

**Ключові слова.** Репаративна регенерація, хімічний склад, РЕММА, ААС, гіпергідратація

**Резюме.** В роботі вивчений хімічний склад регенерату великогомілкових кісток щурів різного віку за умов гіпергідратаційних порушень водно-солевого балансу. Методом мікроаналізу доведено зниження кальцифікації новоутвореного матриксу та порушення кальцій-фосфорного обміну на віддалених ділянках травмованих кісток. Метод ААС показав збільшення вологи в кістковій тканині та втрату кальцію, міді, цинку та марганцю. Виявлені зміни мають залежність від віку тварин та найбільше виражені у щурів старечого віку.

**Химический состав регенерата большеберцовых костей крыс разного возраста при гипоосмолярной гипергидратации.**

**Погорелов М.В.**

**Ключевые слова.** Репаративная регенерация, химический состав, РЭММА, ААС, гипергидрия.

**Резюме.** В работе изучен химический состав регенерата большеберцовых костей крыс разного возраста в условиях гипергидратационных нарушений водно-солевого баланса. Методом микроанализа доказано снижение кальцификации новообразованного матрикса и нарушение кальций-фосфорного обмена на удаленных участках травмированных костей. Метод ААС показал увеличение жидкости в костной ткани и потерю кальция, меди, цинка и марганца. Выявленные изменения имеют зависимость от возраста животных и наиболее выражены у крыс старческого возраста.

**Chemical compound of the tibia callus in rats' of different age conditions of hypoosmolarity overhydria**

**Pogorelov M.V.**

**Key words.** Repair osteogenesis, chemical compound, SEM, AAS, overhydratation.

**Summary.** In work the analysis of chemical compound of the tibia callus of rats of different age in conditions of hypoosmolarity overhydria is carried out. The decrease of Ca in bone callus and disbalans of Ca and P far from the callus was detect by the method of SEM. The increase of water and lose of Ca, Cu, Zn and Mg in callus was detected by the method of AAS. Canges that we detected was depend on rats' age and was more hight in old animals.

**Вступ.** Визначення хімічного складу органу зазвичай проводиться з його руйнуванням, що унеможливорює визначення особливості розподілу макро- та макроелементів відповідно до його структур. В той же час накопичення чи втрата окремих елементів може відбуватися не дифузно, а локально, у відповідності до функціональних особливостей тих чи інших тканинних елементів органу [Скальный А.В., Рудаков И.А., 2004]. Особливого значення це набуває у вивченні хімічного складу високомінералізованих тканин за умов патології [Karin A., 2004].

Найбільш поширеним ураженням кісткової тканини є переломи, що супроводжується зміною метаболізму ураженого органу та перерозподілом мінеральних речовин. Необхідність мінералізації значних ділянок новоутвореної тканини призводить до локальних та системних зрушень мінерального гомеостазу [Webb J.C., Tricker J., 2000]. За умов фонових порушень обмінних процесів можливий зрив адаптаційних механізмів, що призводять до відновлення нормальної будови травмованої кістки [Martin V. et all., 2001]. Одним із ймовірних супутніх патологій в даному випадку може бути порушення водно-солевого балансу [Судаков К.В., 2000]. І якщо проблемі порушення репаративного остеогенезу за умов дегідратації організму присвячена достатня кількість публікацій, то мінеральний обмін травмованої кістки при гіпергідрії організму майже не вивчався [Бумейстер В.І., 2008; Сікора В.З. та ін, 2006].

Тому метою нашої роботи стало вивчення мінерального гомеостазу кісткової тканини та регенерату великогомілкових кісток при гіпоосмолярній гіпергідрії у тварин різних вікових груп.

**Матеріали та методи.**

В експерименті було задіяно 288 щура-самця 3-х вікових груп (молоді, зрілі та старечого віку), які були поділені на 2 серії: контрольну та експериментальну.

Експериментальній серії тварин (216 особини) для досягнення гіпергідрії кожен день зондово вводили дистильовану воду в кількості 10 мл тричі на добу. Також використовували виварені знесолені харчі для зменшення надходження солей в організм. Для запобігання фізіологічної підтримки водного гомеостазу та досягнення необхідного ступеня гідратації щурам вводили синтетичний аналог АДГ (вазопресину) – «Минирін» (Ferring). Препарат має виражену антидіуретичну дію і вводився тваринам зондово разом з питною водою 2 рази на добу у дозі 0,01 мг. Тривалість моделювання гіпергідрії у молодих тварин залежала від її ступеня: легка – 5 днів (зростання гідратації на 5%), середньої тяжкості – 10 днів (зростання гідратації на 8%) та важкого ступеня – 15 днів (зростання гідратації на 15%). На відміну від щурів молодого віку легка ступінь гіпергідрії у тварин зрілого та старечого віку досягалась на 10-й день, середній – відповідно на 15 день та 20 та важкий – на 25 день.

Після досягнення відповідного ступеня гіпергідрії всім тваринам під загальною анестезією стоматологічним бором наносився дефект в середній третині діафізу великогомілкової кістки. Контрольна група тварин (72 щура 3-х вікових груп) утримувалась на звичайному кормовому режимі. Щурів виводили з експерименту через 3, 10, 15 та 24 доби після перелому, що відповідає основним стадіям репаративного остеогенезу за Корж Н.А., Дедух Н.В [Корж Н.А., Дедух Н.В, 2006].

Для проведення зондового мікроаналізу на растровому електронному мікроскопі травмовану кістку фіксували в глутаральдегіді протягом доби, в подальшому зразок дофіксували в розчині осмію, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації (50 - 70 – 80 – 90 та 100%) і заливали в суміш смол «Епон-аралдіт». Після полімерізації смоли проводили полірування поверхні досліджуваної кістки з зоною дефекту. Для покращення візуалізації підготовлену поверхню напиляли сріблом в стандартній вакуумній установці типу ВУП-5. Після цього проводили вивчення морфологічних особливостей регенерата та кількісний вміст кальцію та фосфору за допомогою растрового електронного мікроскопа РЕММА-102 при збільшенні від 10 до 2500 разів. Визначення вмісту кальцію та фосфору на РЕММА проводили в 3-х точках: безпосередньо в дефекті, на поверхні материнської кістки біля регенерату та на віддалені 10 мм від дефекту.

Для проведення атомно-абсорбційної спектрофотометрії вилучені ділянки кістки зважувались з точністю до 0,001 г, спалювались в муфельній печі при температурі 450<sup>0</sup>С для видалення органічної матриці [Sunderman F.W. Jr et all, 2000] . Після отримання попелу проводили його розчинення в суміші соляної (2 мл) та азотної (1 мл) кислот та доводили об'єм розчину до 10 мл бідистильованою водою [Butala S.J. et all, 2006]. Отриманий розчин аналізували на спектрофотометрії С115-01 з полуменевим та електротермічним атомізатором. Вибір методу атомізації ґрунтувався на концентрації елемента в розчині. Методом полуменевої атомізації визначали вміст кальцію, натрію, калію, міді, цинку та заліза, методом електротермічної атомізації – рівень марганцю та магнію. Перед визначенням кожного елемента будували калібрувальний графік, використовуючи стандартні розчини елементів (ГСОРМ) [Zareba S. et all, 2005]. При калібруванні використовували не менше чотирьох відомих концентрацій. Після проведення процедури визначення вмісту елемента в розчині, вводили масу зразка та отримували концентрацію елемента в 1 грамі досліджуваної тканини. Для наглядного представлення результатів дослідження вміст кальцію, натрію та калію перераховували у відсоток до загальної ваги зразка, концентрацію інших елементів наводили в мкг/г вологої тканини. Проведення вимірів та розрахунків проводили з використанням програми ААС-SPECTR. Статистичну обробку отриманих результатів проводили в програмі MS EXCEL з використанням критерію Стьюдента.

### **Результати та їх обговорення.**

Вивчення поверхні травмованих кісток молодих щурів при легкому ступені гіпергідрії методом растрової електронної мікроскопії показало зниження остеосинтетичних процесів, що виявляється у зменшенні товщини новоутворених трабекул, збільшенні міжбалочного простору, наявності розривів та пустот поміж кістковими пластинками, відсутності тісних контактів між новоутворенною та материнською кісткою. Проведення зондового мікроаналізу поверхні показало уповільнення кальцифікації тканини регенерату та зниження активності кістки в цілому. Так, в ділянці дефекту рівень кальцію та фосфору через 15 днів менший за показники контролю

відповідно на 6,82% та 4,39%, через 24 доби – на 6,49% та 5,84%. Вміст кальцію на межі з дефектом та у віддалених ділянках через 15 діб перевищує контроль на 5,97% та 7,01%, через 24 доби – відповідно на 6,75% та 5,03%. Рівень фосфору у відповідні терміни зростає недостовірно.

Метод атомної абсорбційної спектрофотометрії показав наявність надлишкової вологи в досліджуваних кістках, зменшення вмісту мінеральних речовин та дисбаланс макро- і мікроелементів. Так рівень води перевищував контроль відповідно строкам спостереження на 9,24%, 12,64%, 8,83% та 9,41%. Вміст мінеральних речовин зменшився від 9,33% до 12,55% в основному за рахунок кальцію, рівень якого був меншим за контроль через 5 днів на 11,09%, через 10 днів – на 9,73%, через 15 – на 9,89% та через 24 доби – на 7,82%. Також відмічається дефіцит марганцю, міді та цинку, вміст яких був меншим за контрольні показники через 5 днів на 8,21%, 7,21% та 6,88%, через 10 днів – на 7,53%, 9,02% та 8,25%, через 15 днів – на 7,89%, 4,29% та 7,44% і через 24 доби – відповідно на 6,37%, 5,74% та 6,43%.

При середньому ступені гіпергідрії спостерігається порушення співвідношення тканин, що виповнюють зону дефекту, витончення балочок, наявність розривів між кістковими пластинами, порожнин резорбції, пустих остеоцитарних лакун. Визначення вмісту рівнів кальцію та фосфору в різних ділянках кістки показало зниження швидкості мінералізації тканин регенерату та зниження ремоделюючої активності материнської кістки. В період найбільшого приросту вмісту основних мінеральних елементів кістки – через 15 днів від початку формування регенерату, рівень Са менше за контроль на 8,21%, фосфору – на 4,88%, через 24 доби їх вміст зменшується відповідно на 8,74% та 5,79%. На поверхні материнської кістки достовірна різниця спостерігається тільки відносно вмісту кальцію, відсоток якого перевищує показники контрольної серії біля зони дефекту через 15 днів на 6,85%, чрез 24 доби – на 7,23%, на віддалені від місця травми різниця складає відповідно 6,32% та 6,82%.

Гіпергідратація організму призводить до збільшення вмісту води в досліджуваних кістках. Так через 5 днів після нанесення травми рівень вологи зростає на 10,52%, не зважаючи на нормалізацію питного режиму у тварин, вміст води залишається вищим в усі терміни спостереження і через 24 доби перевищує контроль на 9,93%. В той же час вміст мінеральних речовин кістки зменшується відповідно строкам регенерації на 11,72%, 13,17%, 12,07% та 14,69%. Зниження мінеральної насиченості кістки відбувається в основному за рахунок кальцію, вміст якого менше за аналогічний показник тварин контрольної серії через 5 днів на 14,26%, через 10 днів – на 13,65%, через 15 днів – на 14,02% та через 24 доби – на 9,64%. Разом з тим відбувається зменшення вмісту марганцю від 7,92% до 11,72%, міді – від 6,79% до 14,81% та цинку – від 7,47% до 9,61% (рис. 1). Зважаючи на участь даних елементів у обмінних процесах кістки, їх дефіцит може обумовлювати зниження процесів синтезу органічної складової регенерату та його мінералізації.

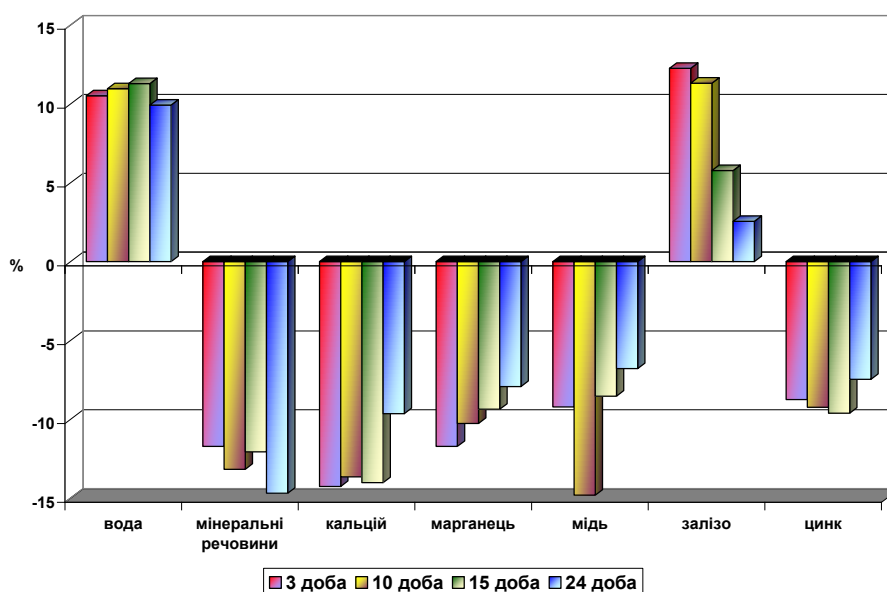


Рисунок 1. Динаміка змін хімічного складу регенерату кісток щурів молодого віку за умов гіпоосмолярної гіпергідратації середнього ступеня в різні терміни репаративного остеогенезу.

Вивчення поверхні регенерату методом растрової електронної мікроскопії при важкому ступені гіпергідратації показало гетерогенність структури регенерату в усі строки спостереження, що не було характерним для менших ступеней гіпергідрії. Наявні значні розриви в кісткових пластинках, збільшення площі міжбалочних просторів та витончення новоутворених трабекул. Основні зміни вмісту кальцію та фосфору, визначені методом зондового аналізу, виявлені через 15 та 24 доби після травми – термін максимальної кальцифікації новоутвореного матриксу (рис. 2). Так в зоні регенерату рівень кальцію та фосфору через 15 днів менше за контроль відповідно на 12,49% та 8,32%, через 24 різниця складає 14,61% та 10,22%. Зниження вираженості реакції неушкодженої кістки на травму проявляється у затримці макроелементів та підвищенні їх кількості в порівнянні з контролем. Так через 15 днів ми спостерігали зростання вмісту кальцію на 17,52% біля дефекту та на 9,69% - на віддалених ділянках кісток. В цих же місцях вміст фосфору перевищує контроль відповідно на 9,795 та 8,68%. Через 24 доби після травми різниця вмісту макроелементів кістки біля дефекту становить 14,98% та 7,34%, у віддалених ділянках – 6,83% та 8,02%. Таким чином данні мікроаналізу вказують на значну затримку швидкості звапнення регенерату та зменшення реакції неушкоджених ділянок кістки на травму.

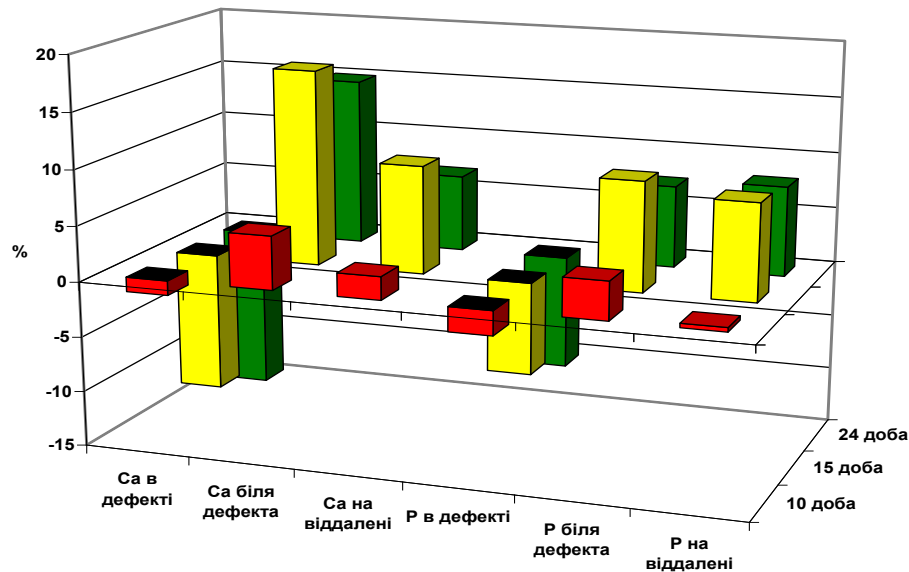


Рисунок 2. Динаміка змін вмісту кальцію та фосфору на поверхні травмованої кістки (PEMMA) шурів молодого віку за умов гіпоосмолярної гіпергідратації важкого ступеня в різні терміни репаративного остеогенезу.

Хімічний склад регенерату характеризується значним накопиченням води та втратою мінеральних речовин. Вологість кісток зростає відповідно строкам спостереження на 19,55%, 18,30%, 13,28% та 14,08%. Вміст мінеральних речовин зменшується при цьому відповідно на 15,33%, 19,62%, 14,66% та 15,14%. Основною причиною зниження мінеральної складової регенерату є кальцій, рівень якого зменшується через 3 дні на 15,51%, через 10 днів – на 14,27%, через 15 днів – на 12,04% та через 24 доби – на 8,74%. Зміни вмісту інших елементів кісткового матриксу характеризуються зменшенням іонів марганцю, міді та цинку і зростанням рівню заліза. Вміст останнього перевищує контроль тільки через 3 та 10 днів, що характеризує зменшення швидкості регресії гематоми. Різниця з контролем складає при цьому відповідно 12,50% та 14,22%. Найбільший ступень зниження вмісту марганцю, міді та цинку спостерігається через 10 днів після травми – час формування органічного матриксу та початку процесів кальцифікації. Різниця з контролем для даних елементів складає відповідно 12,41%, 12,09% та 9,95%.

Вивчення регенерату кісток тварин зрілого віку при легкому ступені гіпергідрії методом растрової електронної мікроскопії показало наявність незначних змін. В терміни 10 та 15 діб після нанесення травми спостерігається витончення новоутворених кісткових балок та зростання площі міжбалочного простору. При збільшенні у 2000 – 4000 разів відмічається наявність порожніх остеоцитарних лакун як на поверхні новоутвореної кістки так і в товщі материнського матриксу. Через 24 доби відмічається неоднорідність кортикальної пластинки, що утворена як пластинчастою так і грубоволокнистою кістковою тканиною. Вивчення хімічного складу поверхні регенерату та материнської кістки методом зондового аналізу не показало достовірної різниці з контролем у всі терміни спостереження.

Визначення хімічного складу кісток щурів, що перебували за умов гіпоосмолярної гіпергідрії, не показало зрушень у обміні основних макро- та мікроелементів кісткової тканини. Так, рівень кальцію, магнію, калію, марганцю та міді недостовірно відрізняється від контролю протягом усіх термінів спостереження.

Вивчення поверхні зразків методом растрової електронної мікроскопії при середньому ступені гіпергідрії показало витончення новоутворених балок, розширення міжбалочного простору, наявність порожніх остеоцитарних лакун. На відміну від попередньої групи спостерігаються розриви між пластинками компактної кістки через 15 діб після травми (рис 3)

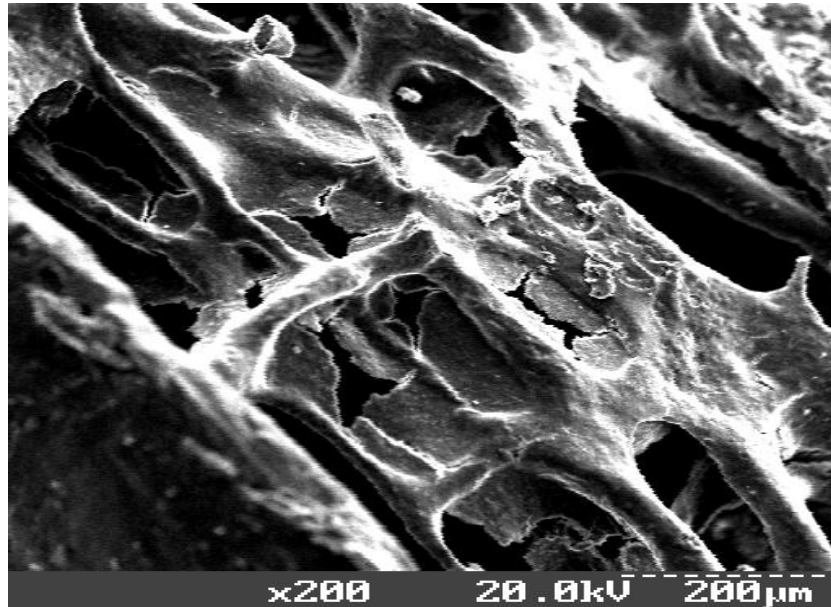


Рисунок 3 Поверхня регенерату великогомілкової кістки щура зрілого віку через 15 днів після нанесення дефекту в умовах середнього ступеня гіпоосмолярної гіпергідрії. Збільш X 200

На відміну від тварин, які перебували за умов легкого ступеня гіпергідрії, у щурів даної групи відбуваються зміни хімічного складу при проведенні мікроаналізу досліджуваних кісток. Так, через 15 діб після травми вміст кальцію та фосфору в дефекті менше за контроль відповідно на 5,89% та 6,77%, через 24 доби різниця зростає до 6,93% та 7,21%. В ці ж терміни відбувається зменшення втрати основних елементів кістки як біля дефекту так і на віддаленні, що свідчить про зміни метаболізму як регенерату так і кістки в цілому. У порівнянні з контролем відбувається приріст рівню кальцію до 5,35% та зростання фосфору до 6,24% через 24 доби після травми. Збільшення вмісту основних елементів кістки є проявом зниження метаболізму кістки та свідчить про зменшення реакції останньої на травму.

При аналізі хімічного складу кісток методом атомної абсорбційної спектрофотометрії відмічається як зменшення вмісту кальцію в досліджуваних кістках в цілому так і дисбаланс інших елементів матриксу, що не спостерігалось при гіпергідрії легкого ступеня. Різниця з контролем для кальцію складає відповідно строкам спостереження 5,88%, 6,72%, 6,27% та 4,32%. Відбувається також зменшення рівню марганцю та міді від 4,38% до 8,62%. Не зважаючи на гіпергідрію, вміст натрію та калію не змінюється, що можливо є наслідком особливостей підготовки зразків до аналізу, що включає висушування кісток.

Растрова електронна мікроскопія зразків кісток щурів, що перебували за умов важкого ступеня гіпергідратації показала уповільнення формування кісткових балочок, їх витончення та затримку утворення пластинчастої кістки. Проведення зондового аналізу поверхні травмованих кісток визначило глибокі функціональні зміни мінерального метаболізму всієї кістки. Так в ділянці дефекту відмічається зменшення мінералізації органічного матриксу, що виявляється у зменшення вмісту кальцію та фосфору через 10 днів відповідно на 7,51% та 4,55%, через 15 днів – на 9,18% та 10,41% і через 24 доби – на 11,22% та 10,58%. Натомість рівень кальцію та фосфору біля місця травми та на віддалених ділянках зростає, що вказує на уповільнення процесів ремоделювання кістки та зменшення її чутливості до регуляторних впливів, які призводять до зростання швидкості перебудови кісткової тканини в нормі. Так біля дефекту рівні Ca та P зростають через 10 днів на 6,58% та 6,11%, через 15 днів - на 8,03% та 9,42% і через 24 доби – на

8,59% та 11,83%. Проксимально від дефекту рівень вищевказаних елементів достовірно зростає через 15 діб відповідно на 8,43% та 7,34% і через 24 доби – на 12,47% та 9,16% (рис. 4).

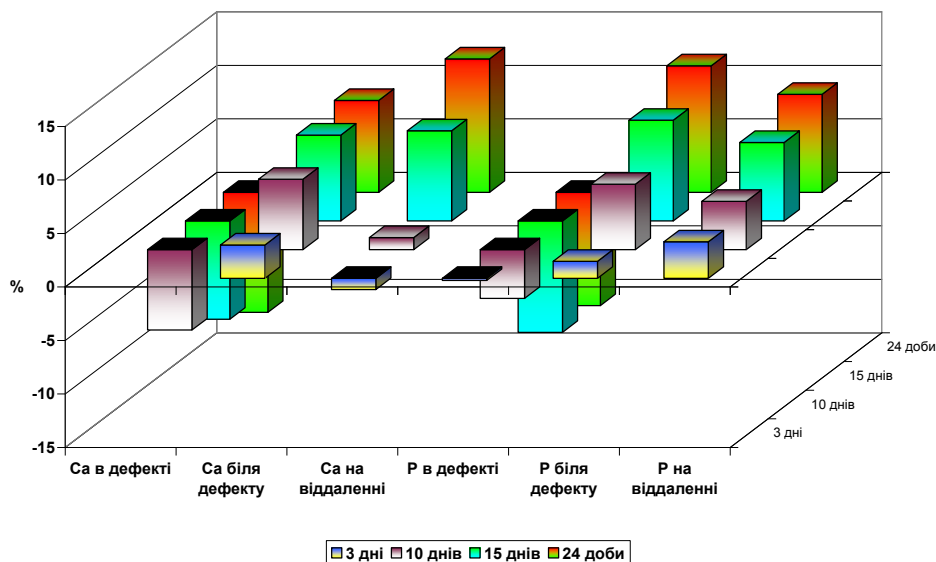


Рисунок 4 Динаміка змін вмісту кальцію та фосфору в різних ділянках травмованої кістки зрілих щурів за умов гіпоосмолярної гіпергідратації важкого ступеня в різні терміни репаративного остеогенезу.

Вивчення кісток експериментальних тварин методом атомної абсорбційної спектрофотометрії показало глибокі зрушення мінерального метаболізму. Незважаючи на відносне зростання кальцію, що виявлене методом зондового мікроаналізу, абсолютний вміст елементу в травмованих кістках зменшується. Так, різниця з контролем відповідно стадіям складає 6,89%, 7,23%, 6,75% та 5,03%. Незважаючи на зростання вмісту вологості кісток на 9,29 – 14,32%, рівень вмісту натрію та калію залишається в межах норми, що пов'язане з особливостями підготовки зразків до аналізу, яка включає повне зневоднення. Спостерігається зменшення вмісту марганцю, міді та цинку – елементів, які каталізують важливі процеси кісткоутворення та виступають у якості коферментів важливих кісткових ензимів. Так через 5 днів після травми їх рівень зменшується відповідно на 7,12%, 9,26% та 7,39%, через 10 днів – на 10,75%, 12,73% та 9,16%, через 15 діб – на 10,06%, 6,02% та 6,39%, різниця з контролем через 24 доби складає 6,88%, 6,18% та 4,02%.

Вивчення місця травми у щурів старечого віку за умов легкого ступеня гіпергідрії методом растрової електронної мікроскопії показало наявність змін будови новоутворених кісткових структур – витончення балочок, зростання площі міжбалочних просторів, розриви між кістковими пластинками. В перші два терміни спостереження не було виявлено змін методом зондового аналізу поверхні, можливо через відсутність активних ремодельовальних процесів в даний термін. В останні терміни спостерігається зменшення швидкості кальцифікації новоутвореного матриксу, що виявляється у зменшенні вмісту кальцію та фосфору на поверхні кісткових балочок (рис. 5). Так рівень кальцію в дефекті менше за контроль через 15 днів на 6,89%, через 24 доби – на 9,32%. Вміст фосфору зменшується відповідно на 3,99% та 7,53%. Разом з тим вміст даних елементів на межі з дефектом та на віддалених ділянках кістки зростає у порівнянні з контролем. Даний феномен можна пояснити зниженням швидкості реакції кістки на травму за умов гіпергідратації організму. На межі з дефектом через 15 днів вміст кальцію та фосфору перевищує контроль на 12,02% та 8,54%, через 24 доби – відповідно на 8,01% та 7,91%. На віддалених ділянках травмованих кісток вміст даних елементів перевищує контроль через 15 днів на 12,4% та 9,49% і через 24 доби – на 7,52% та 6,48%.

Гіпергідратація організму призводить до накопичення води в кістковому матриксі. Через 3 та 10 днів різниця з контролем є достовірною та складає відповідно 7,93% та 8,42%, через 15 та 24 доби після травми вміст вологи в кістках недостовірно відрізняється від контрольних показників. Порушення мінерального обміну виявляється в першу чергу у зменшенні вмісту мінеральних речовин в кістковому матриксі. Різниця відповідно термінам спостереження складає 11,66%, 13,78%, 14,57% та 12,88%. Зменшення мінеральної насиченості кістки відбувається в першу чергу за рахунок втраит кальцію, вміст якого зменшується через 3 доби на 13,97%, через 10 днів – на

16,03%, через 15 – на 12,19% і через 24 – на 9,62%. Окрім порушення кальцієвого обміну, спостерігається також зрушення обміну інших макро- та мікроелементів кісткового матриксу. Затримка реорганізації гематоми призводить до зростання вмісту заліза на 13,2%, 9,33%, 6,45% та 4,02% відповідно до термінів спостереження. В той же час вміст міді, марганцю та цинку різко зменшується. Через 3 дні після травми рівень даних елементів менше за контроль відповідно на 10,28%, 10,8% та 9,41%, через 10 днів – на 12,49%, 9,12% та 12,58%, через 15 днів – на 9,25%, 7,49% та 8,32% і через 24 доби – на 9,81%, 7,02% та 8,29%.

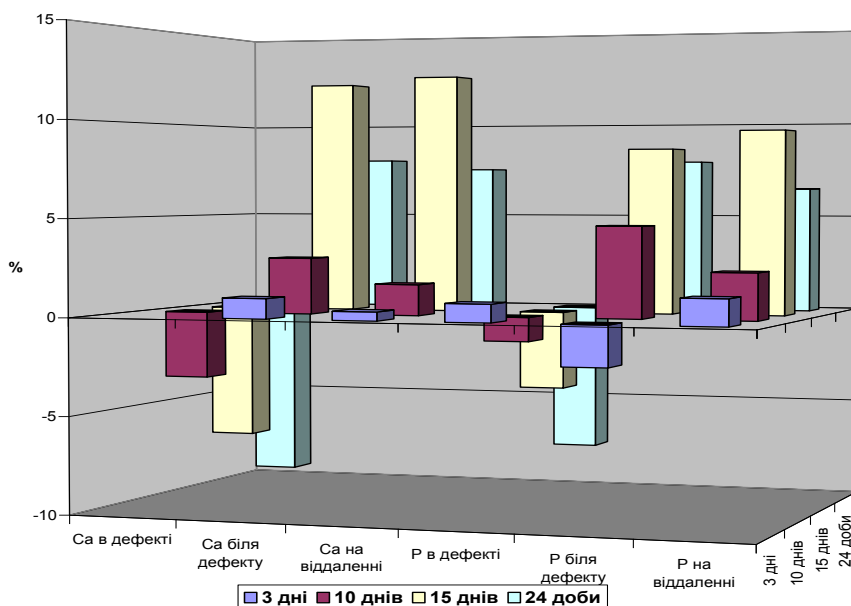


Рисунок 5 Динаміка змін вмісту кальцію та фосфору на поверхні травмованої кістки (РЕММА) шурів старечого віку за умов гіпоосмолярної гіпергідратації легкого ступеня в різні терміни репаративного остеогенезу.

Як і у попередньої групи тварин, за умов гіпергідрії середнього ступеня растрова електронна мікроскопія не виявила специфічних порушень остеогенезу. Зміни мікроаналізу поверхні кісток виявив порушення кальцій-фосфорного обміну тільки в терміни 15 та 24 доби після нанесення травми – строки кальцифікації новоутвореного матриксу. Через 15 днів після початку експерименту рівень кальцію та фосфору в регенераті зменшується на 17,23% та 12,33%, різниця з контролем через 24 доби становить відповідно 18,50% та 14,92%. В неушкоджених ділянках кістки відбувається відносно зростання вмісту досліджуваних елементів у порівнянні з контролем, де відбувається мобілізація і зменшення цих елементів. Так, рівень кальцію через 15 днів біля місця травми зростає на 19,05%, через 24 доби – на 14,29%. Вміст фосфору у відповідні терміни збільшується на 14,55% та 10,54%. На віддалених ділянках кістки рівень кальцію зростає на 11,28% та 9,38% відповідно термінам спостереження, фосфору – на 9,74% та 6,33%.

За умов гіпергідратаційних порушень відбувається затримка вологи в кістках, рівень якої відповідно термінам спостереження зростає на 6,89%, 10,37%, 7,52% та 7,99%. У всі строки спостереження відмічається втрата мінеральної складової кістки, різниця з контролем при цьому становила відповідно строкам забору матеріалу 13,86%, 14,81%, 16,98% та 16,13%. Найбільша різниця серед мінеральних речовин спостерігалась для вмісту кальцію, рівень якого зменшувався через 3 доби на 15,82%, через 10 днів – на 15,07%, через 15 днів – на 14,29% та через 24 доби – на 12,33%. Характерним є майже повна відсутність динаміки вмісту кальцію, що як характеризує уповільнення процесів кальцифікації новоутвореного матриксу так і втрату кальцію кісткою через порушення водно-сольового обміну. Окрім основного макроелементу кістки відбувається зменшення вмісту марганцю, міді та цинку – елементів, що беруть активну участь у процесах кальцифікації в якості коферментів та складової мінеральної фази. Вміст міді зменшується відповідно термінам спостереження на 14,72%, 13,69%, 10,77% та 10,09%, марганцю – на 14,27%, 10,31%, 11,93% та 9,15% і цинку – відповідно на 12,78%, 12,95%, 10,53% та 9,14%. Зменшення швидкості реорганізації гематоми призводить до значного росту рівня заліза, вміст якого перевищує контроль в перші строки на 18,65% та 16,44%.

При важкому ступеню гіпергідратації візуалізація дефекту методом растрової електронної мікроскопії показала наявність патологічних процесів та затримку утворення регенерату.

Мікроаналіз поверхні дефекту показав зменшення рівню звапнення новоутвореного матриксу та відсутність активної реакції неушкоджених ділянок на факт травми. Так через 15 днів після нанесення дефекту спостерігається зменшення вмісту кальцію на поверхні регенерату на 25,50% та фосфору на 21,90%, різниця з контролем через 24 доби становила відповідно 29,31% та 23,58%. На межі з дефектом відбувається затримка мобілізації кальцію та фосфору – зростання їх рівню через 15 днів становило 20,10% та 18,54%, через 24 доби – 16,15% та 14,82%. Аналогічні дані отримані і на віддалених ділянках кістки. Різниця з контролем через 15 днів становила 15,08% та 14,28% і через 24 доби – 10,24% та 10,30%.

Вміст води в досліджуваних кістках зростає відповідно термінам спостереження на 9,25%, 9,19%, 7,48% та 7,95%. Натомість мінеральна складова кістки зменшилась у відповідні терміни на 21,65%, 18,05%, 16,44% та 18,37%. Основним елементом, який забезпечив втрату мінеральної складової був кальцій, вміст якого знизився на 3 добу на 19,41%, на 10 добу – на 18,43%, на 15 добу – на 15,92% і на 24 добу – на 15,02%. Значно понизився також рівень марганцю, міді та заліза. Через 3 дні їх рівень зменшився відповідно на 17,44%, 15,38% та 15,67%, через 10 днів – на 17,26%, 15,02% та 13,27%, через 15 днів – на 14,92%, 13,83% та 13,72% і через 24 доби – на 12,49%, 13,17% та 11,21%. Вміст заліза натомість зростає, особливо в перші строки спостереження, що вірогідно пов'язане з затримкою реорганізації гематоми. Відповідно до термінів спостереження рівень заліза зростає на 23,01%, 20,43%, 15,04% та 6,11%.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** Таким чином, гіпоосмолярна гіпергідрія призводить до зменшення інтенсивності мінералізації новоутвореного кісткового матриксу та супроводжується порушенням як кальцій-фосфорного так і мікроелементного гомеостазу у неушкоджених ділянках травмованих кісток. Вираженість виявлених змін залежить як від віку тварин так і від ступеня порушень водно-сольового балансу і має найбільші прояви у щурів старечого віку при важкому ступені гіпергідрії.

В подальшому планується вивчення залежності змін тривкісних показників кісток від ступеня порушення мінерального гомеостазу.

#### **Література.**

1. Бумейстер В.І. Структурно-метаболична характеристика кісткового регенерату за умов впливу загального зневоднення важкого ступеня/ В.І. Бумейстер //Вісник морфології.-2008.- №14 (2).- С. 329-332.
2. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации [Н.А. Корж, Н.В. Дедух]// Ортопедия, травматология и протезирование. - 2006. - №1. - С. 76-84.
3. Сікора В.З. Гістологічні перетворення кісткового регенерату довгої кістки за умов позаклітинної дегідратації/ В.З. Сікора, В.І. Полякова, Г.Ф. Ткач //Вісник морфології. – Вип.12 (2). – 2006. – С. 199-201.
4. Скальный А. В., Рудаков И .А. Биоэлементы в медицине. – М.: Издатель-ский дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.
5. Физиология. Основы и функциональные системы: Курс лекций / Под ред. К.В.Судакова. - М.: Медицина, 2000. - С.256-264.
6. Born Again Bone: Tissue Engineering for Bone Repair [Martin Braddock, Parul Houston, Callum Campbell et all]// News Physiol. Sci. – 2001 – V. 16. – P. 208 - 216
7. Butala SJ., Scanlan LP., Chaudhuri SN. Atomic absorption spectrophotometry methodology for the quantitative analysis of mercury in fish and hair // J Food Prot, November 1, 2006; 69(11): 2720-2728.
8. Karin A. Hing Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? Phil. Trans. R. Soc. Lond. A. - 2004. – №362. – P. 2821–2850
9. Sunderman FW Jr, A Marzouk, MC Crisostomo, and DR Weatherby Electrothermal atomic absorption spectrophotometry of nickel in tissue homogenates // Annals of Clinical and Laboratory Science. - Vol 15, Issue 4, 299-307
10. Webb J.C., Tricker J. A review of fracture healing// Current orthopedics. - 2000. - Vol. 14. - P. 457-463.
11. Zareba S., Szarwilo K., Pomykalski A. Determination of Fe(II) and Zn(II) by spectrophotometry, atomic absorption spectrometry and ions chromatography methods in Vitrum // Farmaco, May 1, 2005; 60(5): 459-464