

Abstract

*Ohienko M. M.**, *Bumeister V. I.*,
Sumy State University,
2 Rymaskogo-Korsakova St.,
Sumy, Ukraine,
40007

STIMULATION OF REPARATIVE REGENERATION OF THE YOUNG RAT'S TIBIA INJURED BY SEVERE DEHYDRATION

In modern life trauma, along with cardiovascular and oncological diseases, is one of the three causes leading to mortality. Our aim was to study the reparative regeneration process in young animals (control group); in animals with stimulated severe degree of dehydration (experimental group) and general conditions to correct morphological changes of the injured tibiae caused by severe degree of dehydration (applying "SOLCOSERYL" drug). The experiment was conducted on young male rats aged 4 months, which were divided into 2 groups: control and experimental. The experimental group was subdivided into two subgroups: the rats with severe degree of dehydration (I) and the rats which underwent the corrective treatment of structural changes caused by severe degree of dehydration applying "SOLCOSERYL" drug (II). After 3 days there were changes in the cellular composition in the animals from the subgroup I. On the 15th day, severe hematoma were determined in the immature areas of granulation tissue. We observed that the area of fibroreticulate tissue increased, but the area of coarse-fibered bone tissue reduced by 15.48 % ($p \leq 0.0001$) compared with the control group. After 15 days in the rats which underwent correction of structural change occurred a positive tendency in histostructure: coarse-fibered bone tissue area decreased by 16.10 % ($p \leq 0.0001$), and the plate – up to 14.33 % ($p \leq 0.0001$) compared with animals with severe degree of dehydration. After 24 days the structure of the regenerates changed dramatically in the animals with severe degree of dehydration. For example, the area of coarse-fibered bone tissue increased up to 8.05 % ($p \leq 0.0001$) and lamellar bone reduced by 22.82 % ($p \leq 0.0001$) comparing with the control group. After 24 days fibroreticulate tissue was formed in the animals which underwent corrective treatment. There was more lamellar tissue in the animals which underwent corrective treatment comparing with the animals which had water imbalance, by 24.75 % ($p \leq 0.0001$). According to the histological investigation, the results demonstrated that severe dehydration did not change the order of reparative osteogenesis stages, but delayed the restoration of bones. Thus, the corrector had positive effect on the reparative osteogenesis. Applied "SOLCOSERYL" drug, as a corrector, eliminated negative dehydration and accelerated restructuring and maturation of bone structures.

Key words: general dehydration, cellular composition, correction, "SOLCOSERYL", reparative regeneration.

Corresponding author: *ogimax84@gmail.com

Резюме

*Огієнко М. М.**, *Бумейстер В. І.*,
Сумський державний
університет,
вул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, Україна, 40007

СТИМУЛЯЦІЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗУ ВЕЛИКОГОМІЛКОВОЇ КІСТКИ МОЛОДИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЗАГАЛЬНОГО ЗНЕВОДНЕННЯ

Експеримент проведено на лабораторних білих щурах-самцях молодого віку. Метою роботи було вивчення процесів репаративної регенерації молодих тварин контрольної групи, групи

тварин із модельованим тяжким ступенем загальної дегідратації та за умов корекції морфофункціональних змін регенерату травмованих великогомілкових кісток, які викликані тяжким ступенем зневоднення, препаратом "Солкосерил". Після проведення експерименту виявили якісні і кількісні відмінності та провели порівняльну характеристику між усіма групами тварин. Найбільші зміни виявилися у групі тварин із тяжким ступенем загальної дегідратації, а найменші – у щурів контрольної групи. На основі порівняльного аналізу отриманих даних визначена можливість використання даного коректора з метою оптимізації репаративного остеогенезу.

Ключові слова: загальна дегідратація, клітинний склад регенерату, корекція, "Солкосерил", репаративна регенерація.

Резюме

Огієнко М. Н.*,
Бумейстер В. І.,
Сумський державний
університет,
ул. Римського-Корсакова, 2,
Суми, Україна, 40007

СТИМУЛЯЦІЯ РЕПАРАТИВНОГО ОСТЕОГЕНЕЗА БОЛЬШОЙ БЕРЦОВОЙ КОСТИ МОЛОДЫХ КРЫС ПРИ ОБЩЕМ ОБЕЗВОЖИВАНИИ

Експеримент проведено на лабораторных белых крысах-самцах молодого возраста. Целью работы было изучение процессов репаративной регенерации молодых животных контрольной группы, группы животных с моделируемой тяжелой степенью общей дегидратации и в условиях коррекции морфофункциональных изменений регенерата травмированных большеберцовых костей, вызванных тяжелой степенью обезвоживания, препаратом "Солкосерил". После проведения эксперимента обнаружили качественные и количественные различия и провели сравнительную характеристику между всеми группами животных. Наибольшие изменения оказались в группе животных с тяжелой степенью общей дегидратации, а наименьшие – у крыс контрольной группы. На основе сравнительного анализа полученных данных определена возможность использования данного корректора с целью оптимизации репаративного остеогенеза.

Ключевые слова: общая дегидратация, клеточный состав регенерата, коррекция, "Солкосерил", репаративная регенерация.

Автор відповідальний за листування: *ogimax84@gmail.com

Вступ

У сучасному житті травми є однією із трьох основних причин смертності населення разом із серцево-судинними й онкологічними захворюваннями. З 1992 року смертність від травм упевнено посідає 2-ге місце і тим самим відіграє суттєву роль у депопуляції населення України. Частка померлих у працездатному віці досягла 27 %, причому переважну більшість (80 %) становлять чоловіки [1; 2]. Упродовж останніх років спостерігається тенденція до зростання відсотка тяжких і вкрай тяжких пошкоджень. За даними авторів [5; 6], частка таких пошкоджень становить 25 % від усіх травм.

Дорожньо-транспортний травматизм залишається, на жаль, однією з основних медико-санітарних проблем сучасного суспільства [3; 4]. За статистичними даними

ВООЗ, лише внаслідок автомобільно-дорожніх пригод щорічно у світі гинуть понад 250 тис. людей, а кількість травмованих перевищує 2 млн (за іншими повідомленнями – 8 млн). Особливо прикро, що ці та інші травми є головною причиною смерті людей молодого віку (20–40 років). В Україні реєструється до двох мільйонів травм щорічно [5; 7]. Підвищення показників травматизму має такі тенденції: побутового – на 5,6 %, вуличного – на 32,6 %, дорожньо-транспортного – на 5,5 % [8; 9].

Матеріали та методи

Постановка експерименту відбувалася на молодих щурах-самцях віком 4 місяці. Тварин розподілено на 2 групи: контрольну та експериментальну.

Експериментальні дослідження проводилися згідно з «Європейською конвенцією про захист

хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Гельсинської декларацією Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000).

Тварини експериментальної групи поділялися на дві підгрупи: перша – тварини із тяжким ступенем зневоднення, якого досягали шляхом повного позбавлення їх питного раціону за Соболевою А. Д. [10] на 10–12 діб, та друга – тварини, яким проводилася спроба корекційної терапії структурних змін, викликаних тяжким ступенем дегідратації, препаратом "Солкосерил" у дозі 3,63 мг/кг/добу через одну добу до моменту виведення тварин з експерименту.

По досягненні відповідного ступеня зневоднення в асептичних умовах операційної під кетаміновим наркозом наносився дірчастий дефект у середній третині діафіза обох великогомілкових кісток стоматологічним бором діаметром 2 мм. На операційну рану накладали 1 шов, тварин виводили з наркозу і переводили на звичайний питний раціон. Після завершення терміну дослідження проводили декапітацію щурів під наркозом на 3-тю, 15-ту та 24-ту доби відповідно до стадій регенерації за Коржем М. О. та Дедух Н. В. [11], після чого у піддослідних тварин вилучали великогомілкову кістку для подальшого дослідження.

Для дослідження морфофункціональних змін на 3-тю добу корекційної терапії готували препарати для гістоморфометричного вивчення клітинного складу регенерату, а на 15-ту та 24-ту добу вивчався відсоток фіброретикулярної, грубоволокнистої, пластинчастої та грануляційної тканин. Для оцінки перебігу процесів репаративної регенерації готували гістологічні препарати з мазків регенерату великогомілкової кістки молодих щурів (3-тя доба), які забарвлювали за Романовським-Гімзою, та препарати тканинного компонента регенерату кістки (15-та та 24-та доби), які забарвлювали гематоксилін-еозином.

Результати

На 3-тю добу спостереження у тварин контрольної групи після травматичного ушкодження досить чітко візуалізувалася межа, що відділяє зону деструкції від інтактної материнської кістки. У цей період експерименту

відбувалося формування гематоми, яка піддається перебудові. У центральній частині перелому спостерігалися невеликі острівці, на яких помітні нитки фібрину, еритроцити та зруйновані лейкоцити (рис.1). У зоні перелому та ближче до країв дефекту переважно більшість регенерату складала грануляційна тканина з безліччю тонкостінних капілярів різного калібру типу синусоїдів та низькою щільністю клітин, таких як фібробласти, макрофаги, плазмоцити, лімфоцити та малодиференційовані сполучнотканинні клітини. Зона деструкції характеризується великою кількістю капілярів різного діаметра, що відходять від непошкоджених судин та ростуть у напрямку ділянки ушкодження.

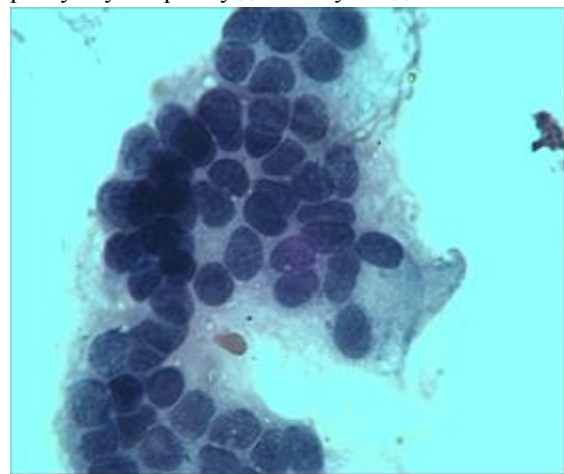


Рис. 1. Клітинний склад регенерату великогомілкової кістки щура контрольної групи на 3-тю добу після нанесення перелому. Забарвлення за Романовським-Гімзою. Zoom X 1000

Регенерат на 3-тю добу спостереження у тварин із загальною дегідратацією тяжкого ступеня характеризується більш вираженими змінами. Спостерігалось повільне розсмоктування гематоми, більшої за розмірами, ніж у контрольній групі. Мікроскопічно в регенераті відмічалася велика кількість лімфоцитів та еритроцитів (табл. 1). Процеси формування грануляційної тканини і ангиогенезу уповільнюються. Стосовно клітинного складу кількість фіброblastів зменшується на 7,46 % ($p \leq 0,0001$), а нейтрофілів, навпаки, збільшується на 22,76 % ($p \leq 0,0001$) порівняно із контрольною групою тварин. Прозапальний пул клітин також має тенденцію до підвищення. Так, вміст лімфоцитів збільшився на 2,42 % ($p \leq 0,0359$), а плазмоцитів – на 10,99 % ($p \leq 0,0001$).

Таблиця 1

Клітинний склад регенерату великогомілкової кістки молодих щурів на 3-тю добу дослідження

Група тварин	Фібро-бласти, %	Лімфо-цити, %	Макро-фаги, %	Плаз-мо-цити, %	Нейт-ро-філи, %	МДК, %
Конт- роль	33,82 ± 0,11	24,78 ± 0,18	12,41 ± 0,12	8,19 ± 0,07	11,73 ± 0,04	9,07 ± 0,21
Дегід- ратація	31,3 ± 0,13	25,38 ± 0,17	11,43 ± 0,07	9,09 ± 0,06	14,4 ± 0,09	8,4 ± 0,11
Корек- тор	33,03 ± 0,11	24,97 ± 0,11	12,23 ± 0,13	8,38 ± 0,07	12,64 ± 0,18	8,21 ± 0,07

На третю добу експерименту за умов використання коректора регенерат не зазнав змін у клітинному складі порівняно з іншими групами тварин даного терміну спостереження (рис.2). Отже, визначався округлої форми дефект, який заповнений гематомою. Клітинний склад неістотно відрізнявся від такого у контрольної групи тварин: спостерігалось достовірне зменшення відсоткового вмісту фібробластів (на 2,34 % ($p \leq 0,0005$)) та макрофагів (на 1,46 % ($p \geq 0,3329$)) та недостовірне збільшення кількості лімфоцитів, плазмоцитів та нейтрофілів. Порівняно з тяжким ступенем дегідратації відбувається збільшення рівня фібробластів (на 6,44 % ($p \leq 0,0001$)), макрофагів (на 6,99 % ($p \leq 0,0003$)) з одночасним зменшенням кількості лімфоцитів (на 1,62 % ($p \leq 0,0006$)), плазмоцитів (на 7,82 % ($p \leq 0,0001$)) та нейтрофілів (на 12,23 % ($p \leq 0,0001$)).

Мікроскопічно на 15-ту добу спостереження у тварин контрольної групи в центральній частині кісткового дефекту визначалися ділянки грануляційної тканини з тонкостінними судинами. Грубоволокниста кісткова тканина утворює кісткові перекладки, які заповнюють ділянку перелому і утворюють дрібнопетлясту сітку. У просторі між молодими трабекулами спостерігаються формування кісткового мозку та інтенсивні процеси васкулогенезу, про що свідчить велика кількість судин. У кістковомозковому каналі візуалізується сітка кісткових трабекул ендостального мозоля.

У цей самий термін при загальній дегідратації тяжкого ступеня (рис. 3) виявлялися невеликі вогнища гематоми. Площа фіброретикулярної тканини дещо збільшена порівняно з такою у контрольній групі, а грубоволокнистої зменшена на 15,48 % ($p \leq 0,0001$). Визначалися ділянки незрілої грануляційної тканини, що є не характерним для даної стадії репаративного остеогенезу і свідчить про процеси дисрегенеративності. Трабекули грубоволокнистої тканини потоншені як на периферії, так і в центрі на 15,28 % ($p \leq 0,0001$) та 16,72 % ($p \leq 0,0001$) порівняно з показниками контрольної групи. Площа судинного компонента зменшилася на 15,12 % ($p \leq 0,0001$) від показників групи інтактних тварин.

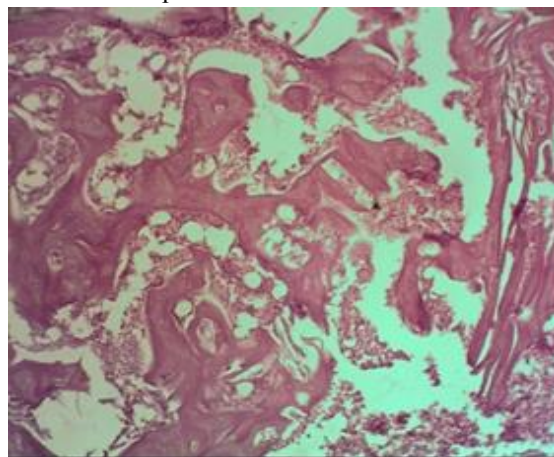


Рис. 3. Регенерат діяфіза великогомілкової кістки щура молодого віку в умовах загальної дегідратації тяжкого ступеня на 15-ту добу після нанесення перелому. Забарвлення гематоксилін-еозином. Zoom X 400

На 15-ту добу спостереження у тварин, які отримували коректор, виявили якісні та кількісні відмінності порівняно як із групою контрольних тварин, так і з групою тварин, яким моделювався тяжкий ступінь загального зневоднення організму (рис. 4). У гістоструктурі регенерату цього терміну пануючою є грубоволокниста кісткова тканина і порівняно із тваринами з тяжким ступенем дегідратації її площа більша на 16,10 % ($p \leq 0,0001$). Грубоволокниста тканина представлена кістковими трабекулами, на поверхні яких знаходилися остеобласти. Товщина кісткових перекладок по периферії більша при тяжкому ступені зневоднення на 15,29 % ($p \leq 0,0001$). Проміжки між кістковими трабекулами вповнені фіброретикулярною кістковою тканиною. Іншу площу регенерату складала пластинчаста кісткова тканина, відсоток якої

збільшений порівняно з тяжким ступенем зневоднення на 14,33 % ($p \leq 0,0001$). Відсутність грануляційної тканини, залишки якої виявлені при тяжкому ступені дегідратації, в регенерації даного терміну свідчать про позитивний вплив коректора на перебіг процесів регенерації кісткової тканини.

На 24-ту добу спостереження у тварин контрольної групи зона дефекту виповнена переважно грубоволокнистою та пластинчастою кістковими тканинами. При морфометричному дослідженні в даний термін можна говорити про закінчення формування первинної кістки та початок процесу ремоделювання.

Гістологічно структура регенерату в групі тварин із тяжким ступенем загальної дегідратації на 24-ту добу спостереження була представлена грубоволокнистою та пластинчастою кістковою тканинами (табл. 2). Але відмічалось зменшення вмісту пластинчастої кісткової тканини на 22,82 % ($p \leq 0,0001$) від контрольних показників, а грубоволокнистої, навпаки, збільшуються на 8,05 % ($p \leq 0,0001$).

У регенерації між трабекулами грубоволокнистої кісткової тканини виявлялися залишки фіброретикулярної тканини, яка є нехарактерною для даної стадії репаративного остеогенезу. Трабекули розміщені в різному напрямку, мають потоншення як на периферії на 21,16 % ($p \leq 0,0001$), так і в центрі на 26,76 % ($p \leq 0,0001$). Лише подекуди на їх поверхні спостерігалися остеобласти. Остеони пластинчастої тканини місцями не визначалися та мали порушену структуру, а на межі з інтактною кісткою виявлялися розриви та дефекти їх сполучення. Зміни тканинного складу свідчать про затримку розвитку кісткового мозоля. Поряд із цим визначалося зменшення загальної площі кровоносних судин на 17,73 % ($p \leq 0,0001$).

Таблиця 2

Тканинний склад регенерату великогомілкової кістки молодих щурів на 15-ту та 24-ту добу дослідження

Група тварин	Доба спостереження	Грануляційна тканина, %	Фіброретикулярна тканина, %	Грубоволокниста тканина, %	Пластинчаста тканина, %
Контроль	15-та доба	–	25,73 ± 0,21	37,16 ± 0,16	10,95 ± 0,05
	24-та доба	–	–	14,02 ± 0,05	45,58 ± 0,23
Дегідратація	15-та доба	4,97 ± 0,04	25,92 ± 0,15	31,41 ± 0,17	9,28 ± 0,06
	24-та доба	–	4,37 ± 0,06	15,15 ± 0,06	35,18 ± 0,17
Коректор	15-та доба	–	25,79 ± 0,17	34,01 ± 0,16	10,14 ± 0,07
	24-та доба	–	–	21,62 ± 0,13	26,69 ± 0,21

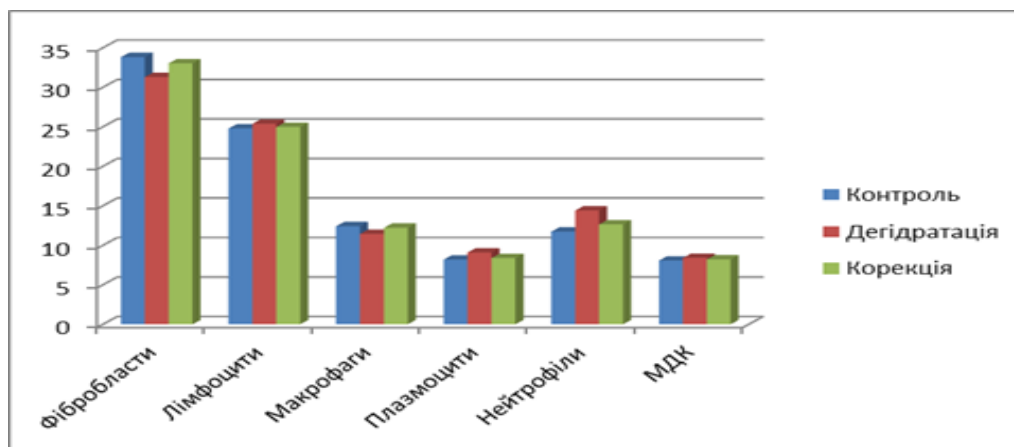


Рис. 2. Порівняльна характеристика клітинного складу регенерату великогомілкової кістки молодих щурів на 3-тю добу дослідження (МДК – малодиференційовані клітини)



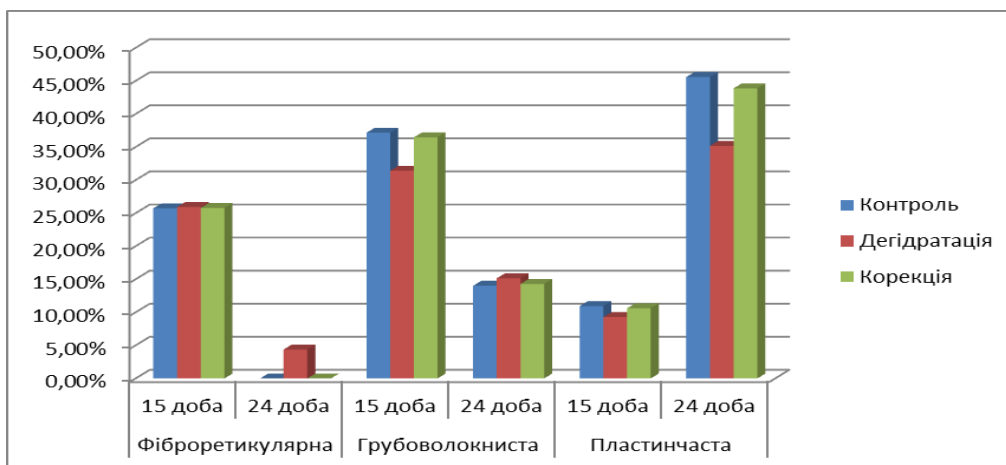


Рис. 4. Зміни морфометричних показників регенерату великогомілкової кістки молодих щурів на 15-ту та 24-ту доби дослідження в динаміці

У цей самий термін спостереження при вживанні коректора регенерат був представлений кістковими трабекулами грубоволокнистої кісткової тканини (рис. 5), товщина яких порівняно з тяжким ступенем дегідратації більша на 13,19 % ($p \leq 0,0001$) у центрі та на 9,46 % ($p \leq 0,0001$) на периферії. Відсутність фіброретикулярної тканини свідчить про адекватну дію вибраного нами коректора на процеси репаративного остеогенезу. Новоутворена пластинчаста кісткова тканина представлена первинними остеонами, кількість та розриви між якими зменшені порівняно з тяжким ступенем гіпогдрії, остеобластами і остеоцитами. Площа пластинчастої тканини збільшена від показників при водному дисбалансі на 24,75 % ($p \leq 0,0001$), показники загальної площі судин та їх діаметр – на 11,88 % ($p \leq 0,0001$) та 7,95 % ($p \leq 0,0001$).

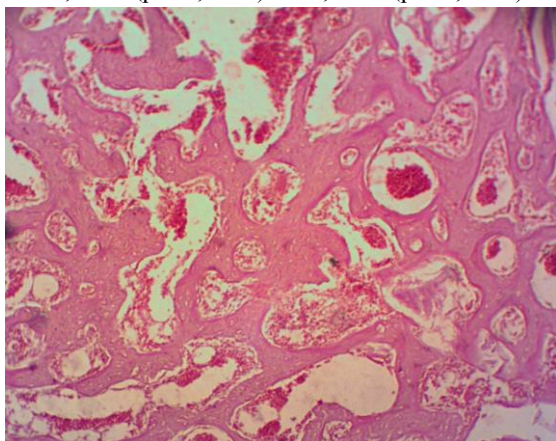


Рис. 5. Регенерат діафіза великогомілкової кістки щура молодого віку в умовах загальної дегідратації тяжкого ступеня за умов застосування коректора на 24-ту добу після нанесення перелому. Забарвлення гематоксилін-еозином. Zoom X 400

Обговорення

Вплив різних ендо- і екзогенних факторів на біологічні об'єкти весь час приваблює увагу багатьох дослідників [12; 13; 14 та ін.]. Як правило, екстремальні впливи середовища викликають найбільш реактивні зміни у крові і паренхіматозних органах, чим і пояснюється вибір об'єкта у більшості морфологічних досліджень [15; 16]. Реакція ж скелета на більшість чинників не проявляється настільки наочно, ось чому кістка як орган традиційно рідше використовувалася як експериментальний матеріал. Але кісткова тканина, як показав ряд досліджень, не є інертною, і вплив екстремальних факторів на організм призводить до розвитку вагомих порушень у структурній організації кісток [17; 18; 19; 20].

У наш час травматичні ушкодження кісток, якими, як правило, є переломи, посідають одне із провідних місць у структурі захворюваності та інвалідизації населення. Травматичні переломи кісток виникають у результаті дорожньо-транспортних пригод, падінь, сильних ударів та інших механічних впливів на кістки. Одну третину від усіх травм довгих трубчастих кісток становлять переломи кісток гомілки.

За даними багатьох авторів, передумовою нормального перебігу репаративної регенерації є стан організму і кісткової тканини на момент травми [21]. В умовах порушень водно-сольового балансу організму існує загроза порушень функціонування кісткової тканини і механізмів регулювання репаративного остеогенезу [22].

При вивченні і узагальненні результатів репаративного остеогенезу в контрольній і дослідних групах відзначено подібність початкових стадій репаративного процесу. На 3-тю добу після травми порожнина кістки заповнена кров'яним згустком та відламками кістки, а також спостерігаються крововиливи в оточуючої тканини. У дефекті переважно незріла грануляційна тканина з низькою щільністю клітин (макрофаги, плазмоцити, нейтрофіли, малодиференційовані клітини), тяжі фібрину та еритроцитарні клітини. Зменшена кількість секретувальних фібробластів на першій стадії репарації веде до затримки розвитку фіброретикулярної тканини в подальших стадіях. Тяжкий ступінь дегідратації призводить до більш значного порушення клітинного складу гематоми, що свідчить про неспецифічність реакції клітин на ушкоджуючий фактор, про яку було зазначено у працях Walsh C.A. [23].

На 15-ту добу спостереження в дефекті великогомілкових кісток тварин із тяжким ступенем зневоднення переважає молода фіброретикулярна та грануляційна тканини, площа яких збільшена порівняно з контрольною групою. Це свідчить про затримку формування грубоволокнистої тканини [24], вміст якої нижчий за контроль. Новоутворені кісткові трабекули забарвлюються менш інтенсивно, ніж материнська кістка, та нерівномірно, що свідчить про початок осифікації та її гетеротопічність [25; 26]. Відсоток витончення перекладок більш виражений у центральних ділянках регенерату, що може свідчити про порушення васкуляризації цих відділів та зменшення активності остеогенних клітин [27]. А як відомо, важливою складовою репаративної регенерації є ступінь кровопостачання новоутворених тканин. За даними Корж Н. А. [21], васкуляризація кістки є лімітуючим фактором при перебігу репарації за хрящовою чи сполучнотканинною моделями. В проведеному нами експерименті спостерігається зменшення площі судинного компонента регенерату, що є одним із факторів затримки репаративних процесів.

У групі тварин, які отримували коректор, переважаючою в даний термін є грубоволокниста тканина і відсутня грануляційна тканина, що свідчить про позитивний вплив солкосерилу. Про оптимізацію процесів репаративного

остеогенезу у цій групі тварин також свідчать більш зрілі кісткові балки, товщина яких збільшена порівняно з контрольною групою тварин.

В останній термін спостереження у тварин контрольної групи зона дефекту виповнена кістковою тканиною, яка утворює повноцінний кістковий мозоль. У цей самий час у тварин із тяжким ступенем дегідратації у зоні дефекту, крім кісткових тканин, характерною ознакою яких є неоднорідність забарвлення, що свідчить про різний ступінь кальцифікації [28; 29], виявляються залишки фіброретикулярної тканини. Наявність останньої, мозаїчно заповнені та місцями розірвані трабекули грубоволокнистої тканини, остеони пластинчастої тканини, які побудовані 2–3 кільцевими пластинами, – усе це свідчить про затримку репаративних процесів. Застосування коректора стимулює репаративну регенерацію кістки – змінюється співвідношення тканинних компонентів регенерату – не виявляється фіброретикулярна тканина, збільшується площа та покращуються якісні властивості грубоволокнистої і пластинчастої кісткових тканин порівняно із показниками тварин із тяжким ступенем зневоднення.

Отже, репаративний остеогенез є багатофазним процесом, який має стадійно-зональні і часові характеристики, а пошкодження перебігу будь-якої із його фаз унаслідок порушення функцій організму може призвести до затримки зрощення перелому.

Висновки

1. Гістологічно встановлено, що загальна дегідратація тяжкого ступеня не змінює порядок проходження стадій репаративного остеогенезу, але призводить до затримки у відновленні кістки.
2. Отримані дані свідчать про позитивний вплив коректора на перебіг репаративного остеогенезу травмованої кістки. Застосований як коректор препарат "Солкосерил" нівелює негативний вплив зневоднення та значно прискорює процеси перебудови та дозрівання кісткових структур, що веде до утворення повноцінного кісткового мозоля.

References (список літератури)

1. Pasternak VM, Krivenko SM, Chernish VYu. [Structure of disability suffered multiple

- fractures and isolated long bones]. *Travma*. 2002;3(1):40–43.
2. Sokolov VA. *Mnozhestvennyye i sochetannyye travmy* [Multiple and associated injuries]. Moskva: GEOTAR-Media Publ., 2006. 512 p.
 3. Kalashnikov AV, Boier VA, Nikitin PV, Chichirko AM, Chaladyuk TP. [Diaphyseal fractures in the structure of injuries of the locomotor system in the population of Ukraine]. *Visnik ortopediyi, travmatologiyi ta protezuvannya*. 2006;1:84–87.
 4. Karnezis IA. Biomechanical consideration in biological femoral osteosynthesis: an experimental study of the bridging and wave plating techniques. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*. 2000;120(5–6):272–275.
 5. Bogdan OV. [Road traffic injuries in modern conditions]. *Travma*. 2010;11(2):123–126.
 6. Loskutov AE, Kondrashov AN, Bardachenko IV, Zherdev II. [Principles of organization, diagnosis and treatment of patients with concomitant trauma, musculoskeletal and traumatic brain injuries]. *Travma*. 2005;6(1):3–8.
 7. Korzh MO, Yaremenko DO, Shevchenko OG. [State of the orthopedic and trauma service in Ukraine and ways to improve its activities] *Stan ortopedo-travmatologichnoyi sluzhbi Ukrayini ta zahodi z pokraschannya yiyi diyalnosti* [Orthopaedics and Traumatology: quality problem: Collected papers on materials science and practical conference dedicated to the 75th anniversary of the birth of honored scientist of Ukraine, professor M. I Hvyssyuka.]. Kharkiv, 2009, pp. 90–91. (In Ukrainian).
 8. Denisyuk BS. [Problems of osteosynthesis need state support] *Problemi osteosintezu potrebuyut derzhavnoyi pidtrimki* [XIV Congress of Orthopaedic traumatologists in Ukraine, abstracts]. Odesa, 2006, pp. 20–25. (In Ukrainian).
 9. Korzh NA, Gerasimenko SI, Klimovitskiy VG. [Grafting of fractures and the results of their treatment in Ukraine (clinical and epidemiological studies)]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovanie*. 2010;3:26–35.
 10. Soboleva AD. *Reaktsiya kletok i tkaney na obezvozhivanie* [The reaction of cell and tissue on dehydration]. Novosibirsk: Nauka Publ., 1975. 64 p.
 11. Korzh NA, Deduh NV. [Reparative bone regeneration: a modern perspective on the problem. A regeneration step]. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovanie*. 2006;1:76–84.
 12. Luzin VI, Ivanova LN, Nishkumay OI. [Features of bone strength of white rats of senile age which were kept in a diet with high cholesterol]. *Problemi osteologiyi*. 2004;7(3–4):23–25.
 13. Pikalyuk VS, Belotserkovskiy VP, Dovgalyuk TYa. [Evaluation of proliferative properties of osteogenic cells during intoxication by lead salts]. *Visnik problem biologiyi i meditsini*. 2003;2:74–76.
 14. Tkach GF. [The dynamics of the chemical composition of post-traumatic regenerate bone under the influence of the combined effects of radiation and heavy metal salts]. *Visnik problem biologiyi i meditsini*. 2003;1:33–35.
 15. Mishalov VD. [State of the secretory apparatus of rat atrial cardiomyocytes in different parts of the atria]. *Morfologiya*. 2008;1(1):94–99.
 16. Anisimova OO. [Dietary supplements in violation of the musculoskeletal system]. *Rossiyskie apteki*. 2007;5:35.
 17. Koveshnikov VG, Frolov VM, Kaschenko SA. [Structure and morphogenesis of the skeletal bones of white rats after immunostimulation]. *Ukrayinskiy morfologichniy almanah*. 2005;1:25–29.
 18. Volova LT, Belozertseva EA, Naumova IN. [Features of bone tissue regeneration after allogenic brefoosteoplastic]. *Morfologicheskie vedomosti*. 2004;1–2:22.
 19. Park SY, Birkhold SG, Kubena LF. Effect of storage condition on bone breaking strength and bone ash in laying hens at different stages in production cycles. *Poult. Sci*. 2003;82:1688–1691.
 20. Korzh NA, Leonteva FS, Goridova LD. [Clinical and metabolic aspects of osteogenon in the treatment of patients with long bone fractures]. *Ortopediya i travmatologiya*. 2003;2:94–99.
 21. Galushka SV, Nazarov BF, Vlasenko AV. [Volemic violations during heavy gestosis]. *Almanah anesteziologii i reanimatologii*. 2003;3:21.
 22. Walsh CA, Birch MA, Fraser WD. Cytokine expression by cultured osteoblast from patients with osteoporotic fractures. *Int. J.Exp.Pathol*. 2000;81(2):159–163.
 23. Danilov RK, Borovaya TG, Klochkov ND. [Experimental and histological analysis of histogenesis and reparative tissue regeneration

- (some results of the twentieth century and prospects for further research)]. *Morfologiya*. 2000;117(4):7–16.
24. Kartamyisheva NN, Chumakova OV. [Bone remodeling as a model of cellular interactions]. *Nefrologiya i dializ*. 2004;6(1):43–46.
25. Danilchenko SN, Kalinkevich OV, Pogorelov MV. Chitosan-hydroxyapatite composite biomaterials made by a onestep coprecipitation method: preparation, characterization and invivotests. *J. of Biological Physics and Chemistry*. 2009;9:119–126.
26. Hartman E. Ectopic bone formation in rats: the importance of vascularity of the acceptor site. *Biomaterials*. 2004;25:5831–5837.
27. Dobronravov VA. [Calcium-phosphorus balance and bone mineral density of different parts of the skeleton in patients on chronic hemodialysis]. *Nefrologiya*. 2006;4:31–35.
28. Zhilkin BA, Doktorov AA, Denisov-Nikolskiy YuI. [Comparative characteristics of the mineral component of lamellar bone and hyaline cartilage]. *Morfologicheskie vedomosti*. 2004;1–2:39.

(received 21.02.2014, published online 15.03.2014)

(отримано 21.02.2014, опубліковано 15.03.2014)

