

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛУГАНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

БУМЕЙСТЕР ВАЛЕНТИНА ІВАНІВНА

УДК 616.71-008.81-06:[577.128+613.3](043.3)

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА
КІСТКОВОГО РЕГЕНЕРАТУ В УМОВАХ ДЕГІДРАТАЦІЙНИХ
ПОРУШЕНЬ ВОДНО-СОЛЬОВОГО ОБМІНУ**

14.03.01 – нормальна анатомія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Луганськ - 2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Сумському державному університеті МОН України.

Науковий консультант доктор медичних наук, професор
Сікора Віталій Зіновійович,
Медичний інститут Сумського державного
університету МОН України,
завідувач кафедри анатомії людини

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Тимошенко Ольга Павлівна,
Луганський національний аграрний університет
Міністерства аграрної політики України,
завідувач кафедри внутрішніх хвороб тварин;

доктор біологічних наук, професор
Родіонова Наталія Василівна,
Інститут зоології ім. І.І. Шмальгаузена
НАН України, завідувач відділу цитології та
гістогенезу;

доктор біологічних наук, професор
Піскун Раїса Петрівна,
Вінницький національний медичний університет
ім. М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри
медичної біології.

Захист відбудеться « 25 » березня 2010 р. о _____ годині
на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 29.600.04 при Луганському
державному медичному університеті **МОЗ** України (91045, м. Луганськ,
квартал 50-річчя Оборони Луганська, 1).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Луганського
державного медичного університету МОЗ України (91045, м. Луганськ,
квартал 50-річчя Оборони Луганська, 1).

Автореферат розісланий « _____ » _____ 2010 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Я.А. Ушко

Актуальність теми. Реактивність і регенерація тканин і органів, розроблення питань оптимізуючого впливу на процеси загоєння ран – актуальна проблема сучасної морфології та медицини [Дедух Н.В. и др., 1999, Лузін В.І., 2000; Гололобов В.Г., 2001; Пикалюк В.С., 2002; Gosan A., DiPietro L.A., 2004; Ковешніков В.Г., 2005]. Травми опорно-рухової системи, незважаючи на всі досягнення сучасної медицини, залишаються одним з найголовніших факторів інвалідизації населення [Коструб О.О. та ін., 1999; Корж М.О. та ін., 2000; Корж М.О., 2006]. Вони стійко займають третє місце у структурі причин смертності після захворювань серцево-судинної системи і онкологічних захворювань.

На сьогодні чітко проявляються прикладні аспекти медицини природних і антропогенних катастроф, локальних озброєних конфліктів і терористичних актів із застосуванням високотехнологічних видів зброї, що призвело до різкого підвищення травматизму опорно-рухового апарату людини в мирний час [Шаповалов В.М., 1999; Дулаев А.К. и др., 2000].

Проблема травматичних ушкоджень кісток скелета є однією з актуальних в експериментальній і клінічній травматології та ортопедії. Незважаючи на те що при репаративному остеогенезі є передумови до повного відновлення кісткових структур замість втрачених, відсоток ускладнень після травматичних ушкоджень залишається досить високим. Це викликає необхідність розроблення нових експериментально-теоретичних підходів до питань регенерації кістки, які передбачають з'ясування біологічних механізмів, що лежать в основі процесу хемотаксису і диференціювання клітин у ділянці травматичного ушкодження, вивчення формування складних клітинних і тканинних компонентів регенерату, умов, за яких це відбувається, і факторів, які керують остеорепарацією [Бруско А.Т., Омельчук В.П., 1999; Гайко Г.В. та ін., 2001].

Уявлення і трактування даних регенераційного остеогістогенезу неодмінно пов'язані з ключовими питаннями походження остеогенних клітин, їх проліферації, диференціювання і специфічної функції [Родіонова Н.В., 2006]. Про складність і дискусійність цього питання свідчать різноманітні елементи, що зазначаються в роботах, які визначаються різними авторами як похідні для формування регенерату при ушкодженні кістки. У зв'язку з цим слід відмітити дослідження, які сприяють ідентифікації стовбурових стромальних і остеогенних клітин у кістковому мозку [Lodie T.A. et al., 2002; S.-K. Tae et al., 2006]. При великому обсязі фактичних даних щодо загоєння механічних переломів є дуже суперечливі думки вчених з приводу позначень і гістогенетичної природи тканин, які утворюються в зоні дефекту, а також припускається можливість метаплазії одних тканин в інші [Корж Н.А. и др., 2006].

Експериментальні дослідження останніх років, присвячені вивченню особливостей репаративного остеогенезу, дозволили з'ясувати його закономірності, а в ряді випадків по-новому підійти до можливостей регуляції процесів регенерації кісток при переломах [Гололобов В.Г., 2001; Нагорнов М.Н., 2001; Т. Albrektsson, С. Johansson, 2001; Н.П.Омельяненко, О.А.Малах, 2002; Ирьянов Ю.М., Ирьянова Т.Ю., 2003; Дедух Н.В. и др., 2004]. Зокрема, доведено, що за допомогою різних фармакологічних і фізичних факторів можна цілеспрямовано впливати на процес регенерації кістки за рахунок створення оптимальних умов перебігу відновлювальних процесів [Лузін В.І., 2000; M.Marxer, M.Kessler, 2001; Никитин И.Г., 2001; Гололобов В.Г. и др., 2003; Hernigou P., Bahrami T., 2003; Иорданишвили А.К. и др., 2002]. Вивчення цих умов наштовхується, в першу чергу, на стан організму, який зазнав ушкодження.

Порушення водно-електролітного балансу супроводжує багато патологічних станів організму, а також може мати місце внаслідок водної депривації. У медичній практиці воно часто трапляється при інфекційних захворюваннях, коматозних і термінальних станах, після значної крововтрати, шоку, хірургічних втручань, як наслідок захворювань шлунково-кишкового тракту, нирок і серця, при пухлинах головного мозку, туберкульозному менінгіті, нецукровому діабеті. Дегідратацію також викликають посилені тривалі фізичні навантаження, трудова діяльність у гарячих цехах, глибоких шахтах. Яскраво виражений ексікоз трапляється в умовах відсутності питної води у регіонах із спекотливим кліматом.

Сьогодні, коли напруженість дії різноманітних зовнішніх факторів невпинно зростає, проблема пристосувально-компенсаторних та деструктивних процесів у тканинах і органах в умовах порушення водно-сольового обміну є особливо актуальною [Багров Я.Ю., 2001; Drakeley A.J. et al., 2002; Петросян Э.А. и др., 2005].

Питанням зневоднення присвятили свої праці морфологи, які вивчали зміни у скелеті та деяких внутрішніх органах в умовах змодельованих дегідратаційних порушень водного обміну організму [Сікора В.З., 1992; Флекей П.П., 1997; Бензар І.М., 2000; Киричок О.М., 2001; Творко В.М., 2002; Н.В. Шовдра., 2002; Федонюк Я.І., 2005; Білик А.Л., 2007 та ін.]. Але вплив зневоднення організму на перебіг репаративного остеогенезу залишається досі не вивченим.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету і є складовою частиною науково-дослідної теми Медичного інституту Сумського державного університету «Вивчення стану здоров'я дитячого та дорослого населення Сумської області в умовах впливу несприятливих соціальних, економічних та екологічних чинників» (№ держреєстрації 0101U00298) та складовою частиною науково-дослідної теми кафедри анатомії людини «Морфофункціональні особливості перебудови

скелета та внутрішніх органів в умовах порушення гомеостазу» (№ держреєстрації 010U001287).

Мета і завдання дослідження. Мета дослідження – визначення загально біологічних особливостей репаративної регенерації довгої кістки щурів за умов дегідратаційних порушень водно-сольового обміну організму і вживання коригувального засобу.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання:

1. На експериментальній моделі виявити морфологічні закономірності репаративного остеогенезу великогомілкової кістки контрольних тварин для проведення порівняльного аналізу отриманих даних і встановлення взаємозв'язків між структурними показниками.

2. Визначити морфофункціональні особливості формування регенерату великогомілкової кістки в умовах загальної, клітинної і позаклітинної дегідратації організму.

3. Дослідити зміни біохімічних показників крові для визначення загальної реакції організму на травму і зневоднення.

4. Вивчити мінеральний стан регенерату великогомілкової кістки щурів і її тривкісні властивості за умов різних ступенів та видів зневоднення організму.

5. Дати порівняльну характеристику репаративного остеогенезу залежно від ступеня та виду зневоднення та встановити кореляційні зв'язки між структурними показниками.

6. Встановити можливість корекції несприятливого впливу дегідратації важкого ступеня на регенерацію великогомілкової кісток скелета препаратом тималін.

Об'єкт дослідження – репаративна регенерація великогомілкової кістки білих лабораторних щурів-самців за умов дегідратаційних порушень водно-сольового обміну організму.

Предмет дослідження – морфофункціональна характеристика репаративного остеогенезу великогомілкової кістки щурів за умов зневоднення.

Методи дослідження:

остеометрія - вивчення темпів росту та формування травмованих кісток; гістоморфометричні – для вивчення структури регенерату довгих кісток на світлооптичному рівні; електронна мікроскопія – для визначення функціонального стану остеобластів кісткового мозоля; спектрофотометричний – для визначення хімічного складу регенерату кістки; растрова електронна мікроскопія з мікроаналізом – для визначення елементного складу поверхні травмованої кістки; біохімічний аналіз крові – для визначення реакції організму на ушкоджувальні чинники; біомеханічний – для визначення тривкісних властивостей ушкоджених довгих кісток; статистичний - для об'єктивного визначення відмінностей отриманих

кількісних даних, оцінки їх взаємозв'язків та виявлення факту і ступеня впливу контрольованих факторів.

Наукова новизна одержаних результатів. У цьому дослідженні застосований принципово новий підхід у вивченні функціональної морфології репаративної регенерації довгих кісток скелета. На достатньому експериментальному матеріалі вперше за допомогою комплексу морфологічних методів дослідження розкриті основні закономірності відновлення структури травмованої великогомілкової кістки щурів за умов дегідратаційних порушень водно-сольового обміну організму.

Вперше встановлено порушення перебігу регенераторних процесів вже на запально-проліферативній стадії, яке проявляється зменшенням кількості макрофагів та фібробластів, що свідчить про затримку процесів диференціювання клітин фібробластичного і остеобластичного диферонів. Вперше доведено, що зневоднення призводить до гальмування процесів реорганізації посттравматичної гематоми, що викликає сповільнення утворення кісткових тканин на подальших стадіях організації кісткового мозоля. Встановлена ключова роль у формуванні регенерату початкової стадії репаративного остеогенезу.

Вперше встановлений діапазон ультрамікроскопічних змін остеобластів посттравматичного регенерату, які наростають від дистрофічних - при легкому, до вогнешеводеструктивних - при важкому ступені зневоднення.

Новими є дані щодо вивчення мікроаналізу поверхні регенерату, які свідчать про уповільнення процесів ремоделювання ушкодженої кістки в умовах дегідратації організму.

Новизною вирізняється визначення зниження механічних властивостей травмованої кістки, які є найбільш суттєвим показником її подальшого функціонування.

У роботі набуло подальшого розвитку експериментальне моделювання загальної, клітинної і позаклітинної дегідратації організму, і отримані нові дані стосовно структурних і метаболічних змін репаративного остеогенезу під впливом зневоднення.

Визначена залежність структурних змін кісткового мозоля від ступеня та виду зневоднення. Виявлена можливість корекції негативних наслідків впливу дегідратаційних порушень на процеси репарації довгих кісток препаратом тималін.

Практичне значення одержаних результатів. Дане дослідження дозволило детально визначити механізми впливу дегідратації на формування посттравматичного регенерату кістки в умовах цілісного організму. Отримані нові експериментальні дані про дію зневоднення організму є морфологічною основою для прогнозування змін у скелеті, що може бути використано у функціональній анатомії кісткової системи, травматології, ортопедії, терапії

тощо, як теоретичне підґрунтя для оптимальної розробки лікувальних заходів та профілактики травматичних ушкоджень скелету.

Результати експериментальних досліджень впроваджені у навчальний процес на кафедрі анатомії людини, топографічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету, кафедрах анатомії людини Запорізького державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова, Луганського державного медичного університету, Дніпропетровського державного медичного університету, Буковинського державного медичного університету, Кримського державного медичного університету ім.С.І.Георгієвського, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського, Української медичної стоматологічної академії, на кафедрі анатомії людини, гістології, цитології та ембріології Ужгородського національного університету, на кафедрі гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто здійснені патентно-інформаційний пошук та аналіз літературних джерел. Автор оволоділа методами дослідження, які використовувалися під час проведення наукової роботи, провела постановку експерименту, забір матеріалу та морфофункціональні дослідження, здійснила аналіз та статистичну обробку отриманих результатів. Дисертантом написані всі розділи роботи, здійснено узагальнення, сформульовані висновки, підготовлені наукові матеріали до публікацій та виступів на конференціях.

Апробація результатів дисертації. Основні матеріали дисертації повідомлені й обговорені на Міжнародному конгресі «Розвиток в морфологічних, експериментальних та клінічних дослідженнях положень вчення В.М.Шевкуненка про індивідуальну мінливість будови тіла людини» (Полтава, 23-24 травня 2003р.), V Міжнародному конгресі інтегративної антропології, Пироговських читаннях (Вінниця, 3-4 червня 2004 року), Всеукраїнській науковій конференції «Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії» (Чернівці, 11-13 жовтня 2004р.), симпозиумі «Біологія опорно-рухового апарату» (Сімферополь-Ялта, 3-5 листопада 2004р.), II Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні проблеми біомінералогії» (Луганськ, 12-14 квітня 2006р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні методи в дослідженні структурної організації органів і тканин» (Судак, 25-28 квітня 2006р.), Всеукраїнській конференції «Сучасні проблеми морфології» (Полтава, 18-20 травня 2006р.), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Морфологічний стан тканин і органів у нормі та при моделюванні патологічних процесів» (Тернопіль, 30-31 травня 2006р.), IV Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Сімферополь, 21-23 вересня 2006р.), Науково-практичній конференції «Досвід і проблеми застосування сучасних морфологічних методів дослідження органів і тканин

у нормі при діагностиці патологічних процесів» (Тернопіль, 24-25 травня 2007р.), VI науково-практичній конференції «Морфогенез і патологія кісткової системи в умовах промислового регіону» (Луганськ, 11-12 квітня 2007р.), VI Міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Вінниця, 4-5 жовтня 2007р.), Всеукраїнській науковій конференції "Актуальні проблеми сучасної морфології" (Луганськ, 10-11 квітня 2008 р.), Міжнародній науково-практичній конференції "Сучасні досягнення теоретичної та практичної медицини" (Суми, 24-25 квітня 2008р.), симпозиумі «Морфогенез органів і тканин під впливом екзогенних факторів» (Сімферополь-Алушта, 2-4 жовтня 2008р.), Міжнародній науково-практичній конференції "Актуальні питання теоретичної медицини" (Суми, 23-24 квітня 2009 р.), Науково-практичній конференції "Прикладні аспекти морфології" (Вінниця, 20-21 травня 2009 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології» (Тернопіль, 10-11 червня 2009 р.), Науково-практичній конференції «Актуальні проблеми функціональної морфології» (Полтава, 10-12 вересня 2009р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 41 наукову працю (одноосібних - 10), з них 23 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих ВАК України для біологічних наук, 8 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих ВАК України для медичних наук, 10 праць – у матеріалах з'їздів, конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 375 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, семи розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, який налічує 461 найменування (246 робіт – кирилицею, 215 - латиницею) і додатків. Дисертаційна робота ілюстрована 38 таблицями та 158 рисунками. Бібліографічний опис літературних джерел, ілюстрації та додатки викладені на 117 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал та методи дослідження. З метою вивчення репаративної регенерації кісток в умовах дегідратаційних порушень обміну організму проведено експериментальні дослідження на 408 білих лабораторних щурах-самцях з масою тіла 180-200г.

Тварини всіх серій до початку дослідження знаходилися на звичайному харчовому раціоні та утриманні, яке здійснювали відповідно до "Санітарних правил створення, обладнання та утримання експериментально-біологічних клінік (віваріїв)" від 06.04.73 р. та доповнень від 04.12.78 р. до наказу МОЗ СРСР № 163 від 10.03.66 р. "Про добові норми харчування тварин та продуценти". Дослідження проводили в однакових для всіх серій експериментів умовах. Досліди на тваринах виконували відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях», "Загальних етичних принципів

експериментів на тваринах», прийнятих Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Гельсинської декларації Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000).

Для постановки експерименту ми користувалися класифікацією порушення водного гомеостазу, яку застосовували на кафедрі реаніматології І МОЛМІ ім. І.Сеченова (1979) і Сікора В.З. (1992), де дегідратація поділяється на загальну, клітинну і позаклітинну. За показником водного дефіциту розрізняють три ступені дегідратації: легкий (дефіцит води досягає 2-5%), середній (5-10%) і важкий (більше 10%).

Відповідно до експериментальної моделі тварини були розподілені на такі серії та групи:

I серія (30 щурів) – контрольна: в умовах стерильної операційної під наркотановим інгаляційним наркозом наносився дірчастий дефект обох великогомілкових кісток стоматологічним бором діаметром 2 мм на межі проксимальної та центральної третин медіальної поверхні діафіза. Місце нанесення травми підібране з урахуванням найменшого травматизму м'язів та магістральних судин, які відсутні в зазначеній ділянці. Операційну рану закривали шкіряним швом, тварин виводили з наркозу й утримували в стаціонарних умовах віварію. Щурі знаходилися на загальному раціоні віварію і були розподілені за терміном дослідження.

II серія (90 щурів) – щурі з дірчастим дефектом великогомілкових кісток, яким моделювалася загальна дегідратація за А.Д.Соболевою (1975) шляхом утримання тварин на повністю безводній дієті. Як їжу вони отримували гранульований комбікорм. Цю серію розбили на 3 групи. У першій групі моделювався легкий ступінь зневоднення, якого досягали за три дні. У другій групі моделювався середній ступінь дегідратації, коли водний дефіцит, визначений за різницею висушеної тушки, становив стосовно до контролю 6-10% і досягався протягом 6-7 днів експерименту. Третя група, де моделювався важкий (сублетальний) ступінь зневоднення і коли різниця у вмісті загальної вологи у дослідної та інтактної груп становила вище 10%. Цей ступінь дегідратації досягався протягом 10-12 днів експерименту.

III серія (96 щурів) – тварини з дірчастим дефектом великогомілкових кісток, яким моделювалося клітинне зневоднення. Щурі отримували як пиття 1,5% гіпертонічний розчин кухонної солі, а як їжу – гранульований комбікорм. Тварини цієї серії також були поділені на три групи. У першій групі моделювалася клітинна дегідратація легкого ступеня. Тваринам за дві години до забою вводили внутрішньоочеревинно 3% розчин радонату натрію і визначали в крові за Є.Б.Берхіним та Ю.І.Івановим воду позаклітинного сектору. Потім тушку висушували в сушильній шафі при $t=105^{\circ}\text{C}$ до сталої маси і вираховували загальну вологість. За різницею між показниками загальної та позаклітинної вологи вираховували клітинну воду. В цій групі дефіцит клітинної води стосовно до контролю становив 2-5% - легкий ступінь зневоднення (досягається протягом 7-10 днів). Друга група

шурів - коли протягом 16-20 днів досягався 5-10% дефіцит клітинної вологи, тобто середній ступінь даного зневоднення. Третя група – моделювання важкого ступеня клітинної дегідратації, коли дефіцит клітинної води стосовно до контролю становив вище 10%. Сублетальний ступінь клітинного зневоднення досягався за 28-30 днів досліду.

IV серія (102 шурі) – шурі з дірчастим дефектом великогомілкових кісток, яким проводився експеримент із позаклітинною дегідратацією. Тварини цієї серії також розбиті на 3 групи. У першій групі моделювався легкий ступінь зневоднення, коли кількість позаклітинної рідини на 2-5% менша від контрольних показників. Цей ступінь позаклітинної дегідратації досягався протягом місяця таким чином: тваринам давали бідистильовану воду з розчиненням у ній діуретиком (лазикс), а харчовий раціон складався із знесоленої (вивареної) маломінералізованої їжі. У другій групі моделювалося позаклітинне зневоднення середнього ступеня протягом двох місяців експерименту (дефіцит позаклітинної рідини за радонатом натрія 6-10%). У третій групі – позаклітинне зневоднення важкого ступеню досягалося протягом трьох місяців експерименту (дефіцит позаклітинної води вище 10% стосовно до контролю).

V серія (90 шурів) – корекція репаративного остеогенезу тварин з дірчастим дефектом великогомілкових кісток в умовах дегідратації важкого ступеню. Тварини цієї серії розподілялися на 3 групи залежно від виду зневоднення. Тварини отримували препарат тималін для корекції репаративного остеогенезу: перша група - при загальній дегідратації важкого ступеня; друга група – при клітинній дегідратації важкого ступеня, третя група – при позаклітинній дегідратації важкого ступеня.

Перед застосуванням вміст ампули тималіну розчиняли в 2 мл ізотонічного розчину натрію хлориду і вводили внутрішньом'язово в дозі 2 мг/кг один раз на добу протягом усього терміну експерименту.

Розрахунок дози проводили з урахуванням рекомендацій Р.С. та Ю.Р. Риболовлевих. Формула розрахунку має такий вигляд:

Доза для щура = гЧДоза для людини / R,

де г – коефіцієнт видової витривалості для щура = 3,62;

R – коефіцієнт видової витривалості для людини = 0,57.

Вибір використаного в роботі препарату не випадковий: тималін - широко застосовується в клінічній практиці. Одними із показань до його застосування є порушення регенераторних процесів при переломах кісток, гострі й хронічні гнійно-запальні захворювання кісток і м'яких тканин, а також пригнічення імунітету і кровотворення після проведеної променевої терапії або хіміотерапії. Роботами Ткача Г.Ф. (2005) доведено позитивний вплив тималіну на регенераторні процеси в довгих кістках в умовах комбінованого впливу іонізуючого опромінення і солей важких металів.

В експерименті використаний препарат, що випускається Київським державним підприємством з виробництва бактерійних препаратів "Біофарма", затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я України від 04.04.2000 №67 з реєстраційним свідоцтвом № Р 04.00/01599.

Тваринам усіх експериментальних серій завдавали травму обох великогомілкових кісток по досягненню відповідного ступеня зневоднення і переводили на звичайний питний раціон.

По завершенні терміну досліду декапітацію щурів проводили під ефірним наркозом через 3, 10, 15 та 24 доби після операції відповідно до стадій репаративного остеогенезу [Корж Н.А., Дедух Н.В., 2006]. У зв'язку із затриманням репаративних процесів виконувалося дослідження репаративного остеогенезу на 45-ту добу у тварин другої серії, яким моделювалося клітинне зневоднення важкого ступеня, та третьої серії - у тварин з позаклітинним зневодненням середнього та важкого ступенів. Після виведення щурів з досліду у них забирали великогомілкові кістки.

Структурно-метаболичні прояви репаративного остеогенезу вивчали за допомогою таких методів дослідження:

1. Остеометричний. Остеометричне дослідження великогомілкових кісток щурів проводили лише в останній термін спостереження, щоб виявити загальні зміни росту та формоутворення травмованих кісток. Остеометрія довгих трубчастих кісток містила такі показники: найбільша довжина кістки, найбільша ширина проксимального та дистального епіфізів, найбільша ширина та передньозадній розмір середини діяфіза.

2. Гістологічне дослідження ділянки дефекту. Готували гістологічні зрізи кісткового мозоля за загальноприйнятою методикою та забарвлювали їх гематоксилін-еозином і за Романовським-Гімзе. Отримані препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа "OLIMPUS".

3. Морфометрія гістологічних препаратів. Морфометричні дослідження проводили за допомогою комп'ютерних програм "Відео Тест 5,0" та "Відео розмір 5,0". Через 3 дні після нанесення дефекту вивчався клітинний склад регенерату у вигляді відсотка окремих популяцій клітин від їх загальної кількості в ділянці дефекту. Проводився підрахунок фібробластів, макрофагів, лімфоцитів, плазмоцитів, нейтрофілів та малодиференційованих клітин.

У гістологічних препаратах, отриманих у подальші терміни репаративного остеогенезу, проводилося визначення відсоткового вмісту грануляційної, фіброретикулярної, грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканин. Здійснювалося вимірювання товщини кісткових трабекул на периферії та у центральній ділянці дефекту, а також загальної площі судин у регенераті та середнього діаметра судин регенерату.

4. Ультрамiкроскопiя регенерату. Пiд час проведення електронно-мiкроскопiчного дослiдження вивчалися остеобласти регенерату на 10, 15, 24 та 45-ту (у вiдповiдних групах) добу.

Ультратонкi зрiзи виготовляли на вдосконаленому ультрамiкротомi УМТП-6, вмонтовували на електролiтичнi сiточкi, якi пiсля контрастування цитратом свинцю вивчали пiд електронним мiкроскопом ЕМВ-100БР при прискорювальнiй напрузi 75 кВ. Збiльшення пiдбиралося адекватно до мети дослiдження i коливалося в межах 20000-60000 крат.

5. Растрова електронна мiкроскопiя з мiкроаналiзом поверхнi кiстки. Для аналізу розподiлу кальцiю та фосфору на поверхнi травмованої кiстки видiляли великогомiлковi кiстки та проводили видалення всiх м'яких тканин. Зважаючи на структуру кiсткової тканини, що мiстить велику кiлькiсть мiнеральних речовин, та необхiднiсть дослiдження взятих зразкiв методом атомної абсорбцiйної спектروفотометрiї, ми не проводили спецiальної обробки органу. Пiсля видалення кiстки вiдбувалося її висушування на повітрі до повної втрати вологи, що є необхiдною умовою для дослiдження зразка методом РЕММА. Пiсля остаточного висушування кiстки проводили вивчення морфологiчних особливостей регенерату i кiлькiсного вiмiсту кальцiю та фосфору за допомогою растрового електронного мiкроскопа РЕММА-102 при збiльшеннi вiд 10 до 2500 разiв.

Визначення вiмiсту кальцiю та фосфору на РЕММА проводили в 3 точках, що попередньо були визначенi за допомогою РІХЕ: безпосередньо в дефектi, на поверхнi материнської кiстки бiля регенерату та на вiдстанi 10 мм вiд дефекту.

6. Визначення хiмiчного складу. Видiляли дiлянку дефекту з прилеглою кiсткою i висушували до сталої ваги при температурi 105°C у сушильнiй шафi. За рiзницею у вазi вологостi i сухої кiсток визначали її вологiсть. Потiм висушену тканину спалювали в порцелянових тиглях у муфельнiй печi при температурi 450°C упродовж 48 годин. Шляхом зважування попелу вираховували загальну кiлькiсть мiнеральних речовин на сухий залишок. На атомному абсорбцiйному спектروفотометрi С-115М1 за загальноприйнятю методикою визначали кiлькiсть кальцiю (довжина хвилi - 422,7 нм), калiю (довжина хвилi - 766,5 нм), натрiю (довжина хвилi - 589,5 нм), магнiю (довжина хвилi - 285,2 нм), мiдi (довжина хвилi - 324,7 нм), цинку (довжина хвилi - 213,9 нм), залiза (довжина хвилi - 248,3 нм) i марганцю (довжина хвилi - 279,5 нм), а також вiмiст фосфору колориметрично за Бригсом на електрофотоколориметрi.

7. Вивчення тривкiсних (мiцнiсних) властивостей кiсток. Для вивчення фiзико-механiчних тривкiсних властивостей видiляли великогомiлкову кiстку з дефектом i проводили визначення її мiцностi на розрив та стискання. Визначення механiчних властивостей кiсток проводили тiльки в останнiй термiн спостереження. Для визначення залежностi мiж силою тривкостi на розтягнення та на стиснення використовували спецiальний пристрiй, за

допомогою якого ми змогли визначити поздовжні сили кісток (P , кгс) через дію на них зовнішніх сил.

Остаточні розрахунки тривкості виражаються у таких параметрах: поздовжня руйнівна сила зразка (кгс), межа міцності (кгс/мм²), модуль Юнга (Па) та жорсткість поперечного перерізу (H).

У зв'язку з тим що визначення тривкості кісток передбачає велику кількість матеріалу в останній термін спостереження використовували вдвічі більше тварин.

8. Визначення мікротвердості кістки. Вивчення мікротвердості проводили за допомогою приладу ПМТ-3. Перед проведенням дослідження поверхню кістки зашліфовували та фіксували зразок на металевому столику за допомогою епоксидних смол. Визначення числа твердості проводили в місці травми та на поверхні материнської кістки на відстані 10 мм від місця травми. Для визначення мікротвердості в досліджуваній зразок під дією навантаження P удавлювалась алмазна піраміда. У наших дослідах величина навантаження становила 0,1 кгс. Після дії навантаження на поверхні зразка залишається відбиток у вигляді піраміди з квадратною основою. Для визначення числа твердості H , кгс/мм², навантаження P ділять на умовну площу бічної поверхні відбитка

$$H = 1,8544(P/d^2),$$

де P – навантаження на піраміду; d – діагональ відбитка.

9. Дослідження крові. Матеріалом для дослідження була венозна кров піддослідних тварин, яку центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хвилин. У отриманій сировотці визначалися вміст білка, загального кальцію та активність лужної фосфатази [Корячкин В.А., 2001].

Усі отримані цифрові дані оброблялися статистично на персональному комп'ютері з використанням пакета прикладних статистичних комп'ютерних програм для Windows і Excel [Автандилов Г.Г., 2002, Лапач С.Н., 2000]. Достовірність розбіжності експериментальних і контрольних даних оцінювали з використанням критерію Стюдента, вірогідною вважали ймовірність похибки менше 5% ($p \leq 0,05$). Також був проведений кореляційний аналіз із метою кількісної оцінки ступеня взаємозв'язків показників x і y та розрахований коефіцієнт кореляції $r_{x/y}$. Показником x були кількість кальцію та фосфору на 3-тню, 10-ту, 15-ту та 24-ту добу; показником y – площа грубоволокнистої та пластинчастої кісткових тканин на 15-ту та 24-ту добу, межа тривкості та модуль Юнга при стисканні та розтягуванні, число твердості в ділянці регенерату та на відстані. Якщо $r_{x/y}$ досягав значення від $\pm 0,30$, силу зв'язку між досліджуваними ознаками вважали слабкою, від $\pm 0,31$ до $\pm 0,69$ – середньою і від $\pm 0,70$ до $\pm 0,99$ – сильною. З метою виявлення факту й ступеня впливу контрольованих факторів (ступінь, вид зневоднення і їх взаємодія) на результуючі ознаки провели двофакторний дисперсійний аналіз [Васильев А.Н., 2004; Макарова Н.В., Трофимец В.Я., 2002]. Результуючими ознаками були показники гістоморфометрії, біохімії

крові, мікроаналізу поверхні регенерату, хімічного складу регенерату, тривісних властивостей ушкоджених кісток.

Результати дослідження та їх обговорення. Мікроскопічна характеристика регенерату великогомілкової кістки (ВГК) контрольних щурів на першій стадії репаративного остеогенезу (3-тя доба) характеризується мозаїчною картиною стану клітинних і тканинних елементів, гематома фрагментується на ділянки, заселені нейтрофільними гранулоцитами. Підсилюється васкуляризація періостальної частини кістки, яка обумовлена активним ростом і новоутворенням судин. У періостальній фіброретикулярній тканині починається формування кісткових балочок. Клітини, які складають проліферат окістя, мають частково фібробластоподібний, частково остеобластоподібний вигляд. В ендостальній зоні порівнянно з періостальною виявляється більш тонкий шар проліферуючих клітинних елементів, який також дещо потовщений у напрямку лінії ушкодження без видимої міжклітинної речовини.

У зоні ушкодження великогомілкової кістки щурів, яким моделювався легкий ступінь різних видів зневоднення, у перший термін дослідження теж спостерігалися залишки гематоми, площа якої при загальному і клітинному зневодненні аналогічна контрольній групі тварин. При позаклітинному зневодненні кров'яний згусток має більші розміри і менше піддається реорганізації. Ділянка дефекту заповнена клітинами, серед яких переважають фібробласти. Їх найбільше при загальній дегідратації ($30,84 \pm 0,27\%$), а найменше - при позаклітинному зневодненні ($27,52 \pm 0,26\%$). Фібробласти перебувають у стадії активного синтезу міжклітинної речовини, яка формує прошарки фіброретикулярної тканини. Найбільш суттєві зміни відбуваються з нейтрофілами, що свідчить про інтенсивність фагоцитарного процесу після ушкодження тканини. Кількість нейтрофілів зростає від $9,07\%$ ($p < 0,05$) - при загальній дегідратації до $53,80\%$ ($p < 0,001$) - при позаклітинному зневодненні (рис. 1). По периферії дефекту починають формуватися капіляри синусоїдного типу з великою кількістю периваскулоцитів та фібробластів навколо.

У цей самий час в умовах впливу середнього ступеня зневоднення більша частина дефекту теж виповнена кров'яним згустком. Молода грануляційна тканина, площа якої зменшена в порівнянні з контролем при всіх видах дегідратації, містить велику кількість клітин, які якісним складом не відрізняються від контролю. Зміни відбуваються лише в кількісному вираженні.

При важкому ступені зневоднення в першій стадії регенерації спостерігаються більш суттєві зміни. Відбувається уповільнення процесу резорбції посттравматичної гематоми і формування грануляційної тканини. Зменшується кількість секретуючих фібробластів, що веде до затримки розвитку фіброретикулярної тканини.

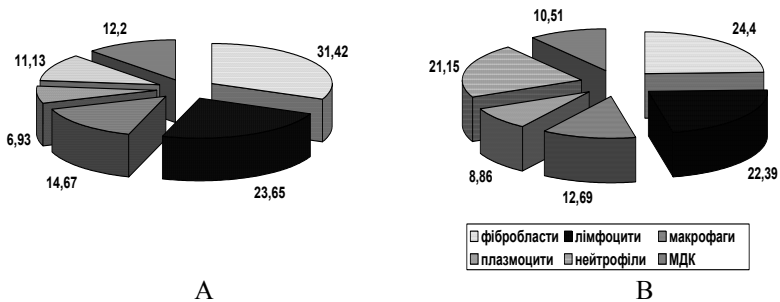


Рис. 1. Відсоткове співвідношення клітинного складу регенерату великогомілкової кістки контрольних щурів (А) та за умов важкого ступеня позаклітинного зневоднення (В) через 3 дні після нанесення дефекту.

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз морфометричних показників клітинного складу регенерату свідчить про найбільший вплив на результуючі ознаки 3-ї доби експерименту фактора ступеня дегідратації. Найменший вплив ступінь зневоднення має на вміст нейтрофілів - 66,15%. Інший контрольований фактор – вид дегідратації має в перший термін спостереження незначний, але достовірний вплив на відсотковий вміст клітин, який становить від 20,87% до 27,90%. Подібний розподіл ступеня впливу контрольованих факторів на результуючі можна пояснити високою чутливістю клітинних компонентів регенерату даної стадії саме до ступеня зневоднення.

Через 10 днів дослідження в регенераті ВГК експериментальної групи тварин спостерігалися залишки гематоми, що не характерно для даної стадії репарації у контрольних щурів. У дефекті переважають молода фіброретикулярна та грануляційна тканини, площа яких при всіх видах дегідратації збільшена порівняно з контрольною групою. Це свідчить про затримку формування грубоволокнистої тканини, об'єм якої нижче за контрольні показники. Ця тканина, що більше розміщена по периферії регенерату, представлена кістковими трабекулами. Характерною ознакою її в цей термін є неоднорідне забарвлення, що свідчить про різний ступінь кальцифікації. При легкому ступені загального зневоднення спостерігається велика кількість секретуючих остеобластів на поверхні трабекул, вміст яких зменшується з наростанням ступеня зневоднення. На поверхні таких остеобластів, а також між клітинами помітні перші порції міжклітинної речовини. Новоутворена кісткова тканина при загальній дегідратації тісно спаяна з периферичними шарами кортикальної пластинки материнської кістки, яка втрачає свою компактність. При клітинному та позаклітинному зневодненні між регенератом та материнською кісткою спостерігаються

щілиноподібні розриви. Усе це свідчить про уповільнення процесів репаративного остеогенезу вже на другій стадії формування кісткового мозоля у експериментальних щурів.

На 15-ту добу (III стадія) після травми ВГК зона дефекту представлена здебільшого фіброретикулярною та грубоволокнистою кістковими тканинами, на поверхні яких знижена кількість остеобластів. Останні утворюють великопетлясті кісткові трабекули, які заповнюють зону дефекту. Забарвлюються новоутворені трабекули менш інтенсивно, ніж материнська кістка, та нерівномірно, що свідчить про початок осифікації та її гетеротопічність. Товщина і зрілість кісткових балок порівняно з контролем зменшені. Відсоток витончення трабекул збільшується з наростанням ступеня зневоднення і більш виражений у центральних ділянках регенерату, що свідчить про порушення васкуляризації цих відділів та зменшення активності остеогенних клітин.

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз вмісту в регенераті фіброретикулярної тканини свідчить про найбільший вплив на її площу як на 10-ту, так і на 15-ту добу експерименту фактора ступеня дегідратації (69,23% і 64,54% відповідно). Найменший вплив у II стадії остеогенезу на площу фіброретикулярної тканини має вид зневоднення (0,77%), тоді як у III стадії – взаємодія факторів (5,43%).

Через 24 доби (IV стадія) після перелому кістковий мозоль ВГК експериментальних тварин при легкому ступені дегідратації майже не відрізняється від контролю. Основним морфологічним субстратом кортикальної пластинки є вже пластинчаста кісткова тканина, хоча її значно менше порівняно з контролем. Від материнської кістки вона відрізняється більшою кількістю судинних та остеоцитарних лакун. Кількість пластинок, що формують останні, зменшується, а їх діаметр дещо більший від контролю.

У цей термін при важкому ступені клітинного зневоднення та середньому і важкому ступенях позаклітинної дегідратації спостерігається затримка процесів репарації, які морфологічно подібні до передостаннього (третього) терміну остеогенезу контрольної групи тварин. У міжуламковій зоні знаходяться залишки фіброретикулярної тканини, кістковий мозоль майже не сформований і має вигляд абсолютно незрілого. Кількість остеогенних клітин на поверхні трабекул менша за контроль, забарвлення їх неоднорідне. Кортикальний шар представлений трабекулярною сіткою, але місцями помітне формування пластинчастої тканини. На межі з материнською кісткою помітні місця розривів, місточки з кісткових трабекул неоднорідної товщини.

Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту грубоволокнистої тканини свідчить про найбільший вплив на її площу з 10-ї по 24-ту добу спостереження фактора ступеня дегідратації. Але на 15-ту добу вплив ступеня зневоднення зменшується від 67,58% (на 10-ту добу) до 56,68% (на 15-ту добу), у той час як вплив фактора виду зневоднення в ці самі терміни

зростає від 24,42% до 33,82%. Найбільший вплив на вміст пластинчастої тканини має фактор ступеня зневоднення (73,77% - на 15-ту добу і 71,30% - на 24-ту добу).

На середній діаметр судини найбільший вплив на 10-ту добу має вид зневоднення (45,33%), на 15-ту добу вплив усіх контрольованих факторів суттєво знижується, і найбільший відсоток впливу спричиняє ступінь дегідратації (12,67%), а вплив виду зневоднення та взаємодії факторів перебувають майже на одному рівні (5,88% і 4,95% відповідно). На 24-ту добу вплив усіх контрольованих факторів підвищується, але найвищим залишається ступінь зневоднення (47,68%).

Кореляційний аналіз між клітинним складом регенерату на 3-тю добу виявив середньої сили взаємодію із вмістом тканин на 15-ту та 24-ту добу. Так, відсоток фібробластів має прямий кореляційний зв'язок середньої сили із вмістом грубоволокнистої та пластинчастої кісткової тканин. Коефіцієнт кореляції на 15-ту добу становив відповідно 0,525 та 0,491, на 24-ту – 0,502 та 0,538. У той самий час вміст макрофагів має негативний кореляційний зв'язок з рівнем грануляційної тканини на 10-ту добу ($r=-0,452$) та позитивний зв'язок - із вмістом грубоволокнистої кісткової тканини ($r=0,793$). Натомість вміст нейтрофілів має позитивну кореляцію із вмістом фіброретикулярної тканини на 10-ту ($r=0,478$) та 15-ту добу ($r=0,602$), але негативний зв'язок із відсотком пластинчастої тканини на 24-ту добу ($r=-0,852$). Проведення кореляційного аналізу між відсотком інших клітин регенерату на 3-тю добу та площею тканин в інші терміни спостереження показали відсутність достовірних зв'язків та зв'язки слабкої сили. Високий ступінь кореляції між клітинним складом регенерату на 3-тю добу та об'ємом тканин, що формуються в більш пізні терміни, підтверджує думку більшості дослідників про ключову роль саме першої стадії регенерації у процесах загоєння перелому.

Тільки на 45-ту добу при важкому ступені клітинної та позаклітинної дегідратації спостерігається підвищення кісткоутворювальних процесів. Дефект повністю заповнюється новоутвореною кістковою тканиною, але навіть у цей термін зберігається підвищення вмісту грубоволокнистої тканини. Пластинчаста кісткова тканина з розширеними каналами остеонів все ще займає значно менші ділянки регенерату.

Починаючи з перших термінів спостереження, у експериментальних тварин відбуваються зміни усіх досліджуваних біохімічних показників крові. Так, вміст кальцію на 3-тю добу після перелому при легкому ступені при загальній дегідратації зменшується від 5,01% ($p>0,05$) до 11,37% ($p<0,01$) при позаклітинній. Подібна тенденція відбувається в усі терміни і при всіх ступенях зневоднення. Ці показники свідчать про уповільнення мобілізації кальцію та зменшення інтенсивності ремоделювання кісткової тканини. Подібна картина відбувається і з вмістом у крові лужної фосфатази, що є маркером ремоделювання кісткової тканини. Так, на 10-ту добу активність

лужної фосфатази при середньому ступені зменшується від $3273,92 \pm 61,07$ нмоль/с*л ($p < 0,05$) при загальному до $3131,60 \pm 46,28$ нмоль/с*л ($p < 0,001$) при клітинному та до $3012,24 \pm 49,73$ нмоль/с*л ($p < 0,001$) при позаклітинному зневодненні. Найбільше збільшення білка при усіх видах та ступенях дегідратації відбувається на 15-ту добу. При важкому ступені загального зневоднення на 15-ту добу кількість білка вища за контрольні показники на 14,72% ($p < 0,01$), клітинного – на 26,52% ($p < 0,01$), позаклітинного – на 28,17% ($p < 0,001$).

Двофакторний дисперсний аналіз показників крові свідчить про найбільший вплив на результуючі ознаки на всіх стадіях регенерації фактора ступеня дегідратації. На 3-тю добу експерименту вплив ступеня дегідратації на вміст кальцію у крові становить 67,27% і поступово підвищується на 15-ту добу до 71,20%, а на 24-ту добу знижується до 64,80%. У той час як вплив виду дегідратації на 3-тю добу становить 27,49%, потім до 10-ї доби майже не змінюється, а на 15-ту добу, на відміну від кальцію, знижується до 24,10%, а до 24-ї доби поступово збільшується до 28,20%. Аналогічна картина відбувається і з впливом контрольованих факторів на вміст білка крові, тобто на 24-ту добу знижується відсоток впливу ступеня дегідратації (із 69,66% до 54,89%), а вплив виду дегідратації збільшується від 24,68% до 32,25%. Інша картина з впливом контрольованих факторів відбувається на вміст лужної фосфатази. На 3-тю добу експерименту вплив усіх факторів (ступеня та виду дегідратації, взаємодії факторів) перебуває майже на одному рівні з невеликим переважанням впливу взаємодії факторів. На 10-ту добу картина змінюється таким чином: найбільше впливає на результуючі ознаки експерименту фактор ступеня дегідратації (71,88%), а найменше – взаємодія факторів (1,55%). У наступні терміни зберігається аналогічна картина.

Хіміко-аналітичний аналіз вмісту неорганічних речовин у регенераті ВГК свідчить про затримку репаративного остеогенезу в умовах дегідратаційних порушень водно-сольового обміну організму. Наша увага була привернута до таких макроелементів, як кальцій, фосфор, натрій, калій, магній, які визначають мінеральну насиченість кістки та вміст води. Визначали також вміст марганцю, міді, цинку і заліза, які є остеотропними мікроелементами і беруть активну участь в обмінних процесах кістки.

На 3-тю добу експерименту при легкому ступені зневоднення відбувається зниження кількості кальцію від незначних величин (0,75%) при загальній до 14,81% ($p < 0,001$) при позаклітинній дегідратації. При середньому ступені зневоднення ці цифри зростають від 8,36% ($p < 0,05$) при загальному зневодненні до 26,75% ($p < 0,001$) при позаклітинному. Найбільш суттєві зміни відбуваються при важкому ступені зневоднення, і відсотковий інтервал змін порівняно з контролем перебуває у межах 18,76% - 32,00% ($p < 0,001$).

Проведений двофакторний дисперсійний аналіз вмісту кальцію у регенераті ВГК свідчить про найбільший вплив в усі терміни спостереження

фактора ступеня дегідратації, відсоток якого незмінний в усі терміни експерименту.

Рівень фосфору при легкому ступені загального та клітинного зневоднення порівняно з відповідним контролем зменшується несуттєво, а при позаклітинній дегідратації відсоток змін підвищується до рівня 15,42% ($p>0,05$) на 3-тю добу, до 12,65% ($p<0,01$) - на 24-ту добу. При середньому ступені зневоднення вміст фосфору на 3-тю добу зменшується на 8,22% ($p>0,05$) при загальній дегідратації, на 20,08% ($p>0,05$) при клітинній і на 26,19% ($p<0,05$) при позаклітинній дегідратації. На 10-ту добу кількість фосфору знижується від $2,09\pm 0,07\%$ при загальному зневодненні до $1,86\pm 0,06\%$ при клітинному і до $1,77\pm 0,05\%$ при позаклітинному. При важкому ступені зневоднення кількість фосфору при загальній дегідратації зменшується майже на 25% ($p>0,05$), при клітинній доходить до 30% ($p<0,05$) і при позаклітинній долає 30% ($p<0,05$) межу.

При проведенні двофакторного дисперсійного аналізу спостерігається цікава картина (рис. 2). На 3-тю добу спостереження серед

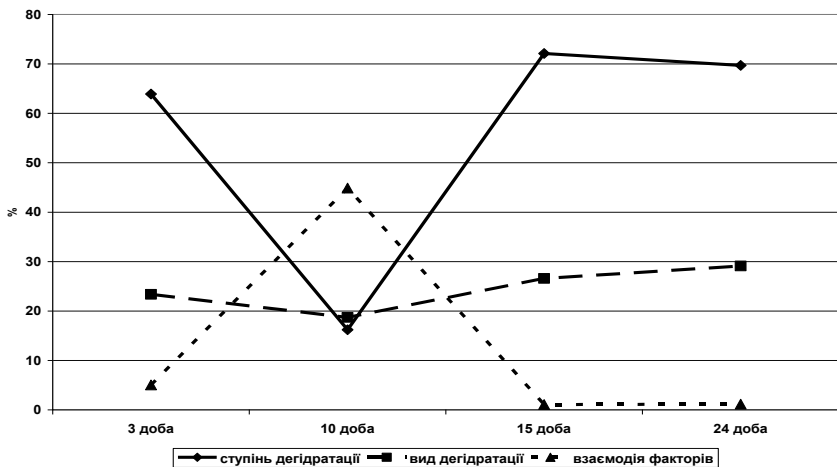


Рис. 2. Результати двофакторного дисперсійного аналізу впливу контролюючих факторів на вміст фосфору в регенератах ВГК щурів у різні терміни репаративного остеогенезу.

контрольованих факторів переважає ступінь дегідратацій (63,89%), а найменший вплив здійснює взаємодія факторів (5,05%), тоді як на 10-ту добу відбуваються протилежні зміни. Найбільший вплив має взаємодія факторів (44,88%), а фактор ступеня дегідратації знижується до 16,20% і знаходиться нижче рівня впливу виду дегідратації (18,7%). На 15-ту добу відновлюється

картина, яка спостерігалася на 3-тю добу, і найбільшим фактором виступає ступінь зневоднення (72,10%), до 24-ї доби залишається ця сама динаміка.

Проведений аналіз вмісту у кістковому мозолі ВГК щурів гідрофільного елемента натрію свідчить про зменшення його кількості в усі терміни репаративного остеогенезу при усіх ступенях і видах дегідратації. Найбільші зміни відбуваються при важкому ступені зневоднення: на 24-ту добу експерименту вміст натрію зменшується на 27,21% ($p < 0,001$), 29,93% ($p < 0,001$) і 54,76% ($p < 0,001$) при загальній, клітинній та позаклітинній дегідратації відповідно.

Кількість калію у регенераті ВГК при легкому ступені загального та клітинного зневоднення зменшується порівняно з контролем несуттєво, тоді як при позаклітинній дегідратації відсоток змін у середньому становить 17% ($p < 0,01$). При середньому ступені загального зневоднення вміст калію достовірно нижчий за контрольні показники приблизно на 10% ($p < 0,05$), при клітинному - на 12% ($p < 0,05$) і при позаклітинному - на 26% ($p < 0,01$).

Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту калію та натрію виявив найбільший вплив на результуючі ознаки експерименту фактора ступеня дегідратації. Найбільший інтервал між впливом виду та ступеня дегідратації (24,6%) на вміст натрію у регенераті спостерігається на 3-тю, а найменший (19,61%) – на 24-ту добу.

Протягом усіх термінів спостереження у всіх експериментальних групах відбувається підвищення порівняно з контролем кількості магнію, але ці зміни незначні та не перевищують 5,40%. Аналогічні коливання відбуваються і з вмістом цинку від 0,90% ($p > 0,05$) - на 3 добу при легкому ступені загального до 5,87% ($p > 0,05$) на 3-тю добу при важкому ступені позаклітинного зневоднення. Також несуттєві відсоткові зміни порівняно з контролем відбуваються і з вмістом заліза, який у перші три стадії підвищується у зв'язку з уповільненням реорганізації посттравматичної гематоми. Якщо проаналізувати зміни вмісту заліза відповідно до стадій репаративної регенерації, то кількість заліза стрімко знижується, тому що у першій стадії регенерат майже повністю зайнятий гематомою, яка у подальшому заміщується сполучною тканиною. Так, при середньому ступені клітинної дегідратації кількість заліза зменшується від $287,70 \pm 4,23$ мкг на 3-тю добу до $5,06 \pm 0,07$ мкг на 24-ту добу. Разом зі зниженням вмісту досліджуваних мікроелементів зменшується і загальна кількість мінеральних речовин. Але при легкому ступені загальної та клітинної дегідратації та при середньому ступені загальної дегідратації ці зміни незначні. При важкому ступені зневоднення на 15-ту добу вміст мінеральних речовин нижчий за контрольні показники на 14,81% ($p < 0,01$) при загальній, на 22,47% ($p < 0,001$) при клітинній і на 26,87% ($p < 0,001$) при позаклітинній дегідратації.

Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту хімічних елементів кісткового мозоля ВГК свідчить про найбільший вплив на результуючі

ознаки в усі терміни спостереження фактора ступеня дегідратації. Лише можна зазначити, що на 3-тю добу експерименту він несуттєво впливає на вміст магнію, а потім відбувається стрімке зростання цього фактора (від 3,22% на 3-тю добу до 23,70% на 10-ту добу). З 10-ї до 15-ї доби не відбувається змін у впливі ступеня дегідратації на вміст магнію, а з 15-ї доби він знижується до 15,06%. Стосовно цинку відбувається така картина: вид дегідратації впливає на кількість цинку від 3-ї до 15-ї доби на рівні між 26,13% та 28,30%, а взаємодія факторів – між 3,25% і 1,30%. На 15-ту добу вплив взаємодії факторів підвищується до 22,6%, тоді як вплив виду дегідратації зменшується до 8,60%.

Дефіцит води у регенераті ВГК зростає від легкого до важкого ступеня зневоднення. При легкому ступені загальної та клітинної дегідратації і середньому ступені загальної дегідратації відсоткові зміни незначні. При середньому ступені вміст води змінюється від $56,84 \pm 0,55\%$ до $17,05 \pm 0,57\%$ при клітинному і від $52,47 \pm 0,52\%$ до $16,18 \pm 0,41\%$ при позаклітинному зневодненні. При важкому ступені від $53,96 \pm 0,64\%$ до $15,96 \pm 0,27\%$ при загальній дегідратації, від $49,60 \pm 0,47\%$ до $17,20 \pm 0,50\%$ при клітинній, та від $48,14 \pm 0,25\%$ до $15,79 \pm 0,24\%$ при позаклітинній дегідратації.

При вивченні даних двофакторного дисперсного аналізу спостерігається найбільший вплив на вміст води у регенераті на 3-тю добу експерименту фактора ступеня дегідратації (70,30%), але, починаючи з 10-ї доби відбуваються протилежні зміни – найбільший вплив на кількість води має вид дегідратації (94,79%), і цей фактор залишає за собою лідерство до кінця експерименту.

Кореляційний аналіз між вмістом у регенераті основних елементів кісткового матриксу – кальцію та фосфору - і відсотком грубоволокнистої (ГКТ) та пластинчастої кісткової тканини (ПКТ) в останні терміни після нанесення дефекту в умовах різних видів дегідратації показав різної сили та спрямованості зв'язки. Пошук кореляції між вмістом кальцію та кількістю грубоволокнистої кісткової тканини виявив їх наявність тільки на пізніх термінах спостереження. Так, рівень кальцію на 15-ту добу має позитивний зв'язок з відсотком даної тканини ($r=0,722$) та негативний зв'язок через 24 доби після травми ($r=-0,688$). Сильні позитивні кореляційні взаємозв'язки між вмістом кальцію у різні терміни та відсотком пластинчастої кісткової тканини у регенераті на 24-ту добу після травми простежується при важкому ступені дегідратації. Так, для 1-ї стадії репарації коефіцієнт кореляції становив 0,925, для 2-ї – 0,935 та для 3-ї – 0,857. Кількість кореляційних зв'язків між вмістом фосфору і тканинним складом регенерату дещо менша, ніж для кальцію.

Таким чином, ми спостерігаємо різної спрямованості та сили кореляційні зв'язки між вмістом кальцію і фосфору та відсотком тканин регенерату у всіх досліджуваних серіях експерименту. Аналіз кореляційних взаємовідносин між досліджуваними показниками свідчить про більший

вплив кальцію на розвиток тканин регенерату, для якого характерна більша кількість та сила зв'язків з відсотком вмісту як грубоволокнистої, так і пластинчастої кісткової тканин. Звертає на себе увагу зменшення кількості та сили зв'язків зі збільшенням ступеня зневоднення. Причому подібні результати були отримані в умовах усіх видів дегідратації.

При дослідженні поверхні дефекту методом мікроаналізу привертає увагу той факт, що при усіх ступенях і видах зневоднення на 3-тю добу спостереження в зоні регенерату зовсім відсутній кальцій і досить незначні показники вмісту фосфору, з чого можна припустити, що у даний термін спостереження ділянка дефекту виповнена незвапненими м'якими тканинами.

У подальшому відбувається накопичення кальцію та фосфору на поверхні зони дефекту, але все ж таки ці показники залишаються нижчими порівняно з контрольними. При легкому ступені зневоднення на 10-ту добу кількість кальцію на поверхні регенерату при усіх видах зневоднення майже однакова і перебуває в межах 1,26-1,25 ваг%. Біля дефекту та на відстані від дефекту від стадії до стадії відбувається деяка втрата кількості як кальцію, так і фосфору, але порівняно з контрольними показниками ці величини збільшуються. У перші дві стадії регенерації усі показники растрового мікроаналізу є недостовірними. На 15-ту добу при середньому ступені зневоднення вміст кальцію на поверхні регенерату зменшується порівняно з контролем на 11,42% ($p < 0,001$) при загальній дегідратації, на 16,32% ($p < 0,001$) при клітинній і на 19,42% ($p < 0,001$) при позаклітинній дегідратації. Вміст фосфору на поверхні дефекту у цей термін і за таких самих умов знижується на 8,46% ($p < 0,05$), 15,06% ($p < 0,001$) і 20,06% ($p < 0,001$) відповідно.

На основі даних цифрових матеріалів можна припустити, що подібна тенденція свідчить про уповільнення процесів ремоделювання uszkodженої кістки та зменшення використання кальцію для осифікації місця травми. Одним із ймовірних механізмів таких змін є порушення мікроциркуляції та міжтканинного обміну в умовах зневоднення організму.

Двофакторний дисперсійний аналіз вмісту кальцію та фосфору на поверхні дефекту свідчить про найбільший вплив на ці показники ступеня дегідратації. Але, потрібно зауважити, що на 10-ту добу спостереження на вміст фосфору вплив контрольованих факторів суттєво не відрізняється. Після 10-ї доби починається стрімке зростання впливу ступеня дегідратації, який на 15-ту добу досягає найвищої точки (70,40%), до 24-ї доби суттєвих змін не відбувається. При аналізі показника кальцію на поверхні дефекту вплив факторів розподілився так: взаємодія факторів не має впливу, вид дегідратації має незначний вплив, найбільший його відсоток припадає на 15-ту добу (26,00%), ступінь дегідратації – найбільш впливає на вміст кальцію в дефекті – на 10-ту добу - 17,68%, до 24 доби - 71,20%.

Ультрамiкроскопiчна характеристика остеобластiв регенерату ВГК експериментальних щурiв дозволила визначити морфофункцiональнi особливостi формування кiсткового мозоля в умовах зневоднення органiзму. Так, вже через 10 дiб остеобласти кiсткового мозоля зазнають певних дистрофiчних змiн. Спостерiгається втрата чiткоконтурованої структури клiтинної мембрани, яка має зони лiзису. Ендоплазматичний ретикулум представлений розширеними цистернами. Ядерна мембрана утворює численнi iнвагацiї. Гранули хроматину конденсуються i розміщуються вогнищево по об'єму ядра. Мiтохондрiї надмiрно набряклi з просвітленим матриксом, кристи дезорганiзованi. Зовнiшнi мембрани мiтохондрiї часто зруйнованi.

При збiльшеннi ступеня зневоднення в остеобластах регенерату виявляються втрата електронної щiльностi матриксу, розпушування ядерної мембрани i виникнення внутрiшньоклiтинного набряку. Значних змiн зазнає ендоплазматичний ретикулум, в якому зникають трубчастi профiлi. Матрикс мiтохондрiї електронно-прозорий iз включеннями аморфної субстанцiї i пошкодженими кристами, що свiдчить про рiзке ослаблення окислювального фосфорилування i видiлення енергiї.

Через 15 днiв дослiдження в остеобластах регенерату спостерiгаються вогнешеводеструктивнi змiни внутрiшньоклiтинних органел, що свiдчить про зниження процесiв внутрiшньоклiтинної регенерацiї. Ядра пiкнотичнi з електронно-прозорим матриксом, їх мембрани втрачають свою двоконтурнiсть, частково лiзованi. При зростаннi ступеня зневоднення спостерiгається осередкове розплавлення ядерної мембрани, зовнiшнiх мембран i крист мiтохондрiї. У мiжклiтиннiй речовинi вiдбувається деструкцiя колагенових волокон. Цистерни ендоплазматичної сiтки вакуолiзованi, заповненi вiстом низької електронної густини.

На 24-ту добу спостереження субмiкроскопiчно простежується функцiональна напруженiсть метаболiчних процесiв, що структурно виявляються у нормалiзацiї компонентiв пластинчастого комплексу Гольджi та ендоплазматичної сiтки. В остеобластах регенерату ВГК щурiв при легкому ступенi зневоднення збiльшена кiлькiсть крист мiтохондрiї, що вказує на посилення рiвня внутрiшньоклiтинної енергетики.

Найбiльшi змiни ультраструктури остеобластiв регенерату ВГК вiдбуваються при важкому ступенi клiтинного i позаклiтинного зневоднення. Цистерни ендоплазматичного ретикулума клiтин розширенi i переважно розміщуються на периферичних дiлянках цитоплазми, що свiдчить про глибокi порушення синтетичної активностi клiтин. Це, безумовно, впливає на уповiльнення формування тканин регенерату.

Навiть на 45-ту добу при важкому ступенi цих видiв зневоднення не вiдбувається повного вiдновлення ультраструктури остеобластiв. Правда, краще, нiж у попереднiх стадiях, розвинутий ендоплазматичний ретикулум,

на мембранах якого міститься більша кількість рибосом. Збільшується кількість крист мітохондрій.

Таким чином, отримані дані про ультраструктуру остеобластів підтверджують результати інших методів дослідження про негативний вплив зневоднення організму на формування кісткового мозоля ВГК щурів.

Вивчення тривкісних властивостей травмованої кістки (крім мікротвердості) проводилося тільки в останній термін спостереження. При легкому ступені зневоднення межа тривкості на розтягнення у порівнянні з контролем змінюється на 9,06% ($p < 0,01$) при загальній дегідратації, на 10,40% ($p < 0,01$) при клітинній та на 12,86% ($p < 0,01$) при позаклітинній дегідратації, а межа тривкості на стискання – на 10,17% ($p < 0,05$), 11,28% ($p < 0,05$) і 13,50% ($p < 0,05$) відповідно. Більш суттєві зміни відбуваються з модулем Юнга, який зменшується при важкому ступені зневоднення при розтягуванні на 26,72% ($p < 0,001$) при загальній дегідратації, 35,39% ($p < 0,001$) при клітинній і на 45,23% ($p < 0,001$) при позаклітинній дегідратації, а при стисканні – на 26,21% ($p < 0,001$), 37,52% ($p < 0,001$) і 37,21% ($p < 0,001$) відповідно. Вивчення числа твердості показало підвищення його в регенераті від першого терміну спостереження до останнього і на відстані від регенерату, навпаки, відповідне зменшення. При легкому ступені зневоднення на 15-ту добу число твердості в регенераті становить $25,35 \pm 0,35$ кгс/мм² при загальній дегідратації, $24,96 \pm 0,41$ кгс/мм² при клітинній та $23,84 \pm 0,35$ кгс/мм² при позаклітинній. На 15-ту добу при середньому ступені число твердості в регенераті змінюється на 4,72% ($p > 0,05$) при загальному зневодненні, на 7,93% ($p < 0,01$) при клітинному і на 15,36% ($p < 0,001$) при позаклітинному. На відстані від регенерату число твердості у цей самий термін при середньому ступені зневоднення зменшується на 2,74% ($p > 0,05$) при загальній дегідратації, на 4,47% ($p < 0,01$) при клітинній і на 8,49% ($p < 0,001$) при позаклітинній.

Двофакторний дисперсійний аналіз тривкісних показників свідчить про найбільший вплив на межу тривкості та модуль Юнга при стисканні виду дегідратації, при розтягуванні на модуль Юнга більш впливає ступінь дегідратації (50,66%), а на межу тривкості – вид дегідратації (54,14%). На число твердості найбільше впливає вид дегідратації (62,32%).

Виявлення кореляційних взаємовідношень між вмістом кальцію і фосфору та тривкісними характеристиками досліджуваних кісток при легкому ступені зневоднення вказує на наявність зв'язків середнього та сильного ступенів. При важкому ступені дегідратації кількість та ступінь кореляції зростають. Виявлена наявність сильних кореляційних зв'язків ($r = 0,721 - 0,975$) між вмістом досліджуваних елементів на 10-ту добу та числом твердості в ділянці дефекту та на відстані від нього – через 24 доби після травми. Так, вміст кальцію на 3-тю добу при легкому ступені позаклітинної дегідратації має позитивний зв'язок із величиною модуля Юнга

при розтягненні ($r=0,959$) та з числом твердості на 15-ту добу в місці травми ($r=0,625$) і на відстані від нього ($r=0,809$).

Таким чином, кореляційний аналіз між вмістом кальцію та фосфору і тривкісними характеристиками кісток показав наявність сильних зв'язків для обох елементів кісткового матриксу. При цьому різний вид зневоднення характеризується наявністю достовірних кореляційних зв'язків у різні терміни репаративного остеогенезу, що підтверджує дані двофакторного дисперсійного аналізу щодо більшого впливу на тривкісні показники виду дегідратації.

У літературі за останні десятиріччя з'явилося багато різних пропозицій щодо стимуляції репаративного остеогенезу, які є показником, з одного боку, невирішеності цієї проблеми, а з іншого – свідчить про відсутність єдиної теоретичної платформи, що дозволила б пояснити дослідження в цій ділянці і зменшити кількість емпіричних розробок.

Теоретичною основою для використання тих або інших хімічних препаратів є дефіцит цих речовин у сировотці крові чи в зоні ушкодження, або дані, отримані в інших галузях медицини про біологічну активність цих речовин. Враховуючи багатокомпонентний і взаємозв'язаний перебіг біологічних процесів, можна зрозуміти, чому ці речовини якщо і спричиняють певне скорочення термінів відновного процесу, то обмежено, оскільки будь-який їх надлишок повинен бути додатковим навантаженням для системи гомеостазу. Перебіг цитогенетичних, гістогенетичних і органогенетичних процесів при відновленні кістки може бути пов'язаний з дією біологічно активних речовин, таких як вітаміни, гормони, ефективність яких була перевірена експериментально.

Наявність морфофункціональних перетворень репаративного остеогенезу довгої кістки при дегідратаційних порушеннях водно-сольового обміну змусила нас провести пошук препарату, що нівелює дані зміни. Після попередніх випробувань ми зосередили увагу на препараті тималін, який стимулює імунітет і поліпшує процеси регенерації, широко використовується в клінічній практиці.

На 3-тю добу в групі тварин, яким моделювався важкий ступінь загального зневоднення на фоні приймання тималіну, якісна гістологічна характеристика регенерату ВГК майже не відрізнялася від контрольної групи тварин. При важкому ступені клітинного зневоднення і застосування коректора відмічаються більш широкі поля крововиливів. При позаклітинній дегідратації важкого ступеня і під час приймання тималіну гематома займає масивні поля, менш організована, ніж при інших видах зневоднення. Матрикс пронизаний судинами, але їх кількість зменшена.

Морфометрія наочно вказує на коригувальний вплив тималіну. Якщо кількість фібробластів при важкому ступені загального зневоднення зменшена у порівнянні з контролем на 19,41% ($p<0,001$), то під час приймання тималіну – на 2,16% ($p>0,05$), при позаклітинному – на 28,40%

($p < 0,001$) і 8,56% ($p < 0,01$) відповідно. Кількість нейтрофілів у першому випадку збільшена на 85,80% ($p < 0,001$) і 11,77% ($p < 0,01$), а в другому – на 86,68% ($p < 0,001$) і 27,28% ($p < 0,01$) відповідно. Як бачимо, різниця разюча.

На 10-ту добу спостереження у першій групі тварин цієї серії спостерігається розростання остеогенної тканини по ділянці дефекту, починають формуватися кісткові балочки, між якими міститься фіброретикулярна тканина. У другій групі тварин спостерігаються залишки гематоми, яка піддається реорганізації. Також починається формування незрілих кісткових трабекул.

Під час аналізу морфометричних показників наочно виявляється позитивний вплив тималіну на репаративний процес, особливо у першій групі тварин. Так, площа фіброретикулярної тканини на 10-ту добу зменшена при загальній дегідратації на 8,56% ($p < 0,01$), а при цьому самому виді зневоднення і прийманні тималіну – на 3,07% ($p < 0,05$), при клітинному зневодненні – на 5,47% ($p > 0,05$) і на 2,89% ($p > 0,05$), при позаклітинному – 6,08% ($p < 0,05$) і на 3,53% ($p < 0,01$) відповідно. Таким чином, спостерігається позитивна тенденція, більш виражена у першій групі експериментальних тварин.

На 15-ту добу досліду в усіх групах тварин цієї серії спостерігається розвинута сітка кісткових балочок, які більш зрілі у першій групі тварин. Відбувається їх перебудова із дрібнопетлястої сітки на великопетлясту. Товщина трабекул і в центрі, і по периферії залишається нижчою, ніж у контролі, але вищою, ніж при важкому ступені зневоднення. Кількість грубоволокнистої тканини зменшена під час приймання тималіну на 6,0% ($p < 0,01$) - при загальній дегідратації, на 6,08% ($p < 0,05$) - при клітинній і на 6,79% ($p < 0,05$) - при позаклітинній, у той час як без застосування коректора – на 16,22% ($p < 0,001$), 24,38% ($p < 0,001$) і 30,45% ($p < 0,001$) відповідно.

На 24-ту добу спостереження навіть у тварин третьої групи спостерігається густа сітка кісткових трабекул, які піддаються осифікації. У кортикальному шарі відбувається формування пластинчастої тканини, площа якої збільшується у порівнянні з важким ступенем на 27,78% ($p < 0,001$) - при загальній, на 40,56% ($p < 0,001$) - при клітинній та на 43,49% ($p < 0,001$) - при позаклітинній дегідратації. Тобто порівнювані відмінності в усіх гістоморфометричних показниках між експериментальною і контрольною групами визначаються на користь застосування тималіну.

Аналіз біохімічних показників крові також свідчить про позитивний вплив тималіну на перебіг репаративного процесу. Так, кількість кальцію, який відіграє певну роль у підтримці структурно-функціональної цілісності кісток і бере участь у дії ферментів, гормонів, зменшується при застосуванні коректора на 2,92%-11,63% ($p < 0,05$), а без нього – на 10,46%-24,17% ($p < 0,05$). Вміст лужної фосфатази у порівнянні з контролем зменшується, але

у порівнянні з важким ступенем зневоднення, навпаки, підвищується, що свідчить про інтенсивність тканиноутворення.

Під час аналізу кількісного складу хімічних елементів у кістковому мозолі при прийманні тималіну звертає увагу зниження таких остеотропних елементів, як кальцій та фосфор на 1,8%-8,87% і на 1,93%-8,42%, а за відсутності коректора – на 24,35%-30,74% ($p<0,05$) і на 23,85%-30,88% ($p<0,05$) відповідно. На ефективність тималіну вказують і порівнювані показники вмісту натрію і калію у групі з корекцією, кількість яких зменшена на 8,22%-15,18% ($p<0,001$) і на 6,21%-13,18% ($p<0,001$). Вміст цих самих елементів у мозолі тварин у групах без застосування тималіну нижчий на 27,89%-54,76% ($p<0,05$) і 24,87%-39,64% ($p<0,05$) відповідно.

Застосування тималіну призводить до нормалізації показників мікроаналізу поверхні травмованої кістки, про що свідчить підвищення кількості кальцію та фосфору в зоні регенерату порівняно з важким ступенем зневоднення. На 15-ту добу кількість кальцію в регенераті у групі тварин із прийманням тималіну нижча на 7,34% ($p<0,001$) при загальній, 8,47% ($p<0,001$) при клітинній і 12,74% ($p<0,001$) при позаклітинній дегідратації, в аналогічних групах без коректора – на 18,29% ($p<0,001$), 22,28% ($p<0,001$) і 25,14% ($p<0,001$) відповідно.

Ультрамікроскопія регенерату ВГК у тварин при застосуванні тималіну підтверджує дані гістоморфометрії. Так, на 10-ту добу спостереження розвиваються гіперпластичні і компенсаторно-приспосувальні процеси у вигляді розширення цистерн ендоплазматичної сітки, гіпертрофії комплексу Гольджі, набухання мітохондрій. Усе це, ймовірно пов'язано з включенням резервних механізмів внутрішньоклітинної регенерації і спрямовано на посилення активності органел остеобластів регенерату.

На 15-ту добу в усіх досліджуваних групах цієї серії експерименту з'являються ознаки посилення біоенергетичного забезпечення синтетичних клітинних реакцій, що спричиняє посилення репаративних процесів. Але у третій групі тварин остеобласти регенерату все ще мають ушкодження мембран ендоплазматичного ретикулуму, ділянки деструкції зовнішніх мембран та крист мітохондрій, розширені перинуклеарні простори.

В останній термін дослідження (24-та доба) ультраструктура остеобластів регенерату при застосуванні тималіну близька до контрольних тварин. Лише в групі з позаклітинним зневодненням трапляються остеобласти, що мають лізовану ядерну оболонку, розпушену ядерну мембрану, в мітохондріях спостерігаються зони електронної прозорості. Все це свідчить про деяке зниження процесів внутрішньоклітинної регенерації і синтезу колагену.

Позитивною динамікою характеризуються і показники тривісних властивостей ушкоджених кісток. В усі терміни спостереження в усіх групах тварин відбувається зменшення числа твердості в зоні регенерату в порівнянні з контролем, але підвищення відносно важкого ступеня

зневоднення. На 15-ту добу воно зменшене з 4,87% ($p < 0,05$) (загальне зневоднення) до 16,86% ($p < 0,001$) (позаклітинне зневоднення) у групі тварин, яким застосовувався тималін, з 6,48% ($p < 0,05$) до 20,68% ($p < 0,001$) без застосування коректора відповідно. На користь тималіну свідчить і межа тривкості, яка в останній термін спостереження при стисканні достовірно зменшується від $15,14 \pm 0,38$ кг/мм² (загальне зневоднення) до $17,20 \pm 0,32$ кг/мм² (клітинне зневоднення) і до $10,99 \pm 0,25$ кг/мм² (позаклітинне зневоднення) при застосуванні коректора, а без нього – $13,27 \pm 0,25$ кг/мм², $12,80 \pm 0,47$ кг/мм² і $10,38 \pm 0,33$ кг/мм². Модуль Юнга при розтягуванні в першому випадку зменшується на 9,03% ($p < 0,01$), 10,88% ($p < 0,05$) і 29,077% ($p < 0,001$), а в другому – на 26,72% ($p < 0,001$), 30,94% ($p < 0,001$) і 44,38% ($p < 0,001$).

Таким чином, застосування тималіну в основному, нівелює негативний вплив дегідратаційних порушень водно-сольового обміну, поліпшує структурну організацію кісткового мозоля і прискорює процеси репаративного остеогенезу, особливо при загальному зневодненні організму.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової проблеми, яка полягає у визначенні морфофункціональних механізмів репаративного остеогенезу довгої кістки скелета в нормі та в умовах дегідратаційних порушень водно-сольового обміну різних видів і ступенів. Рекомендований препарат для корекції структурних змін формування регенерату. Отримані дані є основою для подальших експериментальних та клінічних досліджень.

1. Загоєння дефекту великогомілкової кістки контрольних тварин проходить чотири стадії, яке в короткий термін повторює фізіологічний остеогенез та завершується утворенням зрілого в морфологічному і функціональному відношеннях кісткового мозоля. Виявлені прямі кореляційні зв'язки між клітинним складом регенерату на початковій стадії та подальшим формуванням у ньому грубоволокнистої та пластинчастої кісткових тканин, що свідчить про ключову роль першого терміну репарації. Біохімічні показники крові у тварин контрольної серії характеризуються різким зростанням вмісту кальцію на 10-ту добу спостереження, високим рівнем лужної фосфатази у першій термін репаративного процесу, що свідчить активність кісткоутворення і мінерального обміну.

2. Загальне зневоднення організму призводить до уповільнення формування кісткового регенерату, що виявляється у клітинному дисбалансі на першій стадії репарації у вигляді зростання відсотка нейтрофілів на 9,07-85,80% та зменшення вмісту фібробластів на 19,41%. Зрушення клітинних взаємовідношень викликає порушення гістогенезу на наступних стадіях регенерації, про що свідчать уповільнення регресії гематоми, збільшення вмісту грубоволокнистої тканини на 16,56-21,69%, зменшення рівня

пластинчастої тканини на 8,07- 23,51% та витончення новоутворених кісткових балочок на 7,24-13,52%. Остеобласти регенерату зазнають дистрофічних змін у вигляді втрати чіткоконтурованої структури ядерної мембрани і дезорганізації крист мітохондрій. Збільшення ступеня дегідратації веде до формування незрілого кісткового мозоля.

3. Клітинне зневоднення організму викликає суттєву затримку репаративного остеогенезу великогомілкової кістки щурів. На 3-тю добу після травми зменшується вміст на 16,29-24,72% фібробластів та на 10,23-15,06% макрофагів, особливо їх секретуючого фенотипу на фоні стрімкого зростання відсотка нейтрофілів, рівень яких збільшується пропорційно ступеню зневоднення. Залишки гематоми трапляються аж до 15-ї доби після травми. Погіршується заміщення фіброгенного компонента кістковою тканиною, що визначається наявністю грануляційної і фіброретикулярної тканин навіть на третій та четвертій стадіях регенерації. Площа судин регенерату зменшена в порівнянні з контролем на 6,70-17,66%. В остеобластах спостерігаються дегенеративні процеси, які виражені в пікнозії їх ядер, розширенні цистерн грануляційного ендоплазматичного ретикулула. В умовах сублетальної клітинної дегідратації формування морфологічно зрілого регенерату відкладається з 24-ї на 45-ту добу кісткової регенерації.

4. Позаклітинне зневоднення організму призводить до найбільш значного порушення репаративного остеогенезу, яке виявляється навіть при легкому ступені дегідратації. На першій стадії репаративного процесу спостерігається значне зменшення відсотка фібробластів (на 12,42-28,40%) та макрофагів (на 6,79-18,18%) і зростання вмісту нейтрофілів майже в 2 рази. Окрім затримки регресії гематоми, залишки якої наявні навіть через 15 днів після травми, кількість та площа судин регенерату значно менші за контроль (8,12-18,55%) в усі терміни спостереження. Через 24 доби загоєння перелому в регенераті наявна фіброретикулярна тканина, що дуже повільно трансформується в молоду кісткову. Формування останньої різко сповільнюється, зменшується товщина новоутворених балочок на 11,38-23,46%. В остеобластах мозоля виражені деструктивні зміни у вигляді осередкованого розплавлення ядерної мембрани і крист мітохондрій. Навіть через 45 днів після травми сформований кістковий мозоль характеризується підвищеним вмістом грубоволокнистої та наявністю незрілої пластинчастої кісткової тканин.

5. У периферичній крові травмованих щурів зневоднення організму викликає зниження активності лужної фосфатази на всіх термінах спостереження, особливо при позаклітинній дегідратації (до 21,23%). Спадає в порівнянні з контролем також вміст кальцію (на 11,37-19,36%), що свідчить про зменшення активності обміну даного елемента в травмованій кістці. Найбільший дефіцит його рівня відбувається на 10-ту добу остеорепації під час процесів кальцифікації органічної складової регенерату. Натомість вміст білка плазми крові зростає на 8,06-28,17%, що є наслідком зменшення

процесів синтезу органічного матриксу. Зміни всіх досліджуваних біохімічних показників крові залежать як від виду дегідратації, так і від її ступеня – найбільш виражені відмінності з контролем спостерігаються при позаклітинній дегідратації за умов середнього і важкого ступенів порушення водно-сольового обміну.

6. При всіх видах дегідратації організму відбувається зменшення мінералізації регенерату, що виявляється у зниженні вмісту основних елементів кристалічної ґратки гідроксилапатиту - кальцію та фосфору (на 8,36– 32,00% та 7,60-32,33% відповідно). Порушення обміну кісткової тканини супроводжується зменшенням рівня в мозолі також таких мікроелементів, як мідь, марганець та цинк. Зменшення швидкості регресії гематоми виявляється у збільшенні на 3,39-5,54% кількості заліза в досліджуваних регенератах кісток. Дегідратація організму супроводжується зменшенням вмісту води, калію та натрію в ділянці кісткового дефекту. Мікроаналіз поверхні травмованої кістки вказує на незначну втрату кальцію та фосфору в неушкоджених ділянках кісток, що свідчить про затримку обмінних процесів у кістковій тканині, як на можливу причину зниження швидкості звапніння регенерату.

7. В умовах дегідратації організму відбувається зниження тривкості кісток на стиснення і розтягнення, зменшення якої залежить як від виду, так і від ступеня зневоднення. Максимальне зниження межі тривкості (на 42,05%) спостерігається при позаклітинній дегідратації організму. Число твердості зазнає значного зменшення як у ділянці дефекту, так і на відстані від нього та залежить від обох контрольованих чинників, що вказує на затримку ремоделювання кісткового матриксу та втрату кальцію.

8. Визначено достовірно переважний вплив ступеня зневоднення на більшість досліджуваних морфометричних, біохімічних та хіміко-аналітичних показників, між якими існують високі кореляційні взаємозв'язки. Вид порушення водно-сольового обміну опосередковує функціональний стан кісткового мозоля і має значний вплив на рівень води в досліджуваних кістках, на число твердості та на межу тривкості при стисканні і розтягненні.

9. Вживання препарату тималін нівелює ушкоджувальний вплив зневоднення організму на формування регенерату травмованих великогомілкових кісток та їх тривкісні властивості. Значно прискорюються мінеральний обмін та внутрішньоклітинна регенерація, що приводить до нормалізації, в певній мірі, утворення кісткового мозоля та його звапніння. Чітко простежуються стадійність утворення кісткового мозоля і терміни загоєння перелому. Особливо позитивний коригуючий ефект тималіну спостерігається в умовах загальної і клітинної дегідратації організму.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Отримані нами результати розширюють і поглиблюють уявлення про особливості репаративного процесу в умовах дегідратації. Ці відомості можна використовувати при вивченні відповідних розділів навчального матеріалу на кафедрах нормальної анатомії, гістології, патологічної анатомії, травматології та ортопедії і у науковій роботі цих кафедр.

2. Результати експериментального дослідження можна застосовувати в клініках травматології та ортопедії як морфологічне обґрунтування для розроблення профілактичних і лікувальних заходів, спрямованих на попередження негативних наслідків при загоєнні переломів кісток у хворих із порушенням водно-сольового балансу організму.

3. Використання препарату тималін сприяє підвищенню ефективності терапії при лікуванні травм опорно-рухового апарату, ускладнених розладами метаболічних процесів організму.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Сікора В.З. Зміни репаративного остеогенезу при порушеннях водно-сольового обміну / В.З. Сікора, В.І. Каваре, Л.І. Кіпченко // Вісник проблем біології та медицини. - 2003. - №1. - С. 29-30. (Здобувачем особисто проведено експеримент та статистичну обробку результатів).

2. Сікора В.З. Ультрамикроскопія кісткового регенерату під впливом клітинного зневоднення / В.З. Сікора, В.І. Полякова // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. - 2006. - Т.142, ч. I. - С. 72-73. (Дисертантом особисто проведено експеримент, статистичну обробку результатів та підготовлено статтю до публікації).

3. Полякова В.І. Мікроструктурні зміни в регенераті трубчастих кісток в умовах дегідратаційних порушень водно-сольового обміну / В.І. Полякова, Г.Ф. Ткач // Вісник проблем біології і медицини. - 2006. - Вип. 2. - С. 277-278. (Автором оброблені отримані результати, підготовлена стаття до друку).

4. Сікора В.З. Гістологічні перетворення кісткового регенерату довгої кістки в умовах позаклітинної дегідратації / В.З. Сікора, В.І. Полякова, Г.Ф. Ткач // Вісник морфології. - 2006. - Вип.12 (2). - С. 199-201. (Дисертантом проведено експеримент, опрацьовані отримані результати та підготовлена стаття до публікації).

5. Полякова В.І. Ультраструктура остеобластів регенерату довгої кістки під впливом загального зневоднення організму / В.І. Полякова, Г.Ф. Ткач // Таврический медико-биологический вестник. - 2006. - Т. 9, №3.

–С. 138-140. (Дисертантом проведено експеримент, опрацьовані отримані результати та підготовлена стаття до публікації).

6. Біохімічні показники крові в різні терміни репаративного остеогенезу / В.З. Сікора, М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер [та ін.] // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. - 2007. – Т. 143, ч. IV. – С. 84-86. (Автором статистично оброблено отримані результати).

7. Гістоморфометрія та клітинний склад регенерату великогомілкових кісток щурів / В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, М.В. Погорелов [та ін.] // Вісник морфології. – 2007. - №13 (2). – С. 275-278. (Дисертантом проведено експеримент, проаналізовано отримані матеріали, взято участь у підготовці їх до друку).

8. Кількісний мікроаналіз кальцій-фосфорного обміну кісткової тканини після остеотомії / В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, М.В. Погорелов [та ін.] // Світ медицини та біології. – 2007. - №3. – С. 36-38. (Дисертантом проведено експериментальне дослідження, узагальнено результати та зроблено висновки).

9. Погорелов М.В. Морфофункціональна оцінка репаративного остеогенезу / М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер // Таврический медико-биологический вестник. – 2008.-Т.11, №3.-С.120-126. (Автором проведено дослідження на контрольній групі тварин, проаналізовано отримані результати, підготовлено статтю до друку).

10. Бумейстер В.І. Ультраструктура остеобластів кісткового регенерату в умовах порушення водно-електролітного обміну / В.І. Бумейстер // Таврический медико-биологический вестник. – 2008. - Т.11, №4 (44). - С. 113-116.

11. Бумейстер В.І. Сучасний погляд на репаративний остеогенез / В.І. Бумейстер, М.В. Погорелов //Світ медицини та біології.-2008.-№4.-С.104-110. (Докторантом проведено реферування та аналіз використаних джерел, підготовлено статтю до друку).

12. Бумейстер В.І. Структурно-метаболічна характеристика кісткового регенерату в умовах впливу загального зневоднення важкого ступеня / В.І. Бумейстер // Вісник морфології.-2008. - №14 (2). - С. 329-332.

13. Бумейстер В.І. Динаміка змін тривісних властивостей травмованої кістки щурів під впливом дегідратації організму / В.І. Бумейстер // Таврический медико-биологический вестник. - 2009. - Т.12, №1 (45). - С. 123-126.

14. Сучасні уявлення про водно-сольовий обмін (огляд літератури та методи власних досліджень) / М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач [та ін.] // Вісник проблем біології і медицини. - 2009. - Вип. 2. - С. 8-14. (Автор провела реферування та аналіз використаних джерел, підготувала матеріал щодо відтворення моделі дегідратаційних порушень).

15. Бумейстер В.І. Стимуляція репаративного остеогенезу в умовах дегідратаційних порушень гомеостазу організму / В.І. Бумейстер // Наукові записки Тернопільського педуніверситету ім. В.Гнатюка. Серія Біологія. - 2009. - №1-2 (39). - С. 66-70.
16. Бумейстер В.І. Електронно-мікроскопічна картина регенерату великогомілкової кістки щурів за дії позаклітинного зневоднення / В.І. Бумейстер // Клінічна та експериментальна патологія. – 2009. – Т. VIII, №2. – С. 10-13.
17. Бумейстер В.І. Корекція морфологічних перетворень кісткового регенерату великогомілкової кістки щурів в умовах дії зневоднення важкого ступеня / В.І. Бумейстер // Таврический медико-биологический вестник. - 2009. - Т.12, №3 (47). – С. 78-81.
18. Біомеханічні властивості інтактної та травмованої кістки / В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, М.В. Погорелов [та ін.] // Світ медицини та біології.- 2009. - №3.- С. 149-153. (Автором проведено статистичну обробку результатів та їх узагальнення).
19. Бумейстер В.І. Корекція репаративного остеогенезу в умовах водно-сольового дисбалансу / В.І. Бумейстер // Вісник Волинського державного університету. – 2008. - №15. – С. 5-9.
20. Бумейстер В.І. Морфологічні зміни кісткового мозоля під впливом зневоднення організму / В.І. Бумейстер // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія. – 2009. – Вип. 25. – С. 22-27.
21. Бумейстер В.І. Морфофункціональна характеристика регенерату довгої кістки в умовах клітинного зневоднення / В.І. Бумейстер // Вісник морфології. – 2009. - №15, № 1. – С. 58-61.
22. Мікротвердість неушкодженої кістки, а також під час репаративного остеогенезу та при порушенні водно-сольового балансу організму / М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер, Г.Ф. Ткач [та ін.] // Вісник морфології. -2009. – Т. 15, № 2. – С. 230-234. (Проведено експеримент на щурах з моделюванням дегідратації, статистично оброблено результати та підготовлено їх до друку).
23. Chitosan-hydroxyapatite composite biomaterials made by a one step co-precipitation method: preparation, characterization and in vivo tests / S.N. Danilchenko, O.V. Kalinkevich, M.V. Pogorelov [et al.] // J. of Biological Physics and Chemistry. – 2009. - № 9. – P. 119-126. (Дисертантом проведено експеримент на контрольній групі щурів, опрацьовані отримані дані).
24. Сікора В.З. Вивчення репаративної регенерації кісток інтактних тварин непоповозрілого віку / В.З. Сікора, В.І. Каваре, Л.І. Кіптенко // Вісник проблем біології та медицини. - 2003. - №1. – С. 27-28. (Здобувачем проведено експеримент, опрацьовано отримані результати та підготовлено статтю до друку).
25. Полякова В.І. Мікроскопічна характеристика регенерату великогомілкової кістки при загальній дегідратації організму / В.І. Полякова,

Л.І. Кіптенко // Український морфологічний альманах. – 2006. – Т. 4, №2. – С. 93-94. (Автором проведено експеримент, аналіз та узагальнення отриманих даних).

26. Сікора В.З. Гістоструктура регенерату великогомілкової кістки в умовах порушень водно-сольового обміну / В.З. Сікора, М.В. Погорелов, В.І. Бумейстер // Український морфологічний альманах. – 2007. – Т. 5, №1. – С. 98-100. (Дисертантом проведено експеримент на контрольній групі щурів, опрацьовані отримані дані).

27. Мінеральний склад кістки в різні терміни репаративного процесу / В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, О.О. Устянський [та ін.] // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2007. - №2. – С.150-152. (Автором проведено експеримент, статистичну обробку результатів, підготовлено статтю до друку).

28. Экспериментальное обоснование применения композитных материалов на основе хитозана и фосфатов кальция для замещения костных дефектов / С.Н. Данильченко, О.В.Калинкевич, М.В.Погорелов [и др.] // Травматология и ортопедия. - 2009. - №1. - С. 66-73. (Автором проведено експеримент на контрольній групі тварин, обробку результатів, підготовлено статтю до друку).

29. Сікора В.З. Ультраструктурные изменения репаративного остеогенеза длинных трубчатых костей под действием ионизирующей радиации в малых дозах / В.З. Сікора, В.І. Каваре, Г.Ф. Ткач // Вісник Сумського державного університету. Серія Медицина. – 2002. - №8 (41). – С. 28-33. (Автором проведено експеримент на контрольній групі тварин, обробку результатів, підготовлено статтю до друку).

30. Ткач Г.Ф. Гістологічна структура посттравматичного регенерату діафіза трубчатих кісток під впливом комбінованої дії радіації і солей важких металів / Г.Ф. Ткач, В.І. Каваре // Biomedical and Biosocial Antropology. - 2004. - №2. – С. 223-224. (Автором проведено експеримент на контрольній групі тварин, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлено статтю до друку).

31. Використання пористих нанокompозитних матеріалів для заміщення кісткових дефектів / В.З. Сікора, Л.Ф. Суходуб, С.М. Данильченко [та ін.] // Український морфологічний альманах.-2008.-Т.6, №1.-С. 155-156. (Автором проведено експеримент на контрольній групі тварин, оброблено результати, підготовлено статтю до друку).

32. Каваре В.І. Ультраструктурні зміни репаративного остеогенезу при загальній дегідратації / В.І. Каваре, Л.І. Кіптенко // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. Матеріали конференції– 2004. - №3. – С. 46-47. (Дисертантом проведено експеримент, зроблено аналіз отриманих результатів).

33. Сікора В.З. Ультрамікроскопічна характеристика репаративного остеогенезу великогомілкової кістки тварин половозрілого

віку / В.З. Сікора, В.І. Бумейстер, О.С. Погорелова // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю „Морфологічний стан тканин і органів у нормі та при моделюванні патологічних процесів”, 30-31 травня 2006 р., м. Тернопіль. – Тернопіль, 2006. – С. 127-129. (Автором проведено експеримент, зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).

34. Применение метода растровой электронной микроскопии для изучения репаративной регенерации кости / В.З. Сикора, В.И. Бумейстер, М.В. Погорелов [и др.] // XV Российский симпозиум по растровой электронной микроскопии и аналитическим методам исследования твердых тел. – Москва, 2007. – С. 309-310. (Здобувачем проведено огляд літератури, проаналізовано отримані дані, підготовлено тези до друку).

35. Бумейстер В.І. Ультраструктурний аналіз остеобластів регенерату в умовах позаклітинного зневоднення / В.І. Бумейстер, А.О. Потапова / Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні досягнення теоретичної та практичної медицини», 24-25 квітня 2008р., м. Суми. – Суми, 2008.- С. 92. (Автором проведено експеримент, опрацьовані отримані результати, підготовлено тези до друку).

36. Бумейстер В.І. Ультраструктура клітин у процесі загоєння кісткового перелому в умовах порушення водно-сольового обміну / В.І. Бумейстер, Л.І. Кіпченко / Матеріали науково-практичної конференції "Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень", 29-30 травня 2008 р., м. Тернопіль. – Тернопіль, 2008 - С.21-23. (Автором проведено експеримент, опрацьовані отримані результати, підготовлено тези до друку).

37. Бумейстер В.І. Клітинний склад регенерату великогомілкової кістки в умовах позаклітинного зневоднення/ В.І. Бумейстер, В.В. Сікора. / Матеріали міжнародної науково-практичної конференції "Актуальні питання теоретичної медицини", 23-24 березня 2009 р., Суми. – Суми, 2009. -С. 191. (Автором проведено експеримент, опрацьовано отримані результати, підготовлено тези до друку).

38. Методика експериментального відтворення водно-електролітних розладів / В.З. Сікора, Г.Ф. Ткач, В.І. Бумейстер [та ін.] / Матеріали науково-практичної конференції "Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології", 10-11 червня 2009 р., м. Тернопіль. – Тернопіль, 2009. - С. 160-161. (Здобувачем проведено огляд літератури, зроблено її аналіз, підготовлено тези до друку).

39. Бумейстер В.І. Вивчення репаративного остеогенезу довгих кісток за умов дегідратації методом растрової електронної мікроскопії / Матеріали конференції «Актуальні проблеми сучасної морфології», 10-11 вересня 2009 р., м. Полтава. – Полтава, 2009. – С. 22.

40. Сікора В.З. Репаративный остеогенез большеберцовой кости в условиях неблагоприятных экологических факторов Сумского региона

(експериментально-морфологическое исследование) / В.З. Сикора, Г.Ф. Ткач, В.И. Каваре / Материалы IV Международного конгресса по интегративной антропологии. - Санкт-Петербург, 2002. – С. 325-326. (Здобувачем проведено експеримент на контрольній групі тварин, оброблено отримані результати, підготовлено тези до друку).

41. Рост, образование и репаративный остеогенез длинных костей в условиях экологических факторов некоторых районов Сумской области / Сикора В.З., Романюк А.Н., Ильин В.Е. [и др.] / Саміт нормальних анатомів України та Росії, присвячений року Росії в Україні. – 23-30 травня 2003 р., м. Тернопіль. - Тернопіль, 2009. – С. 128-131. (Здобувачем проведено експеримент на контрольній групі тварин, оброблено отримані результати, підготовлено тези до друку).

АНОТАЦІЯ

Бумейстер В.І. Морфофункціональна характеристика кісткового регенерату в умовах дегідратаційних порушень водно-сольового обміну. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Луганський державний медичний університет. – Луганськ, 2009.

Дисертація присвячена вивченню особливостей морфологічних змін посттравматичного регенерату великогомілкових кісток щурів в умовах дегідратаційних порушень водно-сольового обміну і пошуків шляхів їх корекції. Структурно-метаболичну характеристику кісткового мозоля після нанесення дірчастого дефекту в діяфізі великогомілкової кістки вивчали за допомогою остеометрії, гістоморфометрії, ультрамікроскопії, растрової електронної мікроскопії з мікроаналізом, хіміко-аналітичного аналізу регенерату, а також досліджували тривкісні показники травмованих кісток та проводили біохімічний аналіз крові. Встановлено, що зневоднення організму призводить до уповільнення формування кісткового регенерату, що виявляється у клітинному дисбалансі на першій стадії репарації. Зрушення клітинних взаємовідношень викликає порушення гістогенезу на наступних стадіях регенерації, про що свідчать збільшення вмісту грубоволокнистої тканини, зменшення рівня пластинчастої тканини. Остеобласти регенерату зазнають дистрофічних змін, що свідчить про зниження процесів внутрішньоклітинної регенерації. Ці зміни нарастають із збільшенням ступеня зневоднення, що веде до формування незрілого кісткового мозоля.

При застосуванні тималіну прискорюються мінеральний обмін та внутрішньоклітинна регенерація, що приводить до нормалізації утворення кісткового мозоля і його звапніння.

Ключові слова: великогомілкова кістка, репаративний остеогенез, дегідратація, тималін.

АННОТАЦИЯ

Бумейстер В.И. Морфофункциональная характеристика костного регенерата в условиях дегидратационных нарушений водно-солевого баланса. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. – Луганский государственный медицинский университет. – Луганск, 2009.

Диссертация посвящена изучению особенностей протекания репаративной регенерации большеберцовых костей крыс в условиях дегидратационных нарушений водно-солевого баланса организма и поиску путей их коррекции. Экспериментальные исследования проведены на 408 белых лабораторных крысах-самцах, которым наносился дырчатый дефект стоматологическим бором диаметром 2 мм на границе проксимальной и центральной трети медиальной поверхности диафиза. Структурно-метаболическую характеристику восстановления костной ткани после нанесения перелома изучали при помощи остеометрии, гистоморфометрии, ультрамикроскопии, растровой электронной микроскопии с микроанализом, химико-аналитического анализа регенерата, а также изучали прочностные характеристики травмированной кости и проводили биохимический анализ крови. Животные были разделены на 5 серий: I серия – контрольные животные, II серия – крысы, которым моделировалась общая дегидратация, III серия – клеточная дегидратация, IV серия – внеклеточная дегидратация. Животные II-IV серии разделены на три группы в зависимости от степени дегидратации – легкая, средняя, тяжелая. V серия – коррекция морфофункциональных изменений в посттравматическом регенерате большеберцовых костей крыс препаратом тималин. При обезвоживании организма происходит задержка формирования костного регенерата, что проявляется клеточным дисбалансом на первой стадии репарации. Молодая грануляционная ткань, площадь которой уменьшена в сравнении с контролем при всех видах дегидратации, содержит большое количество клеток, качественным составом не отличающихся от контроля. Изменения происходят только в количественном отношении. Изменение клеточных взаимоотношений вызывает нарушение гистогенеза на последующих стадиях регенерации, о чем свидетельствуют замедление регрессии гематомы, увеличение количества грубоволокнистой ткани и уменьшение пластинчатой. Костные трабекулы новообразованной ткани истончены как в центре, так и по периферии регенерата. В остеобластах мозоли выражены дистрофические и деструктивные изменения, которые выражаются в пикнозе ядер, уменьшении количества и дезорганизации крист митохондрий, вакуолизации цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, встречаются зоны

лизиса мембран ядер и митохондрий. Увеличение степени дегидратации приводит к формированию незрелой костной мозоли. При внеклеточной дегидратации даже через 45 суток после травмы сформированная костная мозоль характеризуется повышенным содержанием грубоволокнистой и наличием незрелой пластинчатой костной ткани.

В периферической крови травмированных животных обезвоживание организма вызывает снижение количества щелочной фосфатазы, кальция, что указывает на уменьшение активности обмена данного элемента в поврежденной кости. Наибольший его дефицит наблюдается на 10-е сутки остеорепарации во время начала процессов кальцификации органической составляющей регенерата. В то же время количество белка плазмы крови увеличивается, что может указывать на снижение процессов синтеза органического матрикса.

При всех видах дегидратации организма происходит уменьшение минерализации регенерата, что проявляется в снижении содержания основных элементов кристаллической решетки гидроксиллаппатита – кальция и фосфора. Обезвоживание сопровождается уменьшением количества воды, калия и натрия в области костного дефекта. Происходит снижение и прочностных характеристик кости, уменьшение которых зависит как от вида, так и от степени обезвоживания.

Определено преимущественное влияние степени дегидратации на большинство исследуемых морфометрических, биохимических и химико-аналитических показателей, между которыми существуют высокие корреляционные взаимосвязи.

Введение тималина ускоряет минеральную насыщенность регенерата большеберцовой кости, способствует существенному улучшению структурно-функционального состояния костной мозоли. Особенно позитивный корректирующий эффект тималина наблюдается при общей и клеточной дегидратации.

Ключевые слова: большеберцовая кость, репаративный остеогенез, дегидратация, тималин.

SUMMARY

Bumeister V.I. A Morphological and Functional Profile of Bone Regenerate Affected by Dehydration Disturbances in Water and Salt Metabolism – Manuscript

A Doctor of Biological Sciences Thesis in Specialty No. 14.03.01 – Normal Anatomy

This thesis focuses on morphological changes in the post-injury regenerate of rat tibias affected by dehydration-caused disturbances in water and salt metabolism and on ways to address them. The structural and metabolic callus profile resulting from perforated fracture in the tibia diaphysis has been studied using osteometry, histomorphometry, ultra-microscopic examination and scanning

electron microscope examination combined with microanalysis, regenerate chemical analysis. Also the study involves the analysis of injured bone characteristics and bio-chemical blood testing. It has been found that body dehydration slows down the bone regenerate formation process which manifests itself in cell imbalance at the first reparation stage. Changes occurring in cell interaction caused histogenesis to be disrupted at subsequent regeneration stages, which is evidenced by retarded hematoma reduction and a growth in fibrous connective tissue and a reduction in fibrolamellar tissue. Callus osteoblast areas have pronounced dystrophic and destructive changes materializing in pycnosis, a smaller number and disorganized state of cristae mitochondriales, vacuolated cisterns of granular endoplasmic reticulum as well as nuclei and mitochondria lysed zone. An increased rate of dehydration causes immature callus to be formed.

Thymalinum when administered is instrumental in increasing the saturation of tibia regenerate with minerals and materially improving the structural and functional state of callus.

The key word: tibia, reparative osteogenesis, dehydration and thymalinum.