- спряють налагодженню зв'язків з вітчизняними й міжнародними науковими, установами та організаціями;

- координують співпрацю в освітній, науковій, дослідницькій та виробничій сферах;

- ініціюють проведення спільних науково-дослідних робіт, апробації та використання результатів наукових досліджень;

4. Відповідальність Сторін. Порядок вирішення спорів.

4.1. Сторони несуть відповідальність за діяльність у рамках цього Договору в межах взятих на себе зобов'язань і в порядку, передбаченому законодавством України.

4.2. Усі спірні питання, які виникають між сторонами, вирішуються шляхом переговорів з урахуванням прав та інтересів Сторін.

5. Прикінцеві положення

5.1. Хід та результати виконання цього договору щорічно розглядаються на спільному засіданні представників Сторін.

5.2. Перелік видів співпраці й обов'язків Сторін не є вичерпним і може бути доповнений або переглянутий за згодою Сторін, що оформляється додатковими угодами.

5.3. Цей Договір вважається укладеним і набирає чинності з моменту його підписання Сторонами та скріплення підписів печатками.

5.4. Термін дії цього договору починає свій перебіг у момент, визначений у п.5.3. цього Договору та діє протягом п'яти років.

5.5. Якщо жодна із сторін в письмовій формі не заявила про намір припинити дію цього Договору, то він буде надалі автоматично пролонгований на такий самий строк.

5.6. Кожна із сторін за власним бажанням може розірвати цей Договір в односторонньому порядку, попередивши про це іншу Сторону у письмовій формі за 30 календарних днів до дати, з якої пропонується припинити Договір.

5.7. Зміни і доповнення до цього Договору, а також усі додаткові угоди, додатки до нього вважаються дійсними лише в тому випадку, якщо вони мають письмову форму і підписані уповноваженими представниками обох Сторін та скріплені їх печатками.

5.8. Цей Договір не передбачає будь-яких фінансових зобов'язань Сторін.

5.9. Цей договір складений при повному розумінні Сторонами його умов і термінології українською мовою у двох автентичних примірниках, які мають однакову юридичну силу, – по одному для кожної із сторін.

Реквізити сторін

**Вінницький національний
медичний університет ім. М. І.
Пирогова**

м. Вінниця, 21018
вул. Пирогова, 56
тел.: (0432) 570360

Ректор



В. М. Мороз

**Інститут молекулярної біології і
генетики НАН України**

Україна, 252143, Київ,
вул. Заболотного, 150
Тел: (044) 526-1169, 526-3497,
Факс: (044) 526-0759

Директор ІМБіГ НАН України
академік НАН України



Г. В. Єльська