БИОФИЗИКА, 2022, том 67, № 4, с. 776–782

БИОФИЗИКА СЛОЖНЫХ СИСТЕМ

УДК 577.334+602.6:59+616-092

ИЗМЕНЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ КРОВИ ПРИ ТЕРАПИИ ТРАВМЫ АХИЛЛОВА СУХОЖИЛИЯ У КРЫС МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ

© 2022 г. С.В. Пинчук*, #, И.Б. Василевич*, А.Ю. Молчанова, А.А. Басалай**, И.Д. Волотовский***

**Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, ул. Академическая, 27, Минск, 220072, Республика Беларусь*

#E-mail: pinchuksv@mail.ru

***Институт физиологии НАН Беларуси, ул. Академическая, 28, Минск, 220072, Республика Беларусь*

Поступила в редакцию 28.02.2022 г.
После доработки 14.04.2022 г.
Принята к публикации 19.04.2022 г.

Проведено исследование динамики окислительного стресса в организме крыс после механической травмы (повреждение ахиллова сухожилия) и влияния на данный процесс мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани после их локальной инъекции в область повреждения. Полученные результаты свидетельствуют о развитии окислительного стресса в организме животных в посттравматический период, что проявляется в увеличении содержания в крови продуктов перекисного окисления липидов, изменении средней интенсивности аутофлуоресценции эритроцитов по данным проточной цитофлуориметрии, увеличении общей антиоксидантной активности плазмы крови. Полученные результаты указывают на то, что мезенхимальные стволовые клетки оказывают защитное действие при развитии окислительного стресса, что позволяет сбалансировать ответ организма на усиление окислительных повреждений и расширяет сведения о механизмах терапевтического действия стволовых клеток при лечении травм.

Ключевые слова: травма ахиллова сухожилия, окислительный стресс, мезенхимальные стволовые клетки, клеточная терапия.

DOI: 10.31857/S0006302922040160, **EDN:** IUVDBD

Результаты применения стволовых клеток в клинической практике, полученные отечественными и зарубежными учеными в последнее десятилетие, убедительно свидетельствуют о высоком потенциале методов клеточной терапии в лечении заболеваний человека и животных [1, 2]. Наиболее широкое применение получили биомедицинские клеточные продукты на основе мезенхимальных стволовых клеток (МСК), выделенных из различных тканей, прежде всего жировой ткани, костного мозга, ткани пуповины [3, 4]. Это обусловлено доступностью донорского материала, высокой пролиферативной активностью МСК в условиях *in vitro*, отработанными методами культивирования и анализа их функционального состояния. Терапевтическое действие МСК связывают со способностью данных клеток дифференцироваться в соматические клетки тканей и органов, а также с осуществлением ими паракринной активности – синтезом во внеклеточную среду цитокинов и ростовых факторов, оказывающих противовоспалительное, антиапоптотическое, иммуномодулирующее, стимулирующее пролиферацию действие, способствуя тем самым восстановлению клеточного пула функционально активных клеток в очаге повреждения [3, 4].

В ряде исследований показано, что применение МСК снижает развитие окислительного стресса в организме экспериментальных животных после моделирования у них патологических состояний: колитов [5–7], инсульта [8], дисфункции печени [9, 10] и почек [11], астмы [12], а также при действии ионизирующего излучения [13]. Предполагается, что МСК способны оказывать

Сокращения: МСК – мезенхимальные стволовые клетки, АФК – активные формы кислорода, ПОЛ – перекисное окисление липидов, ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота, ОАА – общая антиоксидантная активность, ABTS – 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота).

регуляторное действие на прооксидантно/антиоксидантный баланс в клетках в условиях активации окислительных повреждений клеточных компонентов. Однако роль данного возможного механизма терапевтического действия МСК практически не изучена, в частности, не известен спектр патологий, при которых он проявляется. Вместе с тем, очевидно, что более полное представление о механизмах действия МСК при различных патологиях имеет важное значение для совершенствования методов клеточной терапии (определение оптимальных доз клеточного материала, кратности инъекций, временных интервалов между инъекциями и др.).

Проведенные многочисленные исследования убедительно свидетельствуют, что окислительный стресс лежит в основе развития многих патологических состояний человека и животных, является причиной прогрессирования их осложнений, сопровождается усилением воспалительных реакций и снижением репаративных процессов в организме. Развитие окислительного стресса обусловлено интенсификацией свободно-радикальных повреждений липидов, белков и ДНК в клетках, что в конечном итоге способно приводить к снижению их функциональной активности и, как следствие, к нарушению функционирования тканей и органов. Важная роль окислительного стресса показана в патогенезе онкологических, сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний, при диабете, болезнях печени и почек и др. [14, 15]. Имеются данные об участии окислительного стресса в патогенезе травм опорно-двигательного аппарата, в том числе сухожилий. На экспериментальных животных показано, что травмирование ахиллова сухожилия приводит к увеличению содержания активных форм кислорода (АФК) в сыворотке крови [16], росту количества продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижению концентрации восстановленного глутатиона в тканях сухожилия [17–19]. В условиях стимуляции окислительного стресса (локальная инъекция перекиси водорода) эффективность восстановления экспериментально травмированного сухожилия снижается и наблюдаются изменения, характерные для развития тендинопатии [20]. Напротив, применение таких антиоксидантов как кверцетин или аскорбат оказывает позитивное влияние на процесс восстановления травмированного сухожилия [18, 19].

Повреждения сухожилий и связок составляют около 50% всех травм мышечно-скелетной системы и являются одной из основных причин развития болевых синдромов и физической недееспособности, оказывая тем самым крайне негативное влияние на физическое состояние пациентов [21, 22]. Для терапии таких заболеваний в настоящее время в основном применяются методы консервативного лечения и хирургические вмешательства. Однако при их использовании заживление сухожилий, как правило, происходит очень медленно, а поврежденные ткани не могут полностью восстановиться до их естественного состава, структуры и механических свойств, что ведет к ухудшению функционирования сухожилия и возрастанию риска повторных травм [23]. В последнее время появились обнадеживающие данные о перспективности применения в лечении повреждений сухожилий МСК [24, 25]. Проведенные нами ранее исследования [26] показали, что применение МСК при лечении травмированного ахиллова сухожилия у экспериментальных животных (крысы) оказывает положительное влияние на восстановление поврежденной ткани, сопровождается проявлением выраженного антиноцицептивного действия. Целью данной работы являлось исследование развития окислительного стресса в организме крыс после травмирования ахиллова сухожилия и влияние на данный процесс клеточной терапии на основе МСК жировой ткани.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на половозрелых белых крысах-самцах линии Wistar массой 230–250 г. Моделирование травмы ахиллова сухожилия осуществляли хирургическим путем в Институте физиологии НАН Беларуси, как описано ранее [26].

Животные были разделены на следующие группы: группа I – крысы с травмой ахиллова сухожилия без лечения ($n = 24$); группа II – крысы с травмой ахиллова сухожилия, которым провели однократную трансплантацию МСК в область травмы ($n = 24$); группа III – интактные животные ($n = 6$).

Выделение, культивирование и характеристику функционального состояния МСК из жировой ткани крыс проводили согласно использованным ранее методам [27]. Введение суспензии МСК осуществляли в условиях седации животного локально в область травмы на первые сутки после нанесения механической травмы ахиллова сухожилия в дозе 250000 клеток на животное.

Перекисное окисление липидов в крови животных оценивали по образованию продуктов, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Концентрацию ТБК-активных продуктов оценивали спектрофотометрически, принимая величину коэффициента молярной экстинкции при $\lambda = 535$ нм равной $1.56 \cdot 10^5$ $М^{-1}см^{-1}$.

Для измерения интенсивности автофлуоресценции эритроцитов 5 мкл цельной крови разводили в 3.5 мл изотонического фосфатно-солевого буфера (pH 7.4). Суспензию клеток анализировали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II

(Becton Dickinson and Company, США), выделяли гейт эритроцитов на диаграмме прямого/бокового рассеивания и определяли интенсивность флуоресценции эритроцитов в канале FITC. Среднюю интенсивность автофлуоресценции оценивали по результатам анализа 30000 клеток.

Общую антиоксидантную активность (ОАА) плазмы крови определяли по обесцвечиванию катион-радикала 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты) (ABTS) [28]. Образование радикала индуцировали инкубацией данного соединения (7 мМ) в дистиллированной воде в присутствии персульфата калия (2.45 мМ) в течение 10 ч при комнатной температуре. Полученный препарат разводили в 0.02 М натрий-фосфатном буфере (pH 7.3) до получения рабочего раствора с оптической плотностью при 734 нм, равной 0.70 ± 0.01. К 1.5 мл рабочего раствора добавляли 10 мкл плазмы крови и регистрировали кинетику обесцвечивания радикала ABTS в течение 10 с [29] с использованием спектрофлуориметра CM2203 (SOLAR, Беларусь). ОАА выражали в единицах концентрации антиоксиданта тролокса.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программы Microsoft Excel с определением среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего. Статистическую значимость между отдельными экспериментальными группами определяли с помощью непарного *t*-критерия Стьюдента, принимая значение $P < 0.05$ как статистически достоверное различие.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Окислительный стресс в биологических системах индуцируется действием АФК, представляющих собой высоко реакционноспособные соединения, вызывающих окислительные повреждения биологически важных молекул в клетках: нуклеиновых кислот, белков и липидов. Вместе с тем образование АФК в клетках необходимо для реализации ряда важных физиологических процессов и в условиях нормы происходит в определенном диапазоне концентраций, что обеспечивается функционированием антиоксидантной системы. Сохранение баланса между скоростью образования АФК, их нейтрализацией и восстановлением окисленных продуктов является важнейшим условием для обеспечения функционирования клеток. Нарушение окислительно-антиоксидантного баланса может существенно увеличить содержание АФК в клетках, что ведет к окислительным повреждениям клеточных компонентов и, как следствие, к развитию окислительного стресса.

В общем, окислительный стресс представляет собой сложный, многофакторный процесс, а адекватная его оценка является непростой задачей. Ситуация осложняется тем, что в организме неизбежно запускаются ответные реакции по компенсации неблагоприятного воздействия окислительного стресса. Для оценки развития окислительного стресса регистрируют так называемые маркеры данного процесса. В качестве таких маркеров используют содержание в клетках и тканях продуктов окислительной модификации биомолекул, активность системы антиоксидантной защиты или ее компонентов, оценку функционального состояния клеток и др. [30]. В нашей работе для оценки протекания окислительного стресса в организме экспериментальных животных использовались следующие маркеры: содержание продуктов ПОЛ в крови, интенсивность флуоресценции эритроцитов, общая антиоксидантная активность плазмы крови. Такой подход позволяет охарактеризовать окислительный стресс как на молекулярно-клеточном уровне, так и оценить реакцию на него организма в целом.

Исследование содержания продуктов перекисного окисления липидов в крови экспериментальных животных. Определение содержания в крови продуктов ПОЛ, реагирующих с ТБК (ТБК-продукты), является одним из наиболее часто используемых подходов к мониторингу развития окислительного стресса в организме [30]. Проведенные нами исследования показали, что моделирование травмы ахиллова сухожилия приводит к увеличению содержания в крови экспериментальных животных данных продуктов. Как видно из рис. 1, количество ТБК-продуктов увеличивается более чем в два раза через неделю после моделирования и составляет 0.28 ± ± 0.03 мкмоль/л крови, тогда как у контрольных животных данный показатель равен 0.11 ± 0.02 мкмоль/л. Через две недели наблюдений количество ТБК-продуктов возрастает до 0.33 ± ± 0.04 мкмоль/л и далее постепенно снижается, приближаясь через четыре недели к значениям контрольных животных (0.19 ± 0.02 мкмоль/л). Эти данные указывают на увеличение окислительных повреждений липидов и свидетельствуют в пользу развития окислительного стресса в организме животных в результате моделирования травмы ахиллова сухожилия. Окислительная модификация липидов имеет важнейшее значение в проявлении негативных последствий окислительного стресса. Окисление липидов ведет к нарушению целостности мембран клеток и снижению их барьерных свойств, изменению активности мембранно-ассоциированных белков, функционирования липопротеиновых комплексов. Сами продукты окисления липидов (малоновый диальдегид) могут оказывать токсическое действие на клетки.

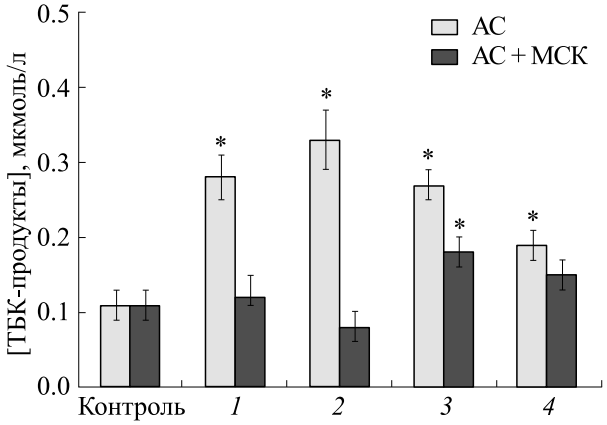

Рис. 1. Содержание ТБК-продуктов в крови крыс в разные сроки после травмы ахиллова сухожилия без (светлые столбики) и с инъекцией МСК (темные столбики). Период наблюдения после моделирования травмы: *1* – 1 неделя, *2* – 2 недели, *3* – 3 недели, *4* – 4 недели; * – $p < 0.05$ относительно интактного контроля.

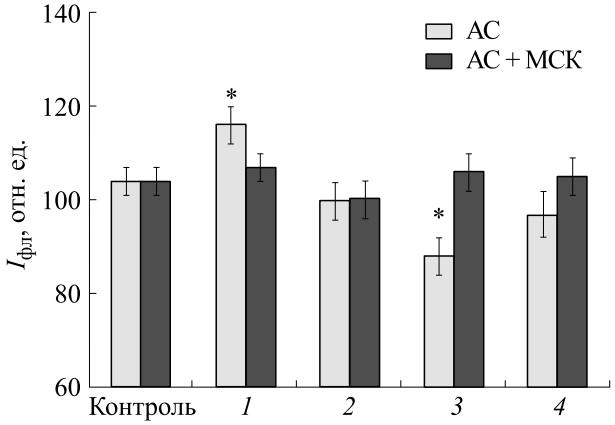

Рис. 2. Средняя интенсивность автофлуоресценции в канале FITC проточного цитофлуориметра эритроцитов крови крыс в разные сроки после травмы ахиллова сухожилия без (светлые столбики) и с инъекцией МСК (темные столбики). Период наблюдения после моделирования травмы: *1* – 1 неделя, *2* – 2 недели, *3* – 3 недели, *4* – 4 недели; * – $p < 0.05$ относительно интактного контроля.

Измерение содержания продуктов ПОЛ в крови животных с травмированным ахилловым сухожилием и получивших инъекцию МСК в дозе 250000 клеток показало, что в течение первых двух недель посттравматического периода (время интенсивного роста продуктов ПОЛ в крови травмированных крыс без клеточной терапии) данный параметр практически не изменяется и соответствует значениям для контрольной группы (рис. 1). Через три и четыре недели наблюдения содержание продуктов ПОЛ несколько возрастает, но остается ниже по сравнению с травмированными животными без введения клеток. Эти данные указывают на то, что в результате введения МСК окислительные повреждения липидов в ответ на травму ахиллова сухожилия, которые наблюдаются у травмированных животных без инъекции клеток, резко снижаются.

Исследование интенсивности автофлуоресценции эритроцитов крови экспериментальных животных. Эритроциты представляют собой основную клеточную фракцию крови, при этом данные клетки проявляют высокую чувствительность к окислительному воздействию. В частности, показано, что интенсивность автофлуоресценции эритроцитов в зеленой области (530 нм), измеренная методом проточной цитофлуориметрии при использовании синего лазера (488 нм) для возбуждения, увеличивается при развитии окислительного стресса в клетках [31, 32]. В экспериментах на мышах установлено, что популяция молодых эритроцитов (до 40 дней) характеризуется значительно более низкой (в полтора-два раза) интенсивностью автофлуоресценции по сравнению с популяцией старых эритроцитов [33]. Хромофорами данной флуоресценции выступают продукты окисления липидов и белков [32, 34]. Как видно из представленных на рис. 2 данных, интенсивность автофлуоресценции эритроцитов изменяется после моделирования травмы ахиллова сухожилия. У контрольных животных данный показатель составляет 104 ± 3 отн. ед. Через неделю после моделирования интенсивность автофлуоресценции при том же режиме измерения возрастает до 116 ± 4 отн. ед. Однако далее она снижается и через три недели принимает минимальное значение (88 ± 4 отн. ед.). К концу периода наблюдения интенсивность автофлуоресценции повышается. Рост интенсивности автофлуоресценции через неделю после моделирования указывает на увеличение в эритроцитах продуктов окислительной модификации белков и липидов и свидетельствует в пользу развития окислительного стресса в данных клетках. Наблюдаемое далее снижение интенсивности, очевидно, является следствием изменения популяционного состава эритроцитов, отличающихся интенсивностью флуоресценции. Можно полагать, что в результате развития окислительного стресса в период более одной недели после моделирования травмы ахиллова сухожилия происходит ускорение элиминации старых эритроцитов из крови из-за накопившихся до критического уровня окислительных повреждений в данных клетках. В пользу такого предположения свидетельствуют данные о снижении содержания эритроцитов в крови экспериментальных животных через две недели после формирования травмы ахиллова сухожилия на 7.5% и восстановление к исходному уровню к концу периода наблюдения. Очевидно,

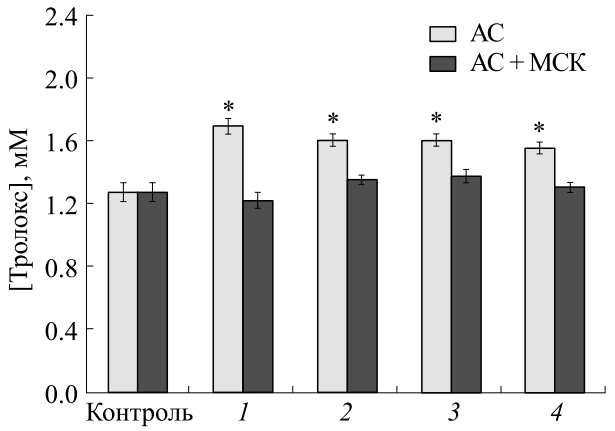

Рис. 3. Общая антиоксидантная активность в эквиваленте концентрации тролокса плазмы крови крыс в разные сроки после травмы ахиллова сухожилия без (светлые столбики) и с инъекцией МСК (темные столбики). Период наблюдения после моделирования травмы: *1* – 1 неделя, *2* – 2 недели, *3* – 3 недели, *4* – 4 недели; * – $p < 0.05$ относительно интактного контроля.

что ускорение элиминации старых эритроцитов приведет к росту в крови доли молодых и снижению средней интенсивности автофлуоресценции в общем пуле клеток. Кроме этого, снижение концентрации эритроцитов в крови может стимулировать эритропоэз, что приведет к еще большему росту доли молодых эритроцитов в крови и еще большему снижению средней интенсивности автофлуоресценции. Снижение оказалось максимальным на третьей неделе посттравматических наблюдений – средняя интенсивность автофлуоресценции эритроцитов травмированных животных оказалась даже ниже, чем у интактных.

Изменение интенсивности автофлуоресценции эритроцитов крови травмированных крыс после введения МСК имеет похожую динамику с изменениями данного параметра у экспериментальных животных без инъекции клеток, однако величина данных изменений значительно ниже. Как видно из рис. 2, через неделю после травмирования ахиллова сухожилия средняя интенсивность автофлуоресценции эритроцитов имеет лишь тенденцию к росту (107 ± 3 отн. ед.). Минимальная интенсивность наблюдалась через две недели после травмирования (100 ± 4 отн. ед.). В более поздний посттравматический период интенсивность аутофлуоресценции практически соответствовала значениям для контрольных животных. Эти результаты показывают, что после введения МСК в крови травмированных животных окислительные повреждения эритроцитов менее выражены, а элиминация старых эритроцитов снижена.

Исследование ОАА плазмы крови экспериментальных животных. Важной характеристикой состояния организма, особенно при протекании патологических процессов, индуцирующих окислительный стресс, является активность системы антиоксидантной защиты, т.е. способность тканей и органов противостоять повреждающему действию АФК. Для характеристики антиоксидантной системы крови экспериментальных животных проведено исследование по определению ОАА плазмы крови по ее способности дезактивировать катион-радикал ABTS+. Данный радикал можно получить в лабораторных условиях инкубацией ABTS в присутствии персульфата калия [28]. Особенностью радикала является его относительно высокая стабильность в водных растворах в отсутствие восстановителей, а также оптическая активность в видимом диапазоне, что позволяет определять его концентрацию, регистрируя оптическую плотность стандартными фотометрами. Наиболее часто измерение проводят при длине волны 734 нм, при которой элементы крови оптически неактивны. При добавлении в растворы ABTS+ плазмы крови или таких присутствующих в крови и проявляющих антиоксидантную активность соединений, как токоферол, аскорбат, восстановленный глутатион, билирубин наблюдается обесцвечивание раствора, свидетельствующее о дезактивации радикала [35]. Проведенные нами измерения показали, что ОАА плазмы крови контрольных животных составляет 1.27 ± 0.06 ммоль/л в эквиваленте концентрации тролокса – водорастворимого аналога антиоксиданта α-токоферола. Полученное значение коррелирует с ОАА плазмы крови человека, измеренной с использованием данного метода [35]. В крови животных с моделированной травмой ОАА плазмы увеличивается: через неделю после травмирования активность составляет 1.69 ± 0.05 ммоль/л и далее снижается до 1.55 ± 0.04 ммоль/л к концу периода наблюдения. Увеличение ОАА в крови наблюдается и при других патологических состояниях, сопровождающихся развитием окислительного стресса [36, 37]. Предполагается, что увеличение активности системы антиоксидантной защиты в крови или других тканях при развитии окислительного стресса является ответной реакцией организма, направленной на сдерживание интенсификации окислительных повреждений [38]. Однако следует отметить, что направленность и масштаб изменения активности антиоксидантной системы зависит от вида патологии, интенсивности развития окислительного стресса, длительности его протекания и других факторов.

Определение ОАА плазмы крови у травмированных животных, получивших инъекцию МСК, показало, что данный параметр, как и содержание продуктов ПОЛ в крови и интенсивность флуоресценции эритроцитов, мало изменяется в период наблюдения и остается близкой к ОАА контрольных животных (рис. 3). Полученные результаты указывают на то, что МСК оказывают

защитное действие при развитии окислительного стресса после травмы ахиллова сухожилия, что позволяет сбалансировать ответ организма на усиление окислительных повреждений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о развитии окислительного стресса в организме животных после формирования травмы ахиллова сухожилия. Это проявляется в увеличении содержания в крови продуктов ПОЛ, изменении средней интенсивности автофлуоресценции эритроцитов в зеленой области спектра, увеличении общей антиоксидантной активности в плазме крови в посттравматический период. Применение МСК при экспериментальной травме ахиллова сухожилия в виде локальной инъекции в область повреждения оказывает защитное действие от развития окислительного стресса и позволяет оптимизировать реакцию организма в ответ на интенсификацию окислительных процессов. Эффект проявляется в снижении индуцированных травмированием накопления ТБК-активных продуктов ПОЛ в крови, изменений интенсивности автофлуоресценции эритроцитов и ОАА плазмы крови. В целом полученные результаты расширяют имеющиеся сведения о механизмах терапевтического действия стволовых клеток при лечении патологических состояний травматической этиологии.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с экспериментальными животными проведены в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в научных исследованиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. D. E. Rodríguez-Fuentes, L. E. Fernández-Garza, J. A. Samia-Meza, et al., Arch. Med. Res., **52** (1), 93 (2021).
2. Н. И. Костюк, С. В. Пинчук, И. Б. Василевич и др., Экология и животный мир, **1**, 70 (2020).
3. A. Andrzejewska, B. Lukomska, and M. Janowski, Stem Cells, **37** (7), 855 (2019).
4. R. M. Samsonraj, M. Raghunath, V. Nurcombe, et al., Stem Cells Transl. Med., **6** (12), 2173 (2017).
5. T. Sun, G. Z. Gao, R. F. Li, et al., Am. J. Transl. Res., **7** (5), 891 (2015).
6. F. C. Goncalves, M. Grings. N. S. Nunes, et al., Biotechnol. Lett., **39** (4), 613 (2017).
7. M. Inan, E. Bakar, A. Cerkezkayabekir, et al., J. Pediatr. Surg., **52** (7), 1196 (2017).
8. M. L. Calió, D. S. Marinho, G. M. Ko, et al., Free Radic. Biol. Med., **70,** 141 (20140.
9. M. Ayatollahi, Z. Hesami, A. Jamshidzadeh, and B. Gramizadeh, Int. J. Organ Transplant. Med., **5** (4), 166 (2014).
10. Y. Ge, Q. Zhang, Z. Jiao, et al., Life Sci., **214**, 62 (2018).
11. F. Zahran, A. Nabil, A. E. Karef, et al., J. Stem Cell Res. Ther., **1** (4), 150 (2016).
12. M. Malaquias, L. Oyama, P. Jericó, et al., Allergol. Immunopathol., **46** (2), 136 (2018).
13. Y. Shen, X. Jiang, L. Meng, et al., Oxid. Med. Cell Longev., **2018**, 5942916 (2018).
14. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, et al., Int. J. Biochem. Cell Biol., **39** (1), 44 (2007).
15. A. Phaniendra, D. B. Jestadi, and L. Periyasamy Indian J. Clin. Biochem., **30** (1), 11 (2015).
16. P. Li, H. Zhou, T. Tu, and H. Lu, J. Orthop. Surg. Res., **16** (1), 293 (2021).
17. L. I. Fillipin, J. L. Mauriz, K. Vedovelli, et al., Lasers Surg. Med., **37** (4), 293 (2005).
18. L.-K. Hung, S.-C. Fu, Y.-W. Lee, et al., J. Bone Joint Surg. Am., **95**, e41(1-7) (2013).
19. Y. Liang, K. Xu, P. Zhang, et al., BMC Musculoskelet. Disord., **21** (1), :608 (2020).
20. S.-C. Fu, M-Y. Yeung, C. G. Rolf, et al., J. Orthop. Res., **36** (12), 3268 (2018).
21. T. A. H. Järvinen, P. Kannus, N. Maffulli, and K. M. Khan, Foot Ankle Clin., **10** (2) 255 (2005).
22. S. T. Clark, M. Zhu, G. D. Gamble, et al., Inj. Epidemiol., **7** (1), 5 (2020).
23. V. Gulati, M. Jaggard, S. S. Al-Nammari, et al., World J. Orthop., **6** (4), 380 (2015).
24. A. de Mattos Carvalho, A. L. G. Alves, P. G. Gomes de Oliveira, et al., J. Equine Vet. Sci., **31**, 26 (2011).
25. C. A. Uysal, M. Tobita, Hyakusoku, and H. Mizuno, J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg., **65** (12), 1712 (2012).
26. А.-М. В. Ерофеева, И. П. Жаворонок, О. А. Антипова и др., Докл. НАН Беларуси, **64**, 574 (2020).
27. И. Б. Василевич, С. В. Пинчук, Е. С.Лобанок и др., Вести НАН Беларуси. Сер. биол. наук, **2**, 82 (2014).
28. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, et al., Free Rad. Biol. Med., **26**, 1231 (1999).
29. A. Balcerczyk, A. Grzelak, A. Janaszewska, et al., Biofactors, **17**, 75 (2003).
30. J. Frijhoff, P. G. Winyard, N. Zarkovic, et al., Antioxid. Redox. Signal., **23** (14), 1144 (2015).
31. A. el-Rahman, A. M. A. Hammouda, and A. Fakeir, Cytometry, **20**, 19 (1995).
32. E. Nagababu, F. J. Chrest, and J. M. Rifkind, Free Radic. Biol. Med., **29** (7), 659 (2000).
33. S. Khandelwal and R. K. Saxena J. Biosci., **32**, 1139 (2007).
34. E. Nagababu, J. G. Mohanty, S. Bhamidipaty, et al., Life Sci., **86** (3–4), 133 (2010).
35. O. Erel, Clin. Biochem., **37**, 277 (2004).
36. O. Savu, C. Ionescu-Tirgoviste, V. Atanasiu, et al., J. Int. Med. Res., **40** (2), 709 (2012).
37. T. A. Watson, R. Callister, and R. D. Taylor, Med. Sci. Sports Exerc., **37** (1), 63 (2005).
38. K. Fisher-Wellman, H. K. Bell, and R. J. Bloomer, Oxid. Med. Cell Longev., **2** (1), 43 (2009).

Changes in Blood Antioxidant Parameters in Rats with Achilles Tendon Injury Treated by Mesenchymal Stem Cell Therapy

S.V. Pinchuk*, I.B. Vasilevich*, A.Y. Molchanova, A.A. Basalai**, and I.D. Volotovski***

**Institute of Biophysics and Cellular Engineering, National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya ul. 27, Minsk, 220072, Republic of Belarus*

***Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Belarus, Akademicheskaya ul. 28, Minsk, 220072, Republic of Belarus*

This study aimed to explore the dynamics of oxidative stress in rats after lesion induction (damage to the Achilles tendon) and elucidate the effects adipose-derived mesenchymal stem cells have on this process after the local injection of these cells at the injury site. The results obtained confirm that oxidative stress is present in animals in the post-traumatic period, as evidenced by elevated blood levels of lipid peroxidation products, a change in the average intensity of autofluorescence of erythrocytes registered by flow cytometry, and an increase in the total antioxidant activity in blood plasma. Our findings indicate that in the process of oxidative stress, mesenchymal stem cells exert a protective effect, thus providing the possibility to balance the body's response to increased oxidative damages. Data collected expand the knowledge of therapeutic mechanisms of action of stem cells in injury treatment.

Keywords: Achilles tendon injury, oxidative stress, mesenchymal stem cells, cell therapy