

2. Изменение показателя рН крови и анионного промежутка напрямую зависят от уровня гликемии. Чем выше уровень глюкозы крови, тем больше накапливается недоокисленных продуктов. В результате этого происходит сдвиг рН в сторону ацидоза с компенсаторной потерей бикарбонатов и увеличением анионного промежутка, в то время как показатели Na^+ и Cl^- остаются в пределах нормы и не влияют на изменение данного показателя.

3. Показатели рН и анионного промежутка плазмы достигают нормы значительно быстрее чем уровень гликемии, что может быть связано с начатой инфузионной терапией и уравниванием ионов плазмы.

Анионный промежуток плазмы может являться дополнительным информационным критерием для оценки степени тяжести состояния при кетоацидозе, а также для дифференциальной диагностики с другими нарушениями кислотно-щелочного состояния.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анестезиология и реаниматология: Учебник для подготовки кадров высшей квалификации : в 2 т. Т. II / С.А. Сумин, К.Г.Шаповалов [и др.]. – М. : ООО «Издательство «Медицинское Информационное Агентство», 2018. – 345 с.

2. Анестезиология и реаниматология No 01.2016: Рецензируемый научно-практический журнал / гл. ред. А. А. Бунятян. – М.: Медицина. – 2016. – 75 с.

3. Пол Л. Марино Интенсивная терапия : учеб. пособие / пер. с англ.; под ред. А. И. Ярошецкого. – 2-е изд. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 379с.

УДК 616.008.852-092.4:616.71-007.253

М. А. Соловянчик¹, В. Е. Кирьянова¹, Д. В. Чарнаштан¹

Научные руководители: к.б.н. Н. В. Чуешова^{1,2};

к.м.н., доцент В. И. Николаев¹

¹Государственное научное учреждение

«Институт радиобиологии Национальной академии наук Беларуси»,

²Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ТРОМБОЦИТАРНЫХ ФАКТОРОВ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ ОСТЕОГЕНЕЗА

Введение

В настоящее время, актуальной проблемой современной ортопедии в области лечения костных патологий является создание остеозамещающих трансплантатов. Одной из стратегий является восстановление архитектуры патологически измененной ткани путем замещения костного дефекта имплантатом, помещенным в зону повреждения. Считается, что «золотым стандартом» для остеопластики являются аутотрансплантаты, забор которых осуществляется из собственных тканей пациента. К тому же для успешной индукции остеогенеза в месте имплантации необходимо создать высокую начальную концентрацию клеток – предшественников остеобластов. С развитием тканевой инженерии одним из перспективных направлений для костной пластики является создание клеточных графтов из костно-пластических материалов, мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и биоактивных веществ, как альтернатива аутопластике [1–2].

Учитывая естественную роль растворимых факторов тромбоцитов в репаративных процессах, представляется интересным их использование для дифференцировки МСК в

остеобласты *in vitro* при конструировании и для приживления костного трансплантата *in vivo*. В связи с чем, представляется целесообразным разработать костнопластический биокомпозит на основе костного материала взятого из губчатой кости с добавлением плазмы, обогащенной тромбоцитами плазмы (platelet rich plasma – PRP).

Цель

Изучить влияние тромбоцитарных факторов на характер роста и дифференцировку мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток в клетки остеобластического дифферона методом проточной цитометрии.

Материал и методы исследования

Исследования выполнены на крысах-самцах линии Вистар возрастом 8 месяцев. Все животные содержались в оптимальных условиях вивария Института радиобиологии НАН Беларуси согласно санитарным правилам норм 2.1.2.12-18-2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Исследования выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с животными с соблюдением рекомендаций и требований Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (2013).

Протокол получения PRP включал несколько строго определенных стадий согласно метода Yamaguchi R et al. (2012) в модификации Потапнева М.П. и др. (2018) [3–4]. Отбор крови осуществляли шприцом кардиально у крыс под общим наркозом 2,5 % тиопентала натрия, введенного внутривенно в дозе 45 мг/кг веса. Данный способ позволяет взять примерно 10 мл крови. Содержимое шприца переносили в пробирки с 3,8 % цитратом натрия (в соотношении 9:1) и центрифугировали при комнатной температуре на 1000 об/мин в течение 20 минут. С помощью пастеровской пипетки отбирали плазму и лейко-тромбоцитарный слой и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 20 минут. Образовавшийся верхний слой отбирали и использовали в качестве плазмы, освобожденной от элементов крови – обедненная плазма. Нижний слой – обогащенный тромбоцитами, доводили обедненной плазмой до концентрации тромбоцитов $2,0 \times 10^{12}/\text{мл}$. Контроль содержания элементов крови проводили на гематологическом анализаторе. Полученные фракции плазмы подвергали замораживанию при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Через 1–3 дня обогащенную плазму размораживали и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут. Супернатант отбирали, фильтровали с помощью стерильных фильтров с диаметром пор 0,2 мкм и расфасовывали по 0,25 мл в пробирки Эпшендорф и хранили при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ до использования.

В обогащенной плазме определяли концентрацию тромбоцитарных факторов роста BMP-2 и BMP-7 методом ИФА с использованием диагностических наборов компании Elabscience (Китай).

В качестве источника костного материала являлась гетерогенная пластинчатая масса, полученная путем рассверливания вертела бедренной кости (в дистальном направлении) и последующего смыва костной массы со сверла 10 % сывороткой крупного рогатого скота. Полученную суспензию фильтровали через нейлоновый фильтр с диаметром пор 70 мкм и переносили в две стерильные полипропиленовые пробирки (15 мл), содержащие полную культуральную среду. Затем в одну пробирку добавляли обедненную плазму, а в другую – обогащенную (PRP) и инкубировали при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в CO_2 -инкубаторе в течение 3-х суток.

Спустя 3-х суток инкубации проводили детекцию экспрессии моноклональных антител к ММСК и анализ гетерогенности популяций биокомпозита на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, США), укомплектованным аргоно-ионным лазером с длиной волны 488 нм. Измерения проводили на 10000 клеток при скорости потока не более 300 измерений/с.

Результаты исследования и их обсуждение

Дифференцировка остеобластов из ММСК – сложный процесс, в котором задействованы многочисленные факторы роста, гормоны, низкомолекулярные вещества и цитокины семейства β -трансформирующего фактора (TGF- β). Костные морфогенетические белки (Bone Morphogenetic Proteins, BMP) представляют собой секретируемые сигнальные молекулы, принадлежащие семейству трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β). BMP-7 известен как остеогенный белок-1 индуцирует эктопическое образование костной ткани, тогда как BMP-2 стимулирует дифференцировку ММСК в остеобласты. Иммуноферментный анализ содержания BMP-7 и BMP-2 в полученной нами плазме, обогащенной факторами тромбоцитов плазмы, показал уровни белков, соответственно $13,85 \pm 1,32$ пг/мл и $53,61 \pm 3,46$ пг/мл, что соответствует установленным значениям [5].

На основании данных Юровой К. А. и др. (2021) о том, что дифференцировка ММСК в одном из ортодоксальных направлений определяется, во многом, источником их получения, т. е. свойствами микроокружения, представляется целесообразным разработать костнопластический биокомпозит на основе костного материала взятого из губчатой кости. Отработанный нами способ получения костного матрикса из вертела бедренной кости позволяет получить пул стволовых клеток/клеток-предшественниц с биологической характеристикой ММСК, что подтверждается цитофлуориметрическим анализом иммунного профиля биокомпозита, свидетельствующим об уровне экспрессии поверхностного маркера CD90, указывающий на фенотип ММСК – примерно 8 %.

Оценка морфологии клеточного композита с помощью проточной цитометрии по показателям бокового (SS) и прямого светорассеивания (FS), позволяет судить не только о морфологии клеток в целом по параметрам, отражающие их относительные размеры – показатель FS, но и оценивать гетерогенность внутриклеточного содержимого, т. е. выделять различные популяции клеток – показатель SS (рисунок). Анализ полученных скатерограмм позволяет дифференцировать две клеточные популяции, входящие в состав исследуемых композитов, отличающиеся по размеру клеток – шкала FS. В случае с композитом, содержащий обогащенную плазму, наблюдается появление клеток с фенотипом ММСК – 44,5%, характеризующихся увеличенным прямым светорассеиванием – шкала SS, причем данная субпопуляция происходит от клеток с относительно малым размером.

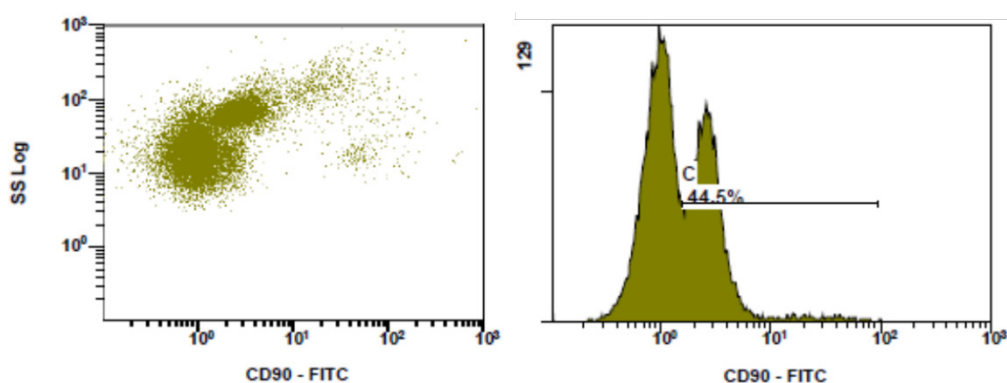


Рисунок – Детектирование клеточных популяций костного матрикса на 3-е сутки после добавления тромбоцитарных факторов роста

Таким образом, нами получены предварительные данные, указывающие на стимуляцию дифференцировки ММСК клеточных популяций костного биокомпозита в клетки остеобластного дифферона при добавлении в костный матрикс плазмы, содержащей тромбоцитарные факторы роста.

Вывод

Полученные данные указывают на стимуляцию роста костномозговых ММСК в остеобластное направление при добавлении плазмы, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, что является экспериментальным обоснованием для клинического применения костнопластических биокомпозитов в костной пластике.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Влияние релизата (releasate) тромбоцитов на остеогенную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека / С. М. Космачева [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2013. – № 4. – С. 210–216.
2. Предеин, Ю. А. Костные и клеточные имплантаты для замещения дефектов кости / Ю. А. Предеин, В. В. Рерих // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 132–132.
3. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor / R. Yamaguchi [et al.] // Journal of surgical research. – 2012 – Vol. 173, № 2 – P. 258–266.
4. Плазма крови, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов: получение, стандартизация, медицинское применение / М. П. Потапнев [и др.] // Здоровоохранение. – 2018 – № 10 (859). – С. 38–44.
5. Assessment of plasma BMP-2, BMP-7, BMP-10, vitamin D, and TGF β 1 in simple fractures among Sudanese patients / A. A. Ali [et al.] // Plos one. – 2021. – Vol. 16, № 2. – P. e0247472.
6. Мезенхимные стволовые клетки: краткий обзор классических представлений и новых факторов остеогенной дифференцировки / К. А. Юрова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 207–222.

УДК 616-089.819.843:57.083.324]:579.61

М. О. Шелудько, И. А. Радченко

Научный руководитель: ассистент кафедры О. П. Савчук

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ОСОБЕННОСТЕЙ МЯГКОТКАННЫХ РЕАКЦИЙ НА МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ИМПЛАНТАТЫ С КОМПОЗИЦИОННЫМ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПОКРЫТИЕМ В УСЛОВИЯХ МИКРОБНОЙ НАГРУЗКИ

Введение

На сегодняшний день одним из основных факторов, определяющих результат текущей операции в области хирургического вмешательства после остеосинтеза, является бактериальные инфекции [1]. Инфекции, связанные с фиксирующими металлоконструкциями, остаются одной из ведущих причин неудач с высокими экономическими и социальными последствиями. Согласно современным представлениям наиболее важным событием в развитии инфекции, связанной с имплантируемой металлоконструкцией, является образование биопленки, которая сразу после адгезии бактерий к имплантату и начинает эффективно защищать микроорганизмы от иммунной системы пациента и системных антибиотиков. Предотвращение образования биопленок является основной задачей в профилактике имплантат-ассоциированной инфекции [2].

Для предотвращения образования имплантат-ассоциированных инфекций могут применяться различные модифицированные микробоцидные поверхности, наносимые на металлоконструкцию. Наиболее эффективным способом предотвращения и замедления образования биопленок, является разработка антибактериальных покрытий, в основе которых лежат противомикробные и антибиотические свойства серебряно-платиновых