

УДК 612.119:616-092.9

И.В. Соловьева

ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ РФ, Луганск

## СООТНОШЕНИЕ РАЗМЕРОВ Фолликулов Щитовидной ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС ПОСЛЕ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ КОСТНО-КЕРАМИЧЕСКОГО РЕГЕНЕРАТА

От 5% до 10% переломов костей во всем мире приводят к замедленному сращению или несращению [1]. Факторами риска несросшихся переломов костей могут являться курение, инфекция, политравма и высокая степень начального смещения перелома [2]. Причиной несращения также может быть отсутствие послеоперационной механической стабильности или, наоборот, чрезмерно жесткая фиксация материала для остеосинтеза. Кроме того, местные условия в области перелома – недостаточное кровоснабжение и повреждение мягких тканей могут также влиять на заживление костей [3].

С целью оптимизации заживления крупных костных дефектов в тканевой инженерии используются новые остеокондуктивные и остеоиндуктивные биоматериалы/каркасы, стволовые клетки и факторы роста [4]. Аллогенные мезенхимальные стволовые клетки (АМСК) характеризуются мультипотентностью, устойчивым самообновлением и экспансией, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием, в дополнение к секреции молекул, которые могут запускать или поддерживать регенерацию и замещение тканей [5]. В частности, АМСК использовались для восстановления поврежденных тканей и органов, включая кости, связки и сердце [6, 4].

Следует учитывать, что заживление переломов костей сопровождаются сложнейшими гормональными, метаболическими и иммунологическими изменениями в организме [7]. В доступной литературе достаточно подробно описаны изменения иммунного ответа организма после переломов костей и костно-пластических вмешательств [8], но изменения гормонального фона в этих условиях описаны только на самых ранних этапах после травмы скелета [9]. Изменения морфогенеза эндокринных желез при использовании для лечения повреждений скелета АМСК не описаны вообще.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить изменения фолликулярного строения щитовидной железы у крыс после внутривенного введения АМСК на разных стадиях формирования регенерата большеберцовых костей.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент был проведен на 192 белых лабораторных крысах-самцах с исходной массой тела 190-225 г, распределенных на 8 групп: К-группа – интактные животные (виварный контроль), Д-группа – крысы, которым наносили сквозной дефект диаметром 2,0 мм на границе проксимального метафиза и диафиза обеих большеберцовых костей, ОК-группа – крысы, которым в дефект большеберцовых костей имплантировали гидроксилатапатитный материал ОК-015. В АМСКОК3-АМСКОК45- группах животным после костно-пластической операции на 3-и, 10-е, 15-е, 24-е и 45-сутки вводили по 5×10<sup>6</sup> АМСК в хвостовое венозное сплетение. Клетки костного мозга получали из полостей большеберцовых и бедренных костей крыс после их декапитации под эфирным наркозом, клетки помещали в питательную среду «Игла-МЕМ» («Биолот», Россия) с L-глутамином, 10% эмбриональной телячьей сывороткой и антибиотиками, культивировали 14 суток при температуре 37°, в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора со сменой среды 1 раз в неделю. Культуру фенотипировали непрямым иммунофлюоресцентным методом с помощью специфических маркеров к МСК [10].

Через 7, 15, 30, 60 и 90 суток после нанесения дефекта большеберцовых костей животных выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом. Щитовидную железу выделяли, фиксировали в 5% нейтральном формалине и заливали в парафин. Гистологиче-

ские срезы на уровне ворот толщиной 4-6 мкм, окрашенные гематоксилином-эозином, исследовали и фотографировали на цифровом морфометрическом комплексе на базе микроскопа Olympus BX 41. Анализ цифровых данных проводили с помощью компьютерной программы для морфометрических исследований «Master of Morphology» («Свідоство про реєстрацію авторського права № 9604», авторы; В.В. Овчаренко, В.В. Маврич, 2004). Определялось процентное соотношение крупных (диаметром более 60 мкм), средних (диаметром 40-60 мкм) и мелких фолликулов (до 40 мкм) путём подсчёта не менее 100 подобных структур в различных полях зрения микроскопа [11].

Полученные цифровые данные обрабатывали с применением пакета прикладных программ Statistica 10. Для каждой группы рассчитывались средние значения и стандартные ошибки. Полученные значения проверялись при помощи критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка на нормальность распределения. Для установления статистической значимости отклонений при нормальном распределении применялся параметрический критерий Стьюдента-Фишера. В случае ненормального распределения использовали непараметрический метод сравнения двух независимых выборок – критерий Манна-Уитни. Статистически значимыми различия считали при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На микроскопических срезах щитовидной железы животных К-группы во все сроки наблюдения её структура была органотипической и характеризовалась наличием слабо выраженной возрастной динамики гистоморфометрических показателей.

В толще ткани щитовидной железы наблюдаются фолликулы, которые распределены неравномерно: более крупные и неправильной формы фолликулы располагаются в периферических отделах органа, а более мелкие, в основном округлые фолликулы находятся в центральных участках. Доля крупных фолликулов за временной период с 7 по 90 сутки наблюдения увеличилась с  $20,92 \pm 0,29\%$  до  $23,22 \pm 0,30\%$ , доля средних – с  $43,11 \pm 0,45\%$  до  $44,11 \pm 0,50\%$ , а количество мелких фолликулов уменьшилось с  $35,97 \pm 0,54\%$  до  $32,67\%$  (см. табл.).

После нанесения сквозного дефекта в проксимальных отделах диафизов большеберцовых костей на микроскопических срезах щитовидной железы с 7 по 60 сутки наблюдения количество мелких фолликулов было меньше, чем в К-группе на 5,17%, 13,12%, 13,84% и 10,08%. Доля средних фолликулов с 15 по 60 сутки экс-

перимента была больше значений К-группы на 7,25%, 7,16% и 5,95%, а доля крупных фолликулов к 15 и 30 суткам после операции – на 6,82% и 7,18%.

На микроскопических срезах щитовидной железы подопытных животных ОК-группы в сравнении с Д-группой динамика изменения соотношения фолликулов разных групп была двухфазной. К 7 и 15 суткам после операции количество крупных фолликулов было больше значений Д-группы на 4,01% и 5,90%, а количество средних фолликулов к 15 суткам – на 4,21%. Также, количество мелких фолликулов к 7 и 15 суткам после операции было меньше значений сравнения на 6,92% и 10,83%.

Явления снижения морфофункциональной активности щитовидной железы после пластики дефектов большеберцовых костей требуют поиска путей их профилактики и коррекции. С этой целью нами были исследовано внутривенное введение АМСК костномозгового происхождения. В предшествующих исследованиях нами доказана эффективность данной клеточной терапии для восстановления морфофункционального состояния надпочечников после нанесения сквозного дефекта большеберцовых костей и его пластики материалом ОК-015 [12].

В АМСКОК3-группе количество мелких фолликулов к 15 и 30 суткам после операции превышало значения ОК-группы на 8,16% и 7,37%, а количество крупных фолликулов к 15 суткам и количество средних фолликулов к 30 суткам – меньше на 4,06% и 3,76%. В более поздние сроки после операции статистически значимые отличия от показателей ОК-группы не наблюдались.

После введения АМСК на 10-е сутки после имплантации в дефект большеберцовых костей материала ОК-015 (АМСКОК10-группа) к 15 и 30 суткам после операции на микроскопических срезах щитовидной железы количество мелких фолликулов превышало показатели ОК-группы на 15,92% и 7,11%. Доля средних фолликулов к 15 и 30 суткам после операции была меньше значений 3-й группы на 5,35% и 4,00%, а доля крупных фолликулов к 15 суткам – на 7,19%.

В АМСКОК15-АМСКОК45-группах статистически значимые отличия исследуемых показателей от показателей ОК-группы не были выявлены.

Полученные нами данные о фолликулярном строении щитовидной железы у животных К-группы в целом соответствуют возрастной динамике структуры щитовидной железы у интактных самцов крыс половозрелого возраста, описанной в доступной литературе [13].

Нанесение сквозного хирургического дефекта большеберцовых костей на микроскопиче-

Таблица.

Процентное соотношение фолликулов различного размера в щитовидной железе у белых крыс после пластики дефектов большеберцовых костей материалом ОК-015 (X±Sx)

| Группа           | Сроки | Крупные (≥ 60 мкм), % | Средние (40-60 мкм),% | Мелкие (< 40 мкм),% |
|------------------|-------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| К-группа         | 7     | 20,92±0,29            | 43,11±0,45            | 35,97±0,54          |
|                  | 15    | 21,17±0,27            | 43,69±0,45            | 35,14±0,51          |
|                  | 30    | 21,67±0,27            | 44,22±0,51            | 34,11±0,58          |
|                  | 60    | 22,22±0,33            | 43,89±0,53            | 33,89±0,64          |
|                  | 90    | 23,22±0,30            | 44,11±0,50            | 32,67±0,54          |
| Д-группа         | 7     | 21,50±0,24            | 44,39±0,48            | 34,11±0,55*         |
|                  | 15    | 22,61±0,25*           | 46,86±0,52*           | 30,53±0,56*         |
|                  | 30    | 23,22±0,28*           | 47,39±0,49*           | 29,39±0,53*         |
|                  | 60    | 23,03±0,28            | 46,5±0,54*            | 30,47±0,59*         |
|                  | 90    | 23,42±0,28            | 45,67±0,54            | 30,92±0,63          |
| ОК-группа        | 7     | 22,36±0,26*^          | 45,89±0,56*           | 31,75±0,66*^        |
|                  | 15    | 23,94±0,29*^          | 48,83±0,54*^          | 27,22±0,61*^        |
|                  | 30    | 22,14±0,24^           | 45,81±0,48*^          | 32,06±0,57*^        |
|                  | 60    | 22,14±0,28^           | 44,72±0,50^           | 33,14±0,61^         |
|                  | 90    | 22,94±0,28            | 43,86±0,53^           | 33,19±0,60^         |
| АМСКОК 3-группа  | 7     | 22,64±0,30*           | 46,08±0,40*           | 31,28±0,50*         |
|                  | 15    | 22,97±0,30*#          | 47,58±0,43*           | 29,44±0,56*#        |
|                  | 30    | 21,50±0,29            | 44,08±0,38#           | 34,42±0,48#         |
|                  | 60    | 21,94±0,28            | 44,00±0,48            | 34,06±0,58          |
|                  | 90    | 23,36±0,27            | 44,31±0,48            | 32,33±0,54          |
| АМСКОК 10-группа | 15    | 22,22±0,30*#          | 46,22±0,48*#          | 31,56±0,61±*#       |
|                  | 30    | 21,69±0,32            | 43,97±0,45#           | 34,33±0,56#         |
|                  | 60    | 22,06±0,30            | 43,72±0,53            | 34,22±0,63          |
|                  | 90    | 23,11±0,32            | 43,97±0,46            | 32,92±0,55          |
| АМСКОК 15-группа | 30    | 21,75±0,34            | 44,36±0,59            | 33,89±0,69          |
|                  | 60    | 22,36±0,36            | 43,92±0,61            | 33,72±0,67          |
|                  | 90    | 23,25±0,33            | 44,11±0,62            | 32,64±0,72          |
| АМСКОК 24-группа | 30    | 22,06±0,31            | 44,19±0,65            | 33,75±0,74          |
|                  | 60    | 22,19±0,32            | 44,03±0,58            | 33,78±0,62          |
|                  | 90    | 23,11±0,31            | 44,00±0,58            | 32,89±0,69          |
| АМСКОК 45-группа | 60    | 22,39±0,34            | 43,86±0,56            | 33,75±0,64          |
|                  | 90    | 23,25±0,33            | 44,44±0,60            | 32,31±0,68          |

Примечание: \* – статистически значимое отличие с показателями К-группы (p≤0,05); ^ – статистически значимое отличие с показателями Д-группы (p≤0,05); # – статистически значимое отличие с показателями ОК-группы (p≤0,05).

ском уровне сопровождается снижением числа мелких фолликулов и увеличением числа средних и крупных фолликулов в щитовидной желе-

зе. Данные алгоритмы реализуются с 7 по 60 суток после операции, а максимальные отклонения исследуемых показателей регистрируются к 15-

30 суткам после операции. Выявленные изменения следует рассматривать как явления снижения результирующей функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-щитовидной оси, что подтверждается результатами наших исследований функционального состояния щитовидных желез после пластики костных дефектов в эксперименте [14].

Имплантация в дефект большеберцовых костей гидроксилapatитного материала ОК-015 к 7 и 15 суткам после операции сопровождается в сравнении с Д-группой усилением признаков гипофункции щитовидных желез, а с 30 суток после операции наблюдается более быстрое восстановление исследуемых показателей.

Следует полагать, что заполнение дефекта большеберцовых костей гидроксилapatитным материалом ОК-015 в ранние сроки после костно-пластической операции приводит к повышению уровня активности резорбтивных процессов в локусе повреждения. Это и приводит к манифестации морфологических признаков гипофункции щитовидной железы [1].

Введение АМСК на ранних стадиях формирования костно-керамического регенерата большеберцовых костей сопровождается восстановлением фолликулярного строения щитовидной железы. При этом более предпочтительным является введение АМСК на 10-е сутки после операции (стадия формирования клеточной бластемы) [15].

В то же время, введение АМСК на 15-е, 24-е и 45-е сутки после костнопластической операции не сопровождается статистически значимыми отличиями фолликулярного строения щитовидной железы в сравнении с ОК-группой.

Доказано, что АМСК обеспечивают восстановление поврежденных тканей и клеток путем реализации нескольких механизмов, а именно:

обладают паракринной активностью, связанной с секрецией белков/пептидов и гормонов; обеспечивают перенос митохондрий путем туннелирования нанотрубочек или микровезикул; и обеспечивают перенос экзосом или микровезикул, содержащих РНК и другие молекулы [9].

В результате внутривенная инъекция АМСК в стадию формирования клеточной бластемы (на 10-е сутки после костно-пластической операции) – фазу наиболее активных преобразований костно-керамического регенерата, в наибольшей степени оптимизирует структурно-функциональное состояние органов эндокринной системы, а значит, и щитовидной железы, в этих условиях.

## ВЫВОДЫ

1. Нанесение дефектов в большеберцовых костях сопровождается снижением числа мелких фолликулов и увеличением числа средних и крупных фолликулов щитовидной железы с 7 по 60 сутки эксперимента с максимальными проявлениями к 15-30 суткам после операции.

2. Заполнение дефекта большеберцовых костей материалом ОК-015 к 7 и 15 суткам после операции сопровождается усилением признаков гипофункции щитовидных желез, а с 30 суток после операции наблюдается более быстрое восстановление исследуемых показателей.

3. Внутривенное введение аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на ранних стадиях формирования костно-керамического регенерата большеберцовых костей сопровождается восстановлением фолликулярного строения щитовидной железы. Оптимальным является введение аллогенных мезенхимальных стволовых клеток на 10-е сутки после операции (стадия формирования клеточной бластемы).

*И.В. Соловьева*

*ФГБОУ ВО «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки» МЗ РФ, Луганск*

### **СООТНОШЕНИЕ РАЗМЕРОВ ФОЛЛИКУЛОВ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС ПОСЛЕ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ АЛЛОГЕННЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ФОРМИРОВАНИЯ КОСТНО-КЕРАМИЧЕСКОГО РЕГЕНЕРАТА**

Цель исследования – установить изменения фолликулярного строения щитовидной железы у крыс после внутривенного введения аллогенных мезенхимальных стволовых клеток (АМСК) на разных стадиях формирования регенерата после пластики дефекта большеберцовых костей гидроксилapatитом.

Эксперимент проведен на 192 белых крысах-самцах с исходной массой 190-225 г, распределенных на 7 групп: 1-я группа – контроль, 2-я группа – кры-

сы, которым наносили дефект диаметром 2,0 мм на границе проксимального метафиза и диафиза обеих большеберцовых костей, в 3-й группе в костный дефект имплантировали гидроксилapatитный материал ОК-015. После пластики костного дефекта (4-8-я группы) животным вводили по 5×10<sup>6</sup> АМСК в венозное сплетение на 3-и, 10-е, 15-е, 24-е и 45-сутки после операции. Сроки эксперимента составили 7, 15, 30, 60 и 90 суток от момента нанесения дефек-

та. Гистологические срезы щитовидных желез окрашивали гематоксилином-эозином и определяли процентное отношение фолликулов разных размеров.

Нанесение дефектов в большеберцовых костях с 7 по 60 сутки после операции сопровождалось снижением количества мелких фолликулов на 5,17%, 13,12%, 13,84% и 10,08% и увеличением доли крупных фолликулов к 15 и 30 суткам на 6,82% и 7,18%. После имплантации в костный дефект материала ОК-015 к 7 и 15 суткам после операции количество крупных фолликулов было больше значений 2-й группы на 4,01% и 5,90%, а количество мелких фолликулов к 7 и 15 суткам – меньше на 6,92% и 10,83%. Введение АМСК на разных стадиях формирования костно-керамического регенерата сопровождается восстановлением фолликулярного строения щитовидной железы. Динамика восстановления зависит от стадии формирования регенерата, на которой АМСК вводилась. Оптимальным является введение АМСК на 10-е сутки после костно-пластической операции (стадия формирования клеточной бластемы). При введении

АМСК на 15-е, 24-е и 45-е сутки признаки восстановления не наблюдались.

Нанесение дефектов в большеберцовых костях сопровождается снижением числа мелких фолликулов и увеличением числа средних и крупных фолликулов щитовидной железы с 7 по 60 сутки эксперимента с максимальными проявлениями к 15-30 суткам после операции. Имплантация в костный дефект гидроксилапатитного материала ОК-015 к 7 и 15 суткам после операции сопровождается усилением признаков гипопункции щитовидных желез, а с 30 суток после операции наблюдается более быстрое восстановление исследуемых показателей. Внутривенное введение АМСК на разных стадиях формирования регенерата большеберцовых костей сопровождается восстановлением фолликулярного строения щитовидной железы. Оптимальным является введение АМСК на 10-е сутки после костно-пластической операции.

**Ключевые слова:** крысы, костный дефект, пластика, аллогенные мезенхимальные стволовые клетки, щитовидная железа, фолликулярное строение.

#### I.V. Soloviova

FSBEI HE «Saint Luka Lugansk State Medical University» MOH Russia, Lugansk

#### SIZE RATIO OF THYROID FOLLICLES IN RATS AFTER INTRAVENOUS INJECTION OF ALLOGENIC MESENCHYMAL STEM CELLS AT DIFFERENT STAGES OF BONE-CERAMIC REGENERATE FORMATION

The aim of the study is to establish changes in the follicular structure of the thyroid gland in rats after intravenous injection of allogenic mesenchymal stem cells (AMSC) at different stages of regenerate formation after tibial defect repair with hydroxylapatite.

The experiment was carried out on 192 white male rats with an initial weight of 190-225 g, divided into 7 groups: group 1 – control, group 2 – rats, which were inflicted with a defect 2.0 mm in diameter at the border of the proximal metaphysis and diaphysis of both tibias; in the 3rd group, OC-015 hydroxylapatite material was implanted into the bone defect. After filling of a bone defect (groups 4-8), the animals were injected with  $5 \times 10^6$  AMSC into the caudal venous plexus on the 3rd, 10th, 15th, 24th, and 45th days after surgery. The terms of the experiment were 7, 15, 30, 60, and 90 days from the moment the defect was applied. Histological sections of the thyroid glands were HE stained and the percentage of follicles of different sizes was determined.

Defect in the tibia in the period from the 7th to the 60th day after surgery were accompanied by a decrease in the number of small follicles by 5.17%, 13.12%, 13.84% and 10.08% and an increase in the proportion of large follicles by the 15th and the 30th day by 6, 82% and 7.18%. After implantation of the ОК-015 material into the bone defect, by the 7th and the 15th days after the operation, the number of large follicles was 4.01% and 5.90% larger than the values of the 2nd group, and the number of small follicles by the 7th and the 15th days decreased by

6.92% and 10.83%. The introduction of AMSC at different stages of the formation of bone-ceramic regenerate is accompanied by the restoration of the follicular structure of the thyroid gland. The dynamics of recovery depends on the stage of regenerate formation at which AMSC was introduced. The optimal is the introduction of AMSC on the 10th day after osteoplastic surgery (the stage of formation of cellular blastema). With the introduction of AMSC on the 15th, 24th and 45th days, no signs of recovery were observed.

Defects in the tibia result in a decrease in the number of small follicles and an increase in the number of medium and large follicles of the thyroid gland from the 7th to the 60th days of the experiment with maximum manifestations on the 15th and the 30th days after surgery. Implantation of the ОК-015 hydroxylapatite material into the bone defect by the 7th and 15th days after the operation is accompanied by an increase in the signs of thyroid hypofunction, and from the 30th day after the operation, a more rapid recovery of the studied parameters is observed. Intravenous administration of AMSC at different stages of tibial regenerate formation is accompanied by restoration of the follicular structure of the thyroid gland. The optimal is the introduction of AMSC on the 10th day after osteoplastic surgery.

**Key words:** rats, bone defect, plastic surgery, allogenic mesenchymal stem cells, thyroid gland, follicular structure.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Santolini E., West R., Giannoudis P.V. Risk factors for long bone fracture nonunion: a stratification approach based on the level of the existing scientific evidence. *Injury*. 2015; 46 (Suppl. 8): S8-19. doi: 10.1016/S0020-1383(15)30049-8
2. Mills L.A., Simpson A.H.R.W. The relative incidence of fracture non-union in the Scottish population (5.17 million): a 5-year epidemiological study. *BMJ Open*. 2013; 3 (2): e002276. doi: 10.1136/bmjopen-2012-002276
3. Stanovici J., Le Nail L.-R., Brennan M.A., Vidal L., Trichet V., Rosset P., Layrolle P. Bone regeneration strategies with bone marrow stromal cells in orthopaedic surgery. *Curr Res Transl Med*. 2016; 64 (2): 83-90. doi: 10.1016/j.retram.2016.04.006
4. Iaquina M., Mazzoni E., Manfrini M., D'Agostino A., Trevisiol L., Nocini R., Trombelli L., Barbanti-Brodano G., Martini F., Tognon M. Innovative biomaterials for bone regrowth. *Int. J. f Mol. Sci*. 2019; 20: E618. doi: 10.3390/ijms20030618
5. Caplan A.I., Dennis J.E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J. Cell. Biochem*. 2006; 98: 1076-1084. doi: 10.1002/jcb.20886
6. Зинченко Е.В., Лузин В.И. Оценка влияния введения мезенхимальных стволовых клеток на разных этапах формирования регенерата костной ткани на фоне нанесения дефекта большеберцовых костей на химический состав плечевых костей крыс. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2020; 3: 3-10.
7. Ben-Menachem E., Cooper D.J. Hormonal and metabolic response to trauma. *Anaesthesia and intensive care medicine*. 2011; 12 (9): 409-411. doi: 10.1016/j.mpaic.2011.06.002
8. Osipov B, Emami AJ, Christiansen BA. Systemic Bone Loss After Fracture. *Clin. Rev. Bone Miner. Metab*. 2018; 16 (4): 116-30. doi: 10.1007/s12018-018-9253-0
9. Свешников А.А., Офицерова Н.В. Радиоиммунологический метод в познании гормональной регуляции репаративного костеобразования. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 1986; 2: 67-70.
10. Демьяненко Е.В., Соловьева И.В., Бибик В.В., Василенко Д.А., Головченко В.В., Исмаилова К.Р., Оберемок С.Е., Панкратьев А.А., Пашченко Н.А., Пилавов А.М., Провизион Ю.А., Серкина А.Н., Труфанов С.Ю., Труфанова М.С., Фролов И.Р., Шевчук Я.В. Характеристика культуры мезенхимальных стволовых клеток костномозгового происхождения, ее идентификация, оценка жизнеспособности и пролиферативной активности. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2021; 3: 57-61.
11. Хмельницкий О.К., Третьякова М.С. Щитовидная железа как объект морфометрического исследования. *Архив патологии*. 1998; 4: 47-49.
12. Соловьева И.В., Оберемок С.Е. Некоторые показатели органометрии надпочечных желез при введении мезенхимальных стволовых клеток в дефект большеберцовых костей на 1-й стадии формирования регенерата. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова*. 2020; 2: 89-93.
13. Зяблицкая Е.Ю., Степанова О.В., Зима Д.В., Макалиш Т.П. Морфологическое исследование щитовидной железы (разнообразие методов и их интерпретация). *Gevher Nesibe Journal of Medical And Health Sciences*. 2022; 4 (4): 6-19.
14. Соловьева И.В., Панкратьев А.А., Демьяненко Е.В., Бибик В.В., Пашченко Н.А., Оберемок С.Е., Фролов И.Р. Функциональное состояние аденогипофиза, щитовидных и надпочечных желез после введения мезенхимальных стволовых клеток на разных стадиях формирования костно-керамического регенерата. *Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии*. 2022; 1 (169): 93-102.
15. Корж Н.А., Дедух Н.В. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. *Стадии регенерации. Ортопедия, травматология и протезирование*. 2006; 1: 77-84.

**REFERENCES**

1. Santolini E., West R., Giannoudis P.V. Risk factors for long bone fracture nonunion: a stratification approach based on the level of the existing scientific evidence. *Injury*. 2015; 46 (Suppl. 8): S8-19. doi: 10.1016/S0020-1383(15)30049-8
2. Mills L.A., Simpson A.H.R.W. The relative incidence of fracture non-union in the Scottish population (5.17 million): a 5-year epidemiological study. *BMJ Open*. 2013; 3 (2): e002276. doi: 10.1136/bmjopen-2012-002276
3. Stanovici J., Le Nail L.-R., Brennan M.A., Vidal L., Trichet V., Rosset P., Layrolle P. Bone regeneration strategies with bone marrow stromal cells in orthopaedic surgery. *Curr Res Transl Med*. 2016; 64 (2): 83-90. doi: 10.1016/j.retram.2016.04.006
4. Iaquina M., Mazzoni E., Manfrini M., D'Agostino A., Trevisiol L., Nocini R., Trombelli L., Barbanti-Brodano G., Martini F., Tognon M. Innovative biomaterials for bone regrowth. *Int. J. f Mol. Sci*. 2019; 20: E618. doi: 10.3390/ijms20030618
5. Caplan A.I., Dennis J.E. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *J. Cell. Biochem*. 2006; 98: 1076-1084. doi: 10.1002/jcb.20886
6. Zinchenko E.V., Luzin V.I. Otsenka vliyaniya vvedeniya mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok na raznykh etapakh formirovaniya regenerata kostnoi tkani na fone naneseniya defekta bol'shebertsovykh kostei na khimicheskii sostav plechevykh kostei krys. *Morfologicheskii al'manakh imeni V.G. Koveshnikova*. 2020; 3: 3-10 (in Russian).
7. Ben-Menachem E., Cooper D.J. Hormonal and metabolic response to trauma. *Anaesthesia and intensive care medicine*. 2011; 12 (9): 409-411. doi: 10.1016/j.mpaic.2011.06.002
8. Osipov B, Emami AJ, Christiansen BA. Systemic Bone Loss After Fracture. *Clin. Rev. Bone Miner. Metab*. 2018; 16 (4): 116-30 (in Russian). doi: 10.1007/s12018-018-9253-0
9. Sveshnikov A.A., Ofitserova N.V. Radioimmunologicheskii metod v poznanii gormonal'noi regulyatsii reпаративного костеобразования. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*. 1986; 2: 67-70.
10. Dem'yanenko E.V., Solov'eva I.V., Bibik V.V., Vasilenko D.A., Golovchenko V.V., Ismailova K.R., Oberemok S.E., Pankrat'ev A.A., Pashchenko N.A., Pilavov A.M., Provizion Yu.A., Serkina A.N., Trufanov S.Yu., Trufanova M.S., Frolov I.R., Shevchuk Ya.V. Kharakteristika kul'tury mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok kostnomozgovogo proiskhozhdeniya, ee identifikatsiya, otsenka zhiznesposobnosti i proliferativnoi aktivnosti. *Morfologicheskii al'manakh imeni V.G. Koveshnikova*. 2021; 3: 57-61 (in Russian).
11. Khmel'nitskii O.K., Tret'yakova M.S. Shchitovidnaya zheleza kak ob'ekt morfometricheskogo issledovaniya. *Arkhiv patologii*. 1998; 4: 47-49 (in Russian).
12. Solov'eva I.V., Oberemok S.E. Nekotorye pokazateli organometrii nadpochechnykh zhelez pri vvedenii mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok v defekt bol'shebertsovykh kostei na 1-i stadii formirovaniya regenerata. *Morfologicheskii al'manakh imeni V.G. Koveshnikova*. 2020; 2: 89-93 (in Russian).
13. Zyablitskaya E.Yu., Stepanova O.V., Zima D.V., Makalish T.P. Morfoloicheskoe issledovanie shchitovidnoi zhelezy (raznoobrazie metodov i ikh interpretatsiya). *Gevher Nesibe Journal of Medical And Health Sciences*. 2022; 4 (4): 6-19 (in Russian).
14. Solov'eva I.V., Pankrat'ev A.A., Dem'yanenko E.V., Bibik V.V., Pashchenko N.A., Oberemok S.E., Frolov I.R. Funktsional'noe sostoyanie adenogipofiza, shchitovidnykh i nadpochechnykh zhelez posle vvedeniya mezenkhimal'nykh stvolovykh kletok na raznykh stadiyakh formirovaniya kostno-keramicheskogo regenerata. *Problemy ekologicheskoi i meditsinskoi genetiki i klinicheskoi immunologii*. 2022; 1 (169): 93-102 (in Russian).
15. Korzh N.A., Dedukh N.V. Rепаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. *Стадии регенерации. Ортопедия, травматология и протезирование*. 2006; 1: 77-84 (in Russian).