

УДК 615.462:616.716.85-001-003.93-092.9

ВЗАИМОСВЯЗЬ МАРКЕРОВ ОСТЕОГЕНЕЗА И ПРОЦЕССОВ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬВЕОЛЯРНОЙ КОСТИ У КРЫС

¹Гулюк А.Г., ²Желнин Е.В.

¹Одесский национальный медицинский университет, Одесса;

ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса, e-mail: galsi-dental@list.ru;

²Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, e-mail: tana_zv@list.ru

32 половозрелые крысы-самцы (линия WAG) были разделены на 2 группы: группа 1, интактные ($n = 8$) и группа 2, основная ($n = 24$). Группе 2 наносилось повреждение нижней челюсти (перфорационный дефект диаметром 2 мм). У крыс 2 группы исследования проводились на 7 ($n = 6$), 14 ($n = 6$), 28 ($n = 6$) и 45 ($n = 6$) суток после операции. У всех крыс определяли содержание кальция (Ca), фосфора (P), щелочной фосфатазы (ЩФ), IL-1 α , TNF- α , IL-8, метаболитов оксида азота в крови и проводили гистологические и морфометрические исследования альвеолярной кости. В результате сопоставления морфологических процессов в альвеолярной кости при её повреждении с метаболическими показателями крови (кальций, фосфор, щелочная фосфатаза, IL-1 α , TNF α , IL-8, метаболитов оксида азота) в различные периоды посттравматической регенерации (7, 14, 28, 45-ые сутки) установлены наиболее чувствительные показатели остеорепарации: щелочная фосфатаза, провоспалительные цитокины и нитрит-анион. Трактовка метаболических показателей в крови возможна лишь с учётом стадии посттравматической регенерации альвеолярной кости.

Ключевые слова: альвеолярная кость, посттравматическая регенерация, маркеры остеогенеза

RELATIONSHIP OF OSTEOGENESIS MARKERS WITH PROCESSES OF POSTTRAUMATIC REGENERATION OF ALVEOLAR BONE

¹Guliuk A.G., ²Zhelnin E.V.

¹Odessa National Medical University, Odessa;

SE «The Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine», Odessa, e-mail: galsi-dental@list.ru;

²Kharkiv National Medical University, Kharkiv, e-mail: tana_zv@list.ru

The experiment was performed on 32 sexually mature male rats (line WAG) divided into 2 groups: group 1, intact ($n = 8$) and group 2, main ($n = 24$). Group 2 underwent damage to the lower jaw (perforation defect 2 mm in diameter). In rats of 2nd group the studied parameters were measured on 7 ($n = 6$), 14 ($n = 6$), 28 ($n = 6$) and 45 ($n = 6$) days after surgery. Calcium (Ca), phosphorus (P), alkaline phosphatase (ALP), IL-1 α , TNF- α , IL-8, and nitric oxide in the blood were determined in all rats. Histological studies of the alveolar bone at the site of traumatic defects were held on the same dates with the biochemical studies. Sections stained with hematoxylin and eosin, pikrosirius red; were investigated in polarized light. The area of the regeneration was measured in percentage to the area of defect. The data were processed statistically using Student's t-test. Conclusions: A correlation between the histological criteria of regeneration of damaged alveolar bone and metabolic parameters in peripheral blood was revealed. The terms of maximum reconstruction of the regenerate (day 14) coincide with the maximum shift of the study parameters. With the maturation of bone regenerate metabolic parameters are normalized. The most sensitive indicators are alkaline phosphatase, pro-inflammatory cytokines and nitrite anion. To interpret the dynamic of metabolic parameters in the blood the stage of posttraumatic regeneration of alveolar bone should be taken into consideration.

Keywords: alveolar bone, posttraumatic regeneration, markers of osteogenesis

Поиски объективных показателей метаболизма костной ткани, отражающих ход регенерации кости при её повреждениях, и возможности использования их для контроля над протеканием процессов заживления, своевременного обнаружения осложнений остаются актуальной проблемой современной медицины. Рост осложнений остеорепарации костей лицевого скелета, наблюдаемый во всём мире, делают эту проблему вдвойне актуальной для стоматологии [6]. Сложность для клиницистов состоит в трудности сопоставления неинвазивных методов исследования кости (минеральная плотность костной ткани, количественная компьютерная томография) с биохимическими маркерами костного метаболизма, большинство из которых из-

меняются лишь при наличии выраженной костной патологии. Это касается как общепризнанных маркеров резорбции костной ткани (тарtrat-резистентная кислая фосфатаза, пиридинолин, дезоксипиридинолин, карбокси- и аминотерминальные телопептиды коллагена I типа, гидроксипролин и др.), так и её формирования (щелочная фосфатаза и её костный изофермент, остеокальцин, карбокси- и аминотерминальные пептиды проколлагена I типа) [7]. С этой точки зрения особого внимания заслуживают данные экспериментального исследования, которые, с одной стороны, позволяют сопоставить метаболические показатели с процессами, протекающими в кости за счёт использования инвазивных методик (морфологических, морфометрических, по-

ляризации-оптических и др.), а с другой – выявить новые чувствительные методы, на которые можно было бы опереться для трактовки процессов, происходящих при повреждении кости в разные фазы её регенерации.

При нарушении процессов ремоделирования альвеолярной кости под влиянием дексаметазона изменяются и метаболические константы периферической крови, а именно активность ЩФ (↑), уровень ИЛ-1α (↑), нитрит-аниона (↑), общих метаболитов NO (↓). При этом показатели минерального обмена (Ca, P) остаются в норме [10]. Возникает вопрос сохраняются ли подобные закономерности при других повреждениях альвеолярной кости, в частности, при её травматическом повреждении?

Цель исследования – сопоставить морфологические процессы в альвеолярной кости при её повреждении с метаболическими показателями крови в различные стадии посттравматической регенерации и установить возможную связь между ними.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 32 белых лабораторных крысах-самцах. Для изучения репаративного остеогенеза альвеолярной кости крысам в левой части нижней челюсти было произведено травматическое повреждение в виде перфорационного (сквозного дырчатого) дефекта [11]. Оперативные вмешательства у крыс выполняли под общим обезболиванием (аминазин 10 мг/кг и кетамин 50 мг/кг) в условиях асептики и антисептики. Животных выводили из эксперимента на 7, 14, 28 и 45 сутки после операции. Сроки исследования были выбраны соответственно стадийности репаративного остеогенеза у крыс [8], согласно которой на 2–7-е сутки, накладываясь на травматическое воспаление, происходят процессы пролиферации, дифференцировки клеток, начинается формирование тканевых структур регенерата; на 5–14-е сутки происходит дифференцировка различных видов соединительной ткани, их минерализация; 20–45-е сутки характеризуются ремоделированием костного регенерата. Эксперименты на животных проведены в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [9], законом Украины «О защите животных от жестокого отношения» [12]. Протокол экспериментов на животных и соответствие проведенных научных исследований современным требованиям биоэтики утверждены Комитетом по вопросам биоэтики Харьковского национального медицинского университета. Гистологические исследования альвеолярной кости с участком травматического дефекта были выполнены в соответствии с общепринятыми методами, руководствуясь рекомендациями Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова [5]. Морфометрию проводили по Г.Г. Автандилову [1]. Использовали окраску срезов гематоксилином и эозином, пикросириусом красным, что позволяло определить степень зрелости коллагеновых волокон [14, 15], а также исследование окрашенных срезов

в поляризованном свете для выявления ориентационной упорядоченности коллагеновых структур и начала образования грубоволокнистых костных трабекул. Использованные измерения и параметры были приведены в соответствии с международной системой единиц, а полученные цифровые данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики. Для определения Ca и P применяли фотометрические методы с использованием коммерческих наборов фирмы «Филисит-Диагностика» (Украина). Активность ЩФ определяли кинетическим методом с p-нитрофенолфосфатом. Содержание ИЛ-1α, ФНО-α и ИЛ-8 в периферической крови определяли иммуноферментными методами на иммуноферментном анализаторе «Labline-90» (Австрия) согласно прилагаемой инструкции. Определение содержания суммарных метаболитов оксида азота и нитрит-аниона в сыворотке крови проводили по методу L.C. Green с соавт. в модификации В.А. Метельской и Н.Г. Гумановой [4]. Результаты исследований обрабатывали стандартными методами вариационной статистики на персональном компьютере с использованием прикладных программ «Stadia-6».

Результаты исследования и их обсуждение

Через 7 дней после повреждения содержание Ca и P в крови животных не изменяется (табл. 1).

Активность ЩФ достоверно снижается в сравнении с интактными животными на 38,7%. Среди провоспалительных цитокинов в этот временной срок достоверно нарастает уровень лишь ФНО-α – в 1,6 раза по сравнению с интактными крысами. Содержание общих метаболитов NO и нитрит-аниона повышено соответственно в 1,4 и 1,2 раза.

Морфометрический анализ тканей, сформировавшихся в регенерате через 7 суток после повреждения, обнаружил наличие кровяного сгустка, грануляционной ткани, фиброретикулярной ткани, грубоволокнистых трабекул (табл. 2). Площадь дефекта на 7 сутки составляла $84,36 \pm 1,67$ усл. ед. Приведенные данные свидетельствуют о том, что площадь фиброретикулярной ткани была в 2,17 раза больше, чем территория грануляционной ткани.

При исследовании регенерата в поляризованном свете в фиброретикулярной ткани наряду с отмеченными в световом микроскопе грубоволокнистыми костными трабекулами определялись волокнистые структуры с зеленым свечением, обладающие эффектом двойного лучепреломления, что свидетельствует о начальных стадиях формирования упорядоченного расположения незрелых коллагеновых волокон. Кроме того, выявлялись единичные неупорядоченно расположенные тонкие волокнистые структуры, не обладающие двулучепреломлением.

Таблица 1

Метаболические показатели крови после повреждения нижней челюсти у крыс (M ± m)

Показатели	Группы эксперимента				
	Контроль (n = 8)	Основная группа			
		Сроки после повреждения			
		7 сутки (n = 6)	14 сутки (n = 6)	28 сутки (n = 6)	45 сутки (n = 6)
Са (ммоль/л)	2,28 ± 0,12	2,27 ± 0,37	1,38 ± 0,10 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	1,79 ± 0,40 $P_1 < 0,05$	3,07 ± 0,29 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$
P (ммоль/л)	1,62 ± 0,14	1,67 ± 0,04	1,93 ± 0,08 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$	1,69 ± 0,07	1,76 ± 0,16
ЩФ (Е/л)	321,22 ± 97,43	196,83 ± 27,61 $P_1 < 0,05$	442,35 ± 42,28 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,02$	266,47 ± 28,29 $P_2 < 0,05$	203,46 ± 22,26 $P_1 < 0,05$
ИЛ-1α (пг/мл)	1,87 ± 0,42	1,62 ± 0,26	5,82 ± 0,52 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,02$	2,24 ± 0,19 $P_2 < 0,05$	1,57 ± 0,13 $P_2 < 0,05$
ИЛ-8 (пг/мл)	20,87 ± 1,13	25,49 ± 2,28	27,50 ± 2,98 $P_1 < 0,05$	24,86 ± 2,13	24,64 ± 2,92
ФНО-α (пг/мл)	20,76 ± 0,74	35,62 ± 3,30 $P_1 < 0,05$	38,32 ± 3,76 $P_1 < 0,01$	22,14 ± 2,48 $P_2 < 0,05$	16,50 ± 1,51 $P_2 < 0,05$
Метаболиты НО (мкмоль/л)	92,75 ± 8,81	128,42 ± 14,48 $P_1 < 0,02$	110,11 ± 9,72	109,87 ± 10,58	49,94 ± 4,28 $P_1 < 0,02$ $P_2 < 0,02$
Нитрит-анион (мкмоль/л)	6,39 ± 0,62	7,94 ± 0,83 $P_1 < 0,05$	11,83 ± 1,26 $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,02$	12,34 ± 1,58 $P_1 < 0,01$	9,29 ± 1,39 $P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$

Примечания:

 P_1 – достоверность отличий в сравнении с интактной группой; P_2 – достоверность отличий в сравнении с предыдущим сроком.

Таблица 2

Площади тканей регенерата в разные сроки остеопарации после повреждения нижней челюсти у крыс (M ± m)

Показатели	Сроки исследования (% от площади дефекта)		
	7 сутки (n = 6)	14 сутки (n = 6)	28 сутки (n = 6)
Кровяной сгусток	8,17 ± 0,87	–	–
Грануляционная ткань	25,17 ± 1,45	0	0
Фиброретикулярная ткань	54,75 ± 2,32 $P_1 < 0,001$	37,75 ± 2,36 $P_2 < 0,001$	6,92 ± 0,69 $P_2 < 0,001$
Грубоволокнистые трабекулы	9,46 ± 0,87	48,42 ± 2,57 $P_2 < 0,001$	88,33 ± 3,21 $P_2 < 0,001$

Примечания:

 P_1 – достоверность отличий площади фиброретикулярной ткани от площади грануляционной ткани; P_2 – достоверность отличий в сравнении с предыдущим сроком исследования.

Ближе к краевым отделам дефекта располагались волокнистые структуры, дающие при окраске с пикросириусом красным красное свечение, а в поляризованном свете – выраженную рефракцию. Это свидетельствует об упорядоченной организации коллагеновых волокон в пучках, их высокой зрелости, начале формирования грубоволокнистых костных трабекул и подготовке их к процессу минерализации.

Через 14 суток после повреждения содержание Са достоверно снижается по сравнению с интактными крысами и с 7 сутками в 1,6 раза, *P* – повышается в сравнении с интактными крысами и предшествующим сроком наблюдения (табл. 1). Активность ЩФ повышается, превышая показатели интактной группы на 37,7%, а значения, зарегистрированные на 7 сутки, в 2,25 раза. В этот срок исследования зарегистрировано повышение уровня всех провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 α – в 3,1 раза в сравнении с нормой, ФНО- α – в 1,8 раза, ИЛ-8 – в 1,4 раза. Содержание общих метаболитов NO снижается до нормы, а нитрит-аниона повышается в 1,8 раза в сравнении с нормой и в 1,5 раза в сравнении с предыдущим сроком исследования.

Хотя площадь дефекта изменилась незначительно (табл. 2), в регенерате произошла выраженная перестройка. Так, на 14 сутки грануляционная ткань в регенерате отсутствовала. Территория фиброретикулярной ткани прогрессивно уменьшалась, площадь костной ткани увеличивалась и превышала площадь фиброретикулярной ткани. Площадь костной ткани увеличилась по сравнению с предыдущим сроком в 5,12 раза и превышала показатели площади фиброретикулярной ткани у животных данной группы в 1,28 раза. По сравнению с предыдущим сроком наблюдения территория фиброретикулярной ткани уменьшилась в 1,45 раза (табл. 4). Площадь дефекта на этот срок наблюдения составляла $83,86 \pm 2,33$ усл. ед.

Параллельное исследование участков фиброретикулярной ткани регенерата в поляризованном свете на 14 сутки обнаружило укрупнение минерализующихся коллагеновых фибрилл, формирующих пучки различной толщины и имеющих четкую осевую ориентацию вдоль силовых линий кости. Такие пучки при постановке реакции с пикросириусом красным были окрашены в красный свет и имели яркое свечение (двулучепреломление), что свидетельствует об их зрелости. Четкая ориентационная упорядоченность большей части коллагеновых структур, выступала как основа формирующихся грубоволокнистых костных трабекул.

Через 28 суток после повреждения метаболические показатели крови изменялись следующим образом. Содержание Са остаётся сниженным, *P* – снижается до физиологических значений (табл. 1). Активность ЩФ также снижается в сравнении с 14 сутками до нормы. Уровень всех трёх провоспалительных цитокинов находится в пределах физиологических колебаний, снижаясь таким образом по сравнению с 14 сутками, когда содержание ИЛ-1 α , ФНО- α и ИЛ-8 повышено. Уровень же нитрит-аниона остаётся в пределах колебаний, обнаруженных на 14 сутки, т.е. выше нормы.

Что касается гистологической картины, то через 28 суток после травмы формировалась зрелая костная ткань.

При исследовании регенератов в поляризованном свете установлено, что костные трабекулы периостальной части по свечению практически не отличались от материнской кости, что свидетельствует о зрелости костной ткани. В фиброретикулярной ткани определялись продолговатые участки яркого красного свечения, что указывает на наличие толстых пучков коллагеновых волокон. Такие пучки характеризовались выраженным двулучепреломлением (анизотропией), что свидетельствует не только об увеличении массы волокон, но и об их упорядоченной ориентации, предшествовавшей образованию костных трабекул и их минерализации.

В эндостальной области костные трабекулы наряду с участками зрелой костной ткани с красным свечением содержали очаги зеленого свечения, что характеризует незавершенность процессов костеобразования.

При выполнении морфометрического исследования установлено, что территория дефекта не отличалась от предыдущего срока и составляла $82,07 + 2,13$ усл. ед., а площадь костной ткани в регенерате расширилась по сравнению с предыдущим сроком, и ее показатели были выше в 1,82 раза, а небольшие участки фиброретикулярной ткани занимали площадь в 5,46 раза меньшую чем на 14 сутки (табл. 2).

Через 45 суток после повреждения концентрация Са в крови нарастает как в сравнении с нормой, так и относительно предыдущего срока (28 суток). Содержание *P*, уровень провоспалительных цитокинов – в пределах нормы, концентрация же стабильного метаболита NO – нитрит-аниона, снижаясь в сравнении с предыдущими сроками (14–28 суток), всё же не достигает нормальных значений (табл. 1). Таким образом, концентрация стабильного метаболита NO нитрит-аниона достоверно увеличена во все сроки наблюдения, т.е. на протяжении полутора месяцев после травмы.

В поляризованном свете костная ткань регенерата и материнская кость имели одинаковое двулучепреломление, что указывает на ее зрелость. Однако костная ткань в регенерате отличалась от материнской кости наличием сосудистых каналов, выполненными фиброретикулярной тканью. Периостальные костные напластования вблизи дефекта уменьшились, но все еще определялись у отдельных животных. Материнская кость вблизи дефекта имела незначительные посттравматические репаративные изменения.

Анализируя полученные данные в плане сопоставления метаболических показателей периферической крови с процессами, происходящими непосредственно в регенерате и материнской кости альвеолярного отростка, можно отметить следующие закономерности в их динамике.

Спустя неделю после нанесения дефекта среди всех изученных показателей отмечается изменение активности ЩФ (\downarrow), уровня ФНО- α (\uparrow) и метаболитов NO (\uparrow) при неизменной концентрации Ca и P. В это время, как показали данные морфологии, площадь дефекта довольно значительна ($84,36 \pm 1,67$ усл. ед.), в самом дефекте присутствует кровяной сгусток и грануляционная ткань, занимающая 1/4 от площади дефекта, имеются значительные нарушения и в материнской кости в виде участков деструкции. С этой точки зрения вполне объяснимо повышение уровня провоспалительного цитокина ФНО- α в крови, который, как известно, первым из провоспалительных цитокинов реагирует на повреждение и может запускать цитокиновый каскад, в частности, ИЛ-1 [13] и избыточное количество NO, поскольку именно провоспалительные цитокины являются триггером их синтеза [2, 3].

Наиболее динамические изменения со стороны метаболических и морфологических показателей зафиксированы на 14 сутки. Действительно, именно в этот срок обнаружен максимальный сдвиг как минеральных (Ca, P), так и органических показателей остеогенеза (ЩФ, ИЛ-1 α , ФНО- α и ИЛ-8, нитрит-анион). Гистологически также именно в эти сроки динамика перестройки регенерата протекает весьма интенсивно; площадь костной ткани увеличивается по сравнению с 7 сутками в 5,12 раза и превышает площадь фиброретикулярной ткани в 1,28 раза. По сравнению с 7 сутками площадь фиброретикулярной ткани уменьшается в 1,45 раза, площадь грубоволокнистых трабекул возрастает по сравнению с 7 сутками в 5,1 раза.

В поляризованном свете отмечено укрупнение минерализующих коллагено-

вых фибрилл, формирующих зрелые пучки. Активные процессы посттравматической перестройки, как описано выше, протекают и в материнской кости.

К 28 суткам многие метаболические показатели нормализуются – P, ЩФ, все интерлейкины. Остаётся выше нормы содержание нитрит-аниона и сниженным содержание Ca. Последние, однако, несколько повышаются сравнительно с 14 сутками.

«Успокоение» отмечается и в гистологической картине регенерата – костные трабекулы оформлены, выполнены коллагеном I типа, характерным для зрелой костной ткани, в периостальной области практически не отличались от материнской кости. В последней выявляются лишь незначительные посттравматические изменения и только вблизи дефекта.

Через 45 суток из минеральных показателей вновь нарастает содержание Ca, что можно связать с резорбцией периостальных напластований, т.е. резорбцией избыточного регенерата, обнаруженного нами гистологически на стадии ремоделирования костного регенерата. Кроме того, при снижении общих метаболитов NO, концентрация нитрит-аниона, снижаясь в сравнении с предшествующими сроками, всё же превышает норму. Гистологически к 45 суткам процесс репаративной регенерации практически завершается, однако в регенерате в костной ткани в отличие от материнской кости обнаруживаются сосудистые каналы, выполненные фиброретикулярной тканью.

Выводы

● Обнаружена взаимосвязь между гистологическими процессами регенерации альвеолярной кости при её повреждении и метаболическими показателями периферической крови.

● В сроки максимальной перестройки регенерата (14 сутки) обнаруживаются максимальные сдвиги всех изучаемых показателей. По мере созревания костного регенерата нормализуются и метаболические показатели. Наиболее чувствительными показателями оказываются ЩФ, провоспалительные цитокины и нитрит-анион.

● Трактовка метаболических показателей в крови возможна лишь с учётом стадии посттравматической регенерации альвеолярной кости.

Список литературы

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: [руководство]. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Звягинцева Т.В. Халин И.В. Метаболитотропная терапия хронических ран. – Харьков: Вировець А.П. «Апостроф», 2011. – 180 с.

3. Козина О.В. Метаболизм нитрозотиолов при аллергическом воспалении // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30. – № 1. – С. 109–116.
4. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота // Клини. лаб. диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–18.
5. Саркисов Д.С., Перова Ю.Л. Микроскопическая техника. – М.: Медицина, 1996. – 542 с.
6. Челюстно-лицевой травматизм в промышленном мегаполисе: современный уровень, тенденции, инфраструктура / М.Н. Матрос-Таранец, Д.К. Каменовский, С.Б. Алексеев, Абу Халиль. – Донецк, 2001. – 193 с.
7. Экспериментальный остеопороз / В.В. Поворознюк, Н.В. Дедух, Н.В. Григорьева и др. – Киев, 2012. – 228 с.
8. Дедух Н.В., Никольченко О.А. Регенерация кисти при алиментарному остеопорозі (експериментальне дослідження) // Ортопед., травматол. – 2009. – № 2. – С. 34–40.
9. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Міжнародний документ Ради Європи (Страсбург, 18.03.1986): офіційний переклад [Електронний ресурс] // Верховна Рада України: сайт. – Режим доступу: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137 (дата об'єднання: 14.09.2011).
10. Желнин Е.В. Маркеры остеогенеза и их связь с процессами ремоделирования альвеолярной кости в эксперименте // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2012. – Т. 12. – № 4. – С. 126–130.
11. Желнин Е.В. Морфологические особенности посттравматической регенерации альвеолярной кости в эксперименте. Український морфологічний альманах. – 2012. – Т. 10. – № 3. – С. 35–38.
12. Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Стаття 26).
13. Протизапальний вплив N-стеароїлетаноламіну на експериментальну опікову травму у щурів / Н.М. Гула, А.А. Чумак, А.Г. Бердишев та ін. // Укр. біохім. журн. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 107–116.
14. Figueiredo B. L., Sempio G. P., Ricardo C. Picrosirius-polarization staining method as an efficient histopathological tool for collagenolysis detection in vesical prolapse lesions // Micron. – 2007. – Vol. 38, № 6. – P. 580–583.
15. Li X.J., Lei T., Gao J.H. Detection of collagens in hypertrophic scars by picrosirius polarization method // Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao. – 2002. – Vol. 422, № 3. – P. 217–219.
3. Kozina O.V. *Byulleten SO RAMN*, 2010, Vol. 30, no. 1, pp. 109–116.
4. Metelskaya V.A., Gumanova N.G. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2005, no. 6, pp. 15–18.
5. Sarkisov D.S., Perova Yu.L. *Mikroskopicheskaya tekhnika* [Microscopic technique]. Moscow, Meditsina, 1996. 542 p.
6. Matros-Taranets M.N., Kamenovskiy D.K., Alekseev S.B., Abu Khalil. *Chelyustno-licevoy travmatizm v promyshlennom megapolise: sovremenny uroven, tendentsii, infrastruktura* [Maxillofacial traumatism in the industrial metropolis: the current level, trends, infrastructure]. Donetsk, 2001. 193 p.
7. Povoroznyuk V.V., Dedukh N.V., Grigoreva N.V., Gopkalova I.V. *Jeksperimentalny osteoporoz* [Experimental osteoporosis]. Kiev, 2012. 228 p.
8. Diedukh N.V., Nikolchenko O.A. *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, 2009, no. 2, pp. 34–40.
9. *Yevropeiska konventsiiya pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuyutsia dlia doslidnykh ta inshykh naukovykh tsilei. Mizhnarodnyi dokument Rady Yevropy (Strasburg, 18.03.1986)* (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 18.03.1986)): official translate// Verkhovna Rada of Ukraine: website – Available at: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137 (accessed 14.09.2011).
10. Zhelnin E.V. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny: Visnyk Ukrainkoi medychnoi stomatologichnoi akademii*, 2012, Vol. 12, no. 4, pp. 126–130.
11. Zhelnin E.V. *Ukrainskyi morfologichnyy almanakh*, 2012, Vol. 10, no. 3, pp. 35–38.
12. *Zakon Ukrainy № 3447-IV vid 21.02.2006 «Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokogo povodzhennia» (Stattia 26)*. (The Law of Ukraine N3447-IV from 21.02.2006 «the Protection of Animals from cruelty» (Article 26)).
13. Gula N.M., Chumak A.A., Berdyshev A.G., Megel O.F., Goridko H.M., Kindruk N.L., Kosiakova H.V., Zhukov O.D. *Ukrainskyi biokhimichnyi zhurnal*, 2009, Vol. 81, no. 2, pp. 107–116.
14. Figueiredo B.L., Sempio G.P., Ricardo C. *Micron*, 2007, Vol. 38, no. 6, pp. 580–583.
15. Li X.J., Lei T., Gao J.H. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2002, Vol. 422, no. 3, pp. 217–219.

Рецензенты:

Чумакова Ю.Г., д.м.н., с.н.с., зав.отделом заболеваний пародонта, ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», г. Одесса;

Сорокина И.В., д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии, Харьковский национальный медицинский университет МЗ Украины, г. Харьков.

Работа поступила в редакцию 11.07.2013.

References

1. Avtandilov G.G. *Meditsinskaya morfometriya: [rukovodstvo]* [Medical morphometry]. Moscow, Meditsina, 1990. 384 p.
2. Zvyagintseva T.V., Khalin I.V. *Metabolitotropnaya terapiya khronicheskikh ran* [Metabolitotropic therapy of chronic wounds]. Kharkov, Virovets A.P. «Apostrof», 2011. 180 p.