

УДК 616.72-018.3:615.361.018.5.013.8:57.043

А.К. ГУЛЕВСКИЙ*, Е.Г. ИВАНОВ

Сочетанное влияние низких температур и низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови на восстановительные процессы в хрящевой ткани

UDC 616.72-018.3:615.361.018.5.013.8:57.043

A.K. GULEVSKY*, YE.G. IVANOV

Combined Effect of Low Temperatures and Low Molecular Fraction (Below 5 kDa) of Cord Blood in Recovering Processes in Cartilage Tissue

Исследовали влияние криовоздействия, сочетанного с применением низкомолекулярной фракции (до 5кДа) кордовой крови (ФКК), на метаболизм полисахаридных компонентов матрикса и белков соединительной ткани хряща после механической травмы. Установлено, что криовоздействие, сочетанное с внутримышечным введением ФКК, существенно стимулирует накопление основных компонентов матрикса: гексозамина, гексуроновых кислот, гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфатов и гепарина, а также важнейших структурных белков в регенерате хряща, тем самым обеспечивая высокий уровень стимуляции регенерации травмированной хрящевой ткани.

Ключевые слова: криовоздействие, кордовая кровь, хрящ, гликозаминогликаны, протеогликианы, регенерация.

Вивчали вплив кріодії, поєднаної з використанням низькомолекулярної фракції (до 5 кДа) кордової крові (ФКК), на метаболізм полісахаридних компонентів матрикса та білків сполучної тканини хряща після механічної травми. Встановлено, що кріовплив разом з внутрішньом'язовим введенням ФКК, значно стимулює накопичення основних компонентів матрикса: гексозаміну, гексуронових кислот, гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфатів та гепарину, а також важливіших структурних білків у регенераті хряща, тим самим забезпечуючи високий рівень стимуляції регенерації травмованої хрящової тканини.

Ключові слова: кріовплив, кордова кров, хрящ, глікозаминогликани, протеоглікани, регенерація.

The influence of cryoeffect combined with the application of low molecular cord blood fraction (CBF) (below 5 kDa) on metabolism of polysaccharide components of the matrix and proteins of cartilage connective tissue after mechanical trauma has been studied. It has been established that cryoeffect, combined with intramuscular injection of CBF significantly stimulates the accumulation of main matrix components: hexosamine, hexuronic acids, hyaluronic acid, chondroitin sulfates and heparin as well as the most important structural proteins in cartilage regenerate, thereby providing a high level of regeneration stimulation of traumatized cartilage tissue.

Key-words: cryoeffect, cord blood, cartilage, glycosaminoglycans, proteoglycans, regeneration.

В настоящее время для стимуляции репаративной регенерации хряща при его механическом повреждении применяется криовоздействие [4–6, 20]. При этом эффективность криовоздействия обусловлена криодеструкцией пораженной ткани до уровня, который позволяет задействовать впоследствии потенциал клеток глубокого слоя хряща [5, 11, 20] с меньшей травматичностью, чем прямое хирургическое вмешательство [9, 11, 13]. Криовоздействие в большинстве случаев существенно ускоряет репаративную регенерацию поврежденного хряща и поэтому может рассматриваться как криостимуляция. Известно, что базовая скорость

Nowadays cryoapplication is used to stimulate reparative regeneration of cartilage at its mechanical damage [4–6, 20]. Herewith the efficiency of cryoeffect is stipulated by the cryodestruction of damaged tissue to the rate enabling to use later the potential of the cells of cartilage deep layer [5, 11, 20] with less traumaticity than a direct surgical invasion [9, 11, 13]. Cryoeffect in the majority of cases significantly accelerates the reparative regeneration of damaged cartilage and therefore it may be considered as cryostimulation. It is known that basic rate of reparative regeneration of cartilage tissue is determined by the intensity of tissue metabolism [9, 11, 13] and depends primarily

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.:+38
(057) 373-41-35, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта:
cryo@online.kharkov.ua

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 23,
Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373
4135, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

репаративной регенерации хрящевой ткани определяется интенсивностью тканевого метаболизма [9, 11, 13] и зависит прежде всего от метаболизма полисахаридных элементов и соединительно-тканых белков, формирующих внеклеточный матрикс этой ткани [11, 13, 14]. Как препараты, стимулирующие метаболизм вышеуказанных компонентов хрящевой ткани, в современной медицине чаще всего используются хондропротекторы: “Глюкозамина гидрохлорид”, “Хондроксид”, “Терафлекс”, “Алфлутоп”, полученные из хрящевой ткани [2, 8, 12]. На наш взгляд, перспективными в комплексном лечении травмы хряща могут быть препараты, полученные из природных источников, в частности из кордовой крови, которая обладает огромным биологическим потенциалом, обусловленным специфическим набором биомолекул, способных поддерживать и активировать клеточный метаболизм, а также их сбалансированностью [1, 3, 10]. В этом плане наиболее интересно изучение активности низкомолекулярной (до 5 кДа), выделенной из криогемолизата фракции кордовой крови (ФКК), которая по аналогии с препаратами “Актовегин” и “Солкосерил”, полученными из онтогенетически близкого источника (крови молочных телят), обладает выраженной биологической активностью [3, 10].

Цель исследования – изучение влияния криовоздействия, сочетанного с применением низкомолекулярной фракции (до 5кДа) кордовой крови коров, на содержание полисахаридных компонентов матрикса и белков соединительной ткани хряща после его механической травмы.

Материалы и методы

Выделение фракции с компонентами молекулярной массы до 5 кДа из кордовой крови крупного рогатого скота осуществлялось по методу [10].

Исследование выполнено на 45 крысах-самцах линии Wistar массой 290–310 г. Механическую травму хряща наносили по методу [15]. Животные были разделены на 3 группы: 1) здоровые животные (норма); 2) животные, не получавшие лечения (контроль); 3) животные, подвергнутые криовоздействию [15] и которым в течение 21 суток с момента моделирования механического дефекта хряща внутримышечно вводили ФКК в дозе 1,17 мг на 100 г массы тела (опыт).

Оценка состояния синтеза гликозаминогликановых, протеогликановых и белковых компонентов матрикса хряща осуществлялась на 7, 14, 21 и 28-е сутки с момента моделирования механического повреждения хряща коленного сустава: гексозамина по методу [17], гексуриновых кислот – [18], оксипролина – [19], гиалуриновой кислоты, гепарина и хондроитинсульфатов (гликозаминогликаны), а также тирозина – [14].

on metabolism of polysaccharide elements and connective tissue proteins forming extracellular matrix of this tissue [11, 13, 14]. In current medicine as metabolism-stimulating formulations of the above mentioned components the most traditional are the chondroprotectants: “Glucosamine Hydrochloride”, “Chondroxide”, “Theraflex”, “Alflutop”, derived from cartilage tissue [2, 8, 12]. From our point of view the perspective in a combined treatment of cartilage may be the preparations obtained from natural sources, in particular from cord blood, possessing a vast biological potential, stipulated with specific set of biomolecules, capable to support and activate cell metabolism, as well as by their balance [1, 3, 10]. In this aspect of most interest is study of low molecular (below 5 kDa) isolated from cryohemolysate cord blood fraction (CBF), which is similar to the preparations “Actovegin” and “Solcoseryl” obtained from ontogenetically close source (veal calf blood) possesses a manifested biological activity [3, 10].

The research aim is to investigate the influence of cryoeffect combined with the application of low molecular fraction (below 5 kDa) of bovine cord blood on the content of polysaccharide components of the matrix and proteins of cartilage connective tissue after its mechanical trauma.

Materials and methods

The fraction with the components of molecular mass below 5 kDa from cattle cord blood was isolated according to the method [10].

The research was performed in 45 Wistar male rats of 290–310 g. Mechanical trauma was done by the method [15]. The animals were divided into 3 groups: 1) healthy animals (norm), 2) non-treated animals (control), 3) animals subjected to cryoeffect [15], the ones for 21 days from the moment of modeling the mechanical defect of cartilage were intramuscularly injected with CBF in a dose of 1.17 mg per 100 g of body mass (experiment).

The synthesis of glycosaminoglycan, proteoglycan and protein components of cartilage matrix was assessed on 7, 14, 21 and 28th days for the moment of simulation of mechanical damage of knee cartilage: for hexosamine according to the method [17], hexuronic acids [18], oxyproline [19], hyaluronic acid, heparin and chondroitin sulfates (glycosaminoglycans (GAG)) as well as tyrosine [14].

The data were statistically processed by means of Microsoft Excel 2003 using Mann-Whitney test [7].

The experiments were performed in accordance with “General principles of the experiments in animals”, adopted by the 2nd National congress in bioethics (Kiev, 2004) and coordinated with the statements of “European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes” (Strasbourg, 1985).

Данные статистически обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel 2003 с использованием критерия Манна-Уитни [7].

Эксперименты проведены в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными II Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2004) и согласованными с положениями “Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985).

Результаты и обсуждение

Как известно, интенсивность регенерации хряща во многом определяется активностью хондроцитов, синтезирующих компоненты его матрикса (гексозамин, гексуроновые кислоты, гиалуроновая кислота, гепарин и хондроитинсульфаты), а также активностью фибробластов, синтезирующих волокнистую строму регенерата хряща [5, 11, 13, 14].

Сравнив динамику накопления в регенерате хряща гликозаминогликановых компонентов (хондроитинсульфатов и гепарина), можно заметить, что в результате криовоздействия, сочетанного с инъекциями ФКК, в целом происходит значительное увеличение содержания двух вышеуказанных компонентов матрикса хряща (рис. 1, а, в), причем достоверный эффект стимуляции синтеза данных компонентов в обоих случаях достигается к 21 суткам. Исключение составляет лишь высокое (для срока наблюдения 14 суток) содержание хондроитинсульфатов в опытной группе (в 6,4 раза выше, чем в контроле), хотя полная нормализация содержания хондроитинсульфатов и гепарина не наблюдается даже к 28 суткам. В группе контрольных животных содержание хондроитинсульфатов и гепарина к 28 суткам регенерации было в 2,4 и 3,2 раза ниже соответственно по сравнению с группой животных, суставной хрящ которых был подвергнут криовоздействию, сочетанному с применением ФКК.

Относительно содержания гиалуроновой кислоты в регенерате хряща эффект криовоздействия и инъекций ФКК не так выражен, но и в этом случае ее содержание на всех сроках эксперимента в среднем в 1,25 раза выше у животных опытной группы, чем у животных, не получавших лечения. Статистически достоверный эффект стимуляции синтеза гиалуроновой кислоты в регенерате хряща крыс, получавших инъекции ФКК, достигается лишь на 28 сутки исследования (рис. 1, б). К этому сроку наблюдения содержание гиалуроновой кислоты в регенерате хряща опытных животных в 1,35 раза выше по сравнению с содержанием таковой в группе животных, которых не лечили.

Results and discussion

It is known that the intensity of cartilage regeneration is mainly determined by the activity of chondrocytes, synthesizing the components of its matrix (hexosamine, hexuronic acids, hyaluronic acid, heparin and chondroitin sulfates), as well as the activity of fibroblasts, synthesizing the fibrous stroma of cartilage regenerate [5, 11, 13, 14].

During comparison of the accumulation dynamics of glycosaminoglycan components (chondroitin sulfates and heparin) in cartilage regenerate one can notice that as a result of cryoeffect combined with the injections of CBF in a whole occurs the significant rise in the content of two above mentioned components of cartilage matrix (Fig. 1a and c), meanwhile the statistically significant effect of synthesis stimulation of these components in both cases is achieved to the 21st day. The exclusion is just high (for the 14th day observation term) content of chondroitin sulfates in experimental group (in 6.4 times higher *vs.* the control), though no complete normalization of the content of chondroitin sulfates and heparin is observed to the 28th day. In the group of control animals the content of chondroitin sulfates and heparin to the 28th day of regeneration was in 2.4 and in 3.2 times lower, correspondingly if compared with the group of animals the articular cartilage of those was subjected to cryoeffect in combination with the application of CBF.

As for the content of hyaluronic acid in cartilage regenerate the influence of cryoeffect and injections of CBF is not so manifested but even in this case its content for all the experimental terms is in average in 1.25 times higher than in the animals of experimental group versus those non-treated. Statistically significant effect of stimulation of the synthesis of hyaluronic acid in rat's cartilage regenerate injected with CBF is achieved only to the 28th research day (Fig. 1b). To this observation term the content of hyaluronic acid in cartilage regenerate of experimental animals is in 1.35 times higher if compared with the content of that in the group of non-treated animals.

Other picture took place when studying the dynamics of accumulation of cartilage proteoglycan components during stimulation of healing with cryoeffect combined with CBF. When analyzing the data presented in Fig. 2a one can see that the content of hexosamine in cartilage regenerate in treated animals even to the 7th experimental day statistically and significantly did no differ from its content in the cartilage of healthy animals, and to the 28th day the amount of this component in cartilage tissue was even statistically and significantly higher than in the group of healthy animals. This fact testifies to a high level of stimulation caused with a combined application of cryoeffect and injection of CBF. At the same time in the group of non-treated

Иная картина имела место при изучении динамики накопления протеогликановых компонентов хряща при стимуляции заживления криовоздействием, сочетанным с ФКК. Анализируя данные, представленные на рис. 2, а, можно видеть, что содержание гексозамина в регенерате хряща у животных, которых лечили, уже на 7-е сутки эксперимента достоверно не отличается от его содержания в хряще здоровых животных, а на 28-е сутки количество этого компонента в хрящевой ткани даже достоверно выше, чем в группе здоровых животных. Этот факт свидетельствует о высоком уровне стимуляции, вызванной сочетанным применением криовоздействия и инъекций ФКК. В то же время в группе животных, не получавших лечения, содержание гексозамина в регенерате хряща значительно ниже, чем в хряще здоровых животных. На 7- и 14-е сутки регенерации его количество ниже, чем в хрящевой ткани здоровых животных в 3,3 и 3,4 раза, а на 21- и 28-е сутки – в 1,6 и 1,9 раза соответственно.

В последующей серии экспериментов нами была изучена динамика накопления гексуроновых

animals the content of hexosamine in cartilage regenerate was significantly lower than in the cartilage of healthy animals. To the 7th and 14th regeneration days its amount was lower versus the cartilage tissue of healthy animals in 3.3 and 3.4 times and in 1.6 and 1.9 times to the 21st and 28th days, correspondingly.

In the following series of the experiments we have studied the dynamics of accumulation of hexuronic acids in cartilage regenerate (Fig. 2b). Even to the 7th observation day the content of hexuronic acids in cartilage of animals of the experimental group was higher than in the cartilage of the control animals in 2.1 times. This ratio is true to the 14th observation day of too. After in the group of non-treated animals the level of content of hexuronic acids sharply increases and to the 21st regeneration day is just 1.1 times lower than in the cartilage regenerate of experimental animals. The accumulation dynamics of hexuronic acids in cartilage regenerate of the animals subjected to cryoeffect and injections of CBF to the 28 day statically and significantly did not differ from that in the group of non-treated animals. However it should be noted that to the 7th, 14th and 21st days of research

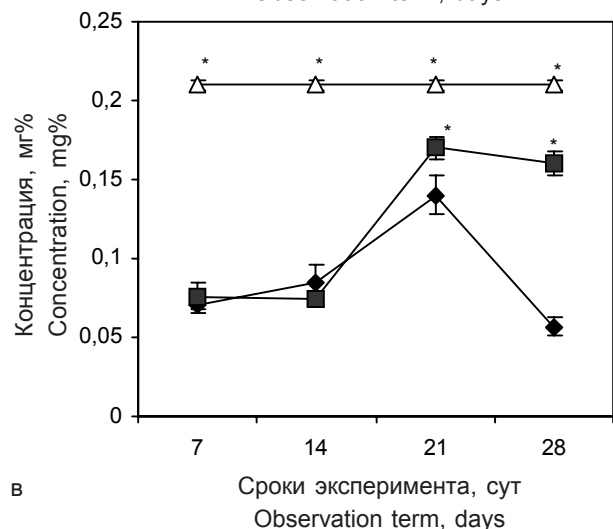
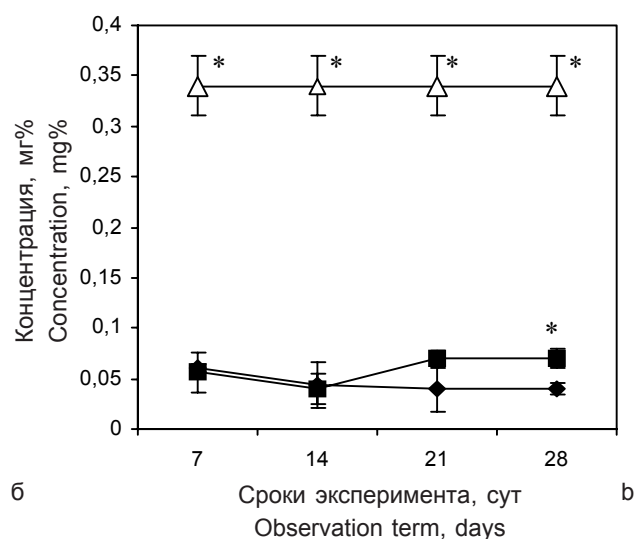
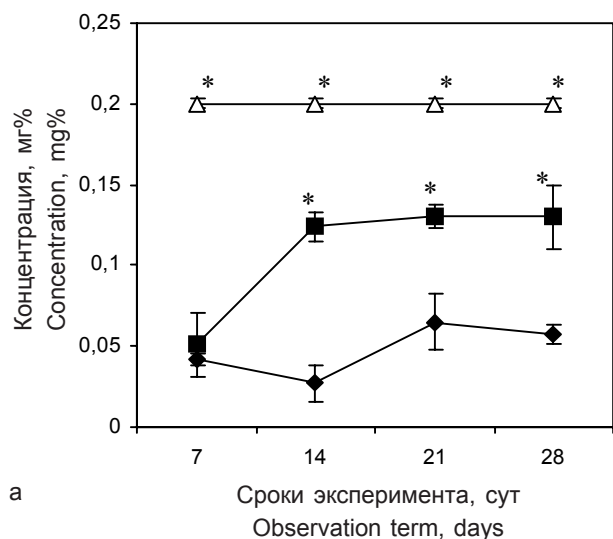


Рис. 1. Влияние криодеструкции, сочетанной с инъекциями ФКК, на содержание гликозаминогликановых компонентов матрикса хряща: а – хондроитинсульфаты; б – гиалуроновая кислота; в – гепарин; ◆ – группа животных, не получавших лечения; ■ – группа животных, получавших инъекции ФКК + криовоздействие; Δ – группа здоровых животных; * – различия статистически достоверны по сравнению с группой животных, не получавших лечения, $p < 0,05$.

Fig. 1. Effect of cryodestruction combined with injections of CBF on the content of glycosaminoglycan components of cartilage matrix: a – chondroitin sulfates; b – hyaluronic acid; c – heparin; ◆ – group of non-treated animals; ■ – group of animals injected with CBF + cryoeffect; Δ – group of healthy animals; * – differences are statistically significant, comparing with the group of non-treated animals, $p < 0.05$.

кислот в регенерате хряща (рис. 2, б). Уже к 7-м суткам наблюдения содержание гексуриновых кислот в хряще животных опытной группы выше, чем в хряще контрольных животных, в 2,1 раза. Это соотношение верно и на 14-е сутки наблюдения. В дальнейшем в группе животных, не получавших лечения, уровень содержания гексуриновых кислот резко возрастает и к 21-м суткам регенерации всего в 1,1 раза ниже, чем в регенерате хряща опытных животных. Динамика накопления гексуриновых кислот в регенерате хряща животных, получавших криовоздействие и инъекции ФКК к 28 суткам, достоверно не отличается от таковой в группе животных, не получавших лечения. Хотя следует отметить, что на 7-, 14- и 21-е сутки исследования наблюдалось повышение содержания гексуриновых кислот в опытной группе в 1,9 раза по отношению к контрольной группе. В то же время этот показатель на протяжении всего эксперимента, включая 28-е сутки после травмы хряща, даже в группе животных, подвергнутых сочетанному действию двух стимуляторов регенерации, в 2,3 раза ниже, чем в хрящевой ткани здоровых животных.

Для полноценного формирования хрящевой ткани чрезвычайно важен синтез белковых компонентов, в частности коллагеновых и неколлагеновых белков. Этот процесс можно оценить по содержанию соответственно оксипролина и тирозина в щелочном гидролизате [5, 11, 14]. На рис. 3, а можно видеть, что содержание оксипролина в хрящевой ткани опытных животных уже на 7-е сутки достоверно выше (в 2,4 раза), чем в хряще контрольных животных. Положительная динамика накопления оксипролина в регенерате хряща в группе опытных животных по сравнению с группой животных, не получавших лечения, имеет место и в последующие сроки эксперимента. На 28-е сутки наблюдения содержание оксипролина в группе животных, получавших криовоздействие, сочетанное с инъекциями ФКК, практически не отличается от содержания этой аминокислоты в хрящевой ткани здоровых животных и в то же время это значение в 1,85 раза выше, чем в группе животных, не получавших лечения.

Изучена динамика накопления тирозина в регенерате хрящевой ткани, который отражает содержание неколлагеновых белков [6, 13, 14]. Сравнивая динамику накопления тирозина в регенерате хряща опытной и контрольной групп животных, можно видеть (рис. 3, б), что на протяжении всего срока наблюдения содержание этой аминокислоты в регенерате хряща животных, получавших криовоздействие, сочетанное с инъекциями ФКК, выше в 2,4 раза уже на 7-е сутки регенерации и эта тенденция сохраняется до конца наблюдения. Вместе с тем очевидно, что даже при

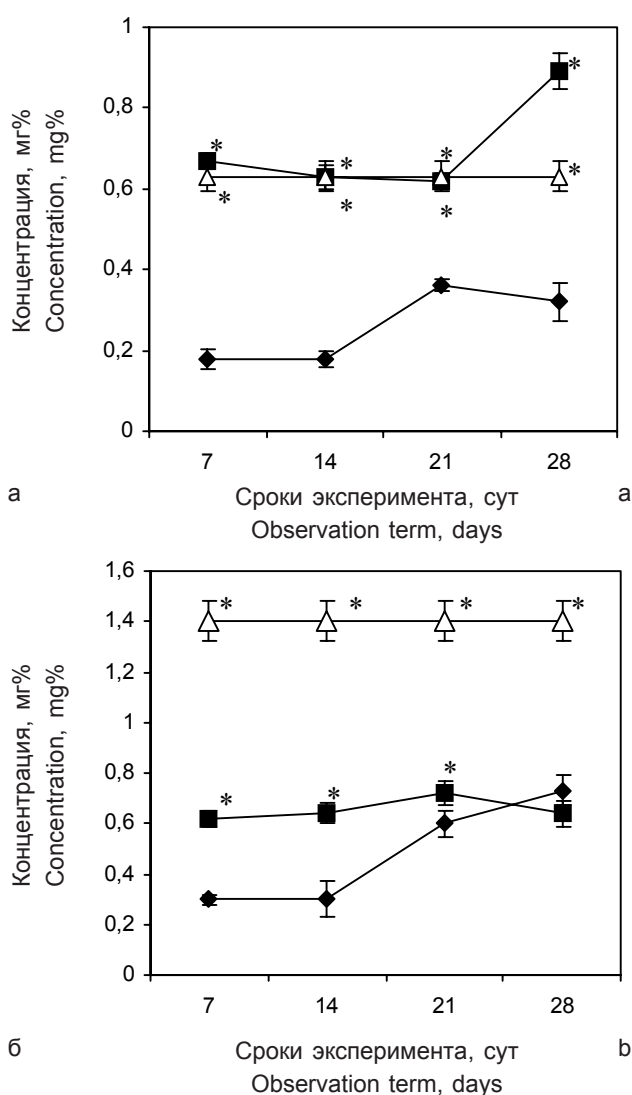


Рис. 2. Влияние криодеструкции, сочетанной с инъекциями ФКК, на содержание протеогликановых компонентов матрикса хряща: а – гексозамин; б – гексуриновые кислоты; ◆ – группа животных, не получавших лечения; ■ – группа животных, получавших инъекции ФКК + криовоздействие; △ – группа здоровых животных; * – различия статистически достоверны по сравнению с группой животных, не получавших лечения, $p < 0,05$.

Fig. 2. Effect of cryodestruction combined with the injections of CBF on the content of proteoglycan components of cartilage matrix: a – hexosamine, b – hexuronic acids; ◆ – group of non-treated animals; ■ – group of animals injected with CBF + cryoeffect; △ – group of healthy animals; * – differences are statistically significant, comparing with the group of non-treated animals, $p < 0.05$.

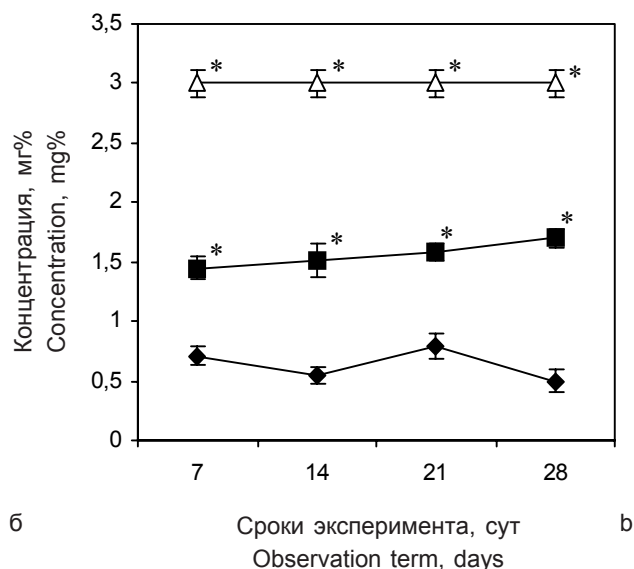
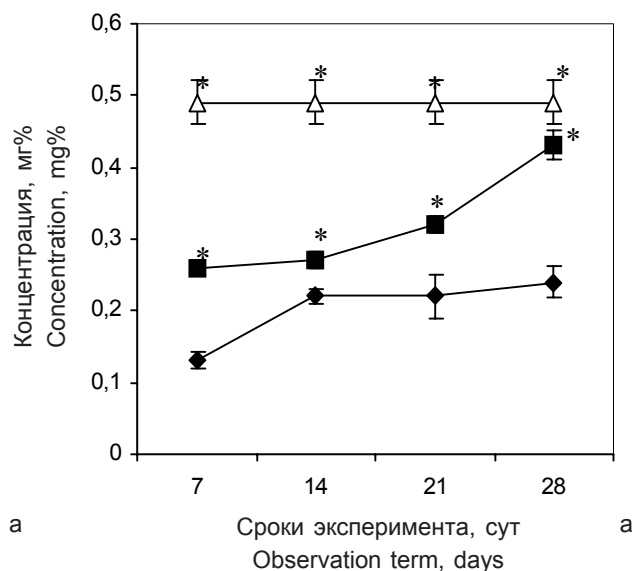
there was found a rise in the content of hexuronic acids in experimental group in 1.9 times in respect of the control group. At the same time this index within the whole experiment including the 28th day after cartilage trauma even in the group of animals subjected to a combined effect of two stimulators of regeneration, is in 2.3 times lower than in cartilage tissue of healthy animals.

For full value formation of cartilage tissue the synthesis of protein components in particular collagen

таким лечением содержание тирозина в регенерате хряща опытных животных на протяжении всего периода наблюдения ниже, чем в хряще здоровых животных в среднем в 1,9 раза.

Выводы

В результате экспериментов на крысах с механической травмой хряща установлено, что криовоздействие на хрящ, сочетанное с применением ФКК, существенно стимулирует накопление основных компонентов внеклеточного матрикса: гиалуриновой кислоты, хондроитинсульфатов, гепарина, гексозамина и гексуроновых кислот в регенерате хряща, а также важнейших аминокислот – оксипролина и тирозина, отражающих содержание коллагеновых и неколлагеновых элементов хряща, обеспечивая высокий потенциал его репаративной регенерации. Криовоздействие, сочетанное с применением ФКК, способствует репарации хряща после его механической травмы.



and non-collagen proteins is very important. This process may be estimated on the content of oxyproline and tyrosine in alkyl hydrolysate, correspondingly [5, 11, 14]. Fig. 3a shows that the content of oxyproline in cartilage tissue in experimental animals even to the 7th day is statistically and significantly higher (in 2.4 times), than in the cartilage of control animals. Positive dynamics of accumulation of oxyproline in cartilage regenerate in the group of experimental animals if compared with the one of non-treated is also found during following experimental terms. To the 28th observation day the content of oxyproline in the group of animals subjected to cryoeffect combined with the injections of CBF practically does not differ from the content of this amino acid in cartilage tissue of healthy animals and at the same time this value is 1.85 times higher than in the group of non-treated animals.

The dynamics of accumulation of tyrosine in cartilage tissue regenerate, reflecting the content of non-collagen proteins has studied [6, 13, 14]. When comparing the accumulation dynamics for tyrosine in cartilage regenerate of experimental and control groups of animals one can see (Fig. 3b) that within the whole observation term the content of this amino acid in cartilage regenerate of the animals subjected to cryoeffect combined with the injections of CBF is 2.4 times higher even to the 7th regeneration day and this tendency is kept to the end of observation. Along with this it is evident that even during such a treatment the content of tyrosine in cartilage regenerate of experimental animals during the whole period of observation was lower than in that of healthy animals in average in 1.9 times.

Conclusions

The experiments in rats with mechanical trauma of cartilage showed that cryoeffect on cartilage combined with the application of CBF strongly stimulates the accumulation of main components of extracellular matrix: hyaluronic acid, chondroitin sulfates, heparin, hexosamine and hexuronic acids in cartilage regenerate, as well as the important aminoacids (oxyproline and tyrosine), reflecting the content of collagen and non-collagen elements of cartilage, by providing a high

Рис. 3. Влияние криодеструкции, сочетанной с инъекциями ФКК, на содержание белковых компонентов матрикса хряща: а – оксипролин; б – тирозин; ◆ – группа животных, не получавших лечения, ■ – группа животных, получавших инъекции ФКК + криовоздействие; △ – группа здоровых животных; * – различия статистически достоверны по сравнению с группой животных, не получавших лечения, $p < 0,05$.

Fig. 3. Effect of cryodestruction combined with the injections of CBF on the content of protein components of cartilage matrix: a – oxyproline; b – tyrosine; ◆ – group of non-treated animals; ■ – group of animals injected with CBF + cryoeffect; △ – group of healthy animals; * – differences are statistically significant, comparing with the group of non-treated animals, $p < 0.05$.

Литература

1. *Абакумова О.С., Моисеева Н.М.* Противовиразкова дія ліофілізованої фракції до 5 кДа кордової крові // Збірник тез міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів „Молодь та поступ біології”. – 2007. – С. 463–464.
2. *Бур'янов О.А.* Вивчення хондропротекторної дії та оцінка клінічної ефективності “Алфлутопу” при лікуванні хворих на остеоартроз колінного суглоба // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2007. – №2. – С. 62–65.
3. *Гулевський О.К.* Властивості і перспективи використання кордової крові в клінічній практиці // Укр. журн. гематології та трансфузіології. – 2005. – №4. – С. 5–14.
4. *Демичев Н.П.* Практика криохірургического лечения патологических переломов // Материалы Рос. научно-практической конференции “Новые технологии в ортопедии и травматологии”. – Курган, 2006. – С. 145–147.
5. *Дианов С.В.* Структурные изменения хрящеобразных опухолей костей при криовоздействии // Морфологические ведомости. – 2007. – №2. – С. 10–12.
6. *Дианов С.В.* Криодеструкция и аллопластика при лечении доброкачественных костных опухолей: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Саратов, 2008. – 34 с.
7. *Лалач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев: Морион, 2000. – 320 с.
8. *Лила А.М., Мазуров В.П., Шостак М.С.* Терафлекс в комплексной терапии остеоартроза коленных суставов и остеохондроза позвоночника (результаты клинических исследований) // Рос. мед. журн. – 2005. – Т. 13, №24. – С. 1618–1622.
9. *Малышкина С.В.* Структурно-метаболические изменения суставного хряща после локального криовоздействия: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Харьков, 1985. – 22 с.
10. *Моисеева Н.Н., Трифонова А.В., Тягилева В.П. и др.* Ранозаживляющее и актопротекторное действие лиофилизированной сыворотки кордовой крови // Збірник тез міжвузівської конференції молодих вчених “Медицина третього тисячоліття”. – 2006. – С. 15–16.
11. *Павлова В.Н., Копьева Т.Н., Слуцкий Л.И. и др.* Хрящ. – М.: Медицина, 1988. – 320 с.
12. *Поворознюк В.В.* Остеопороз: Современные принципы лечения // Новости медицины и фармации. – 2003. – №4. – С. 10–13.
13. *Riggs B.L., Melton L.J.* Osteoporosis. – М.: Бином, 2000. – 560 с.
14. *Слуцкий Л.И.* Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – Л.: Медицина, 1969. – 376 с.
15. *Pat. 42133 Україна, МПК G 09 B 23/00.* Спосіб моделювання механічного міжвиросткового дефекту суглобного хряща // О.К. Гулевський, Г.В. Иванов, Є.Г. Иванов; № 2009 00367; Заявл. 19. 01. 2009; Опубл. 25. 06. 2009, Бюл. №12.
16. *Adzick N.S., Strome M., Gang D., Donahoe P.K.* Cryotherapy of subglottic hemangioma // J. Pediatric Surg. – 1984. – Vol. 19, N4. – P. 353–357.
17. *Boas N.P.* Method for the determination of hexosamines in tissues // J. Biol. Chem. – 1953. – Vol. 204, N4. – P. 553–563.
18. *Dische Z.* A new specific color reaction of hexuronic acid // J. Biol. Chem. – 1946. – Vol. 167, N2. – P. 189–198.
19. *Stegemann H., Stalder K.* Determination of hydroxiprolin // Clin. Chim. Acta. – 1967. – Vol. 18, N1. – P. 267–273.
20. *Zaffagnini S.* Effect of arthroscopy and conditions cryotherapy on the intra-articular temperature of the knee // Arthroscopy. – 2005. – Vol. 2, N21. – P. 552–556.

Поступила 17.03.2009
Рецензент Н.А. Волкова

potential of its reparative regeneration. Cryoeffect combined with the application of CBF contributes to cartilage reparation after its mechanical trauma.

References

1. *Abakumova O.S., Moiseyeva N.M.* Antiulcer effect of frozen-dried cord blood fraction below 5 kDa // Proc. of the reports of International scientific conference of the students and post-graduate students “Youth and biology advance”. – 2007. – P. 463–464.
2. *Buryanov O.A.* Study of chondroprotective effect and assessment of clinical efficiency of “Alflutop” when treating patients with knee osteochondrosis // Orthopaediya, Travmatologiya i Protezirovaniye. – 2007. – N2. – P. 62–65.
3. *Gulevsky A.K.* Properties and perspective of cord blood use in clinical practice // Ukr. Zhurn. Hematologii ta Transfuziologii. – 2005. – N4. – P. 5–14.
4. *Demichev N.P.* Practice of cryosurgical treatment of pathological fractures // Proc. of Russian Scientific and Practical Conference “Novel technologies in orthopaedia and traumatology”. – Kurgan, 2006. – P. 145–147.
5. *Dianov S.V.* Structural changes of cartilage-like tumors of bones under cryoeffect // Morfologicheskie vedomosti. – 2007. – N2. – P. 10–12.
6. *Dianov S.V.* Cryodestruction and alloplastics when treating non-malignant bone tumors: Author's abstract of the thesis of candidate of medical sciences. – Saratov, 2008. – 34 p.
7. *Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N.* Statistical methods in medical and biological research using Excel. – Kiev: Morion, 2000. – 320 p.
8. *Lila A.M., Mazurov V.P., Shostak M.S.* Theraflex in combined therapy of osteoarthritis of knee joints and spine osteochondrosis (clinical research results) // Ros. Med. Zhurn. – 2005. – Vol. 13, N24. – P. 1618–1622.
9. *Malyshkina S.V.* Structural and metabolic changes in articular cartilage after local cryoeffect: Author's abstract of the candidate of biological sciences. – Kharkov. – 1985. – 22 p.
10. *Moiseyeva N.N., Trifonova A.V., Tyagileva V.P. et al.* Wound healing and actoprotective effect of frozen-dried cord blood serum // Proc. of the reports of the conference of young scientists “Medicine of the third century”. – 2006. – P. 15–16.
11. *Pavlova V.N., Kopieva T.N., Slutsky L.I. et al.* Cartilage. – Moscow: Meditsina. – 1988. – 320 p.
12. *Povoroznyuk V.V.* Osteoporosis: modern principles of treatment // Novosti Meditsyny i Farmatsii. – 2003. – N4. – P. 10–13.
13. *Riggs B.L., Melton L.J.* Osteoporosis. – Moscow: Binom, 2000. – 560 p.
14. *Slutsky L.I.* Biochemistry of normal and pathologically altered connective tissue. – Leningrad: Meditsina, 1969. – 376p.
15. *Patent 42133 Ukraine, IPC G 09 B 23/00.* The method of modeling mechanical defect of articular cartilage // O.K. Gulevsky, G.V. Ivanov, Ye.G. Ivanov; N 2009 00367; Appl. 19.01.2009; Publ. 25.06.2009, Bul. N12.
16. *Adzick N.S., Strome M., Gang D., Donahoe P.K.* Cryotherapy of subglottic hemangioma // J. Pediatric Surg. – 1984. – Vol. 19, N4. – P. 353–357.
17. *Boas N.P.* Method for the determination of hexosamines in tissues // J. Biol. Chem. – 1953. – Vol. 204, N4. – P. 553–563.
18. *Dische Z.* A new specific color reaction of hexuronic acid // J. Biol. Chem. – 1946. – Vol. 167, N2. – P. 189–198.
19. *Stegemann H., Stalder K.* Determination of hydroxiprolin // Clin. Chim. Acta. – 1967. – Vol. 18, N1. – P. 267–273.
20. *Zaffagnini S.* Effect of arthroscopy and conditions cryotherapy on the intra-articular temperature of the knee // Arthroscopy. – 2005. – Vol. 2, N21. – P. 552–556.

Accepted in 17.03.2009