

8. Лунёва С.Н, Новиков М.И, Накоскин А.Н. Накопление марганца и кадмия в distractionном регенерате // Клеточные и нанотехнологии в биологии и медицине: материалы Всероссийской научно–практической конференции. – Курган, 2007. – С. 54 – 56.

9. Лунёва С.Н, Новиков М.И, Накоскин А.Н. Накопление железа и меди в distractionном регенерате // Клеточные и нанотехнологии в биологии и медицине: материалы Всероссийской научно–практической конференции. – Курган, 2007.– С. 57–59.

10. Лунёва С.Н, Накоскин А.Н, Новиков М.И. Распределение некоторых микроэлементов в различных сегментах костной ткани животных в условиях удлинения конечности // Фундаментальная наука и клиническая медицина: Материалы XI Всероссийской медико–биологической научной конференции молодых учёных «Человек и его здоровье». – СПб.: Б.И. – 2008. – С. 56

11. Лунёва С.Н, Накоскин А.Н, Новиков М.И. Количественный градиент как сравнительная характеристика накопления некоторых макроэлементов в онтогенезе и в условиях удлинения конечности // Фундаментальная наука и клиническая медицина: Материалы XI Всероссийской медико–биологической научной конференции молодых учёных «Человек и его здоровье». – СПб.: Б.И. – 2008. – С. 57

12. Содержание макро– и микроэлементов в онтогенезе и в условиях репаративной регенерации кости у собак / А.Н. Накоскин, М.И. Новиков М.И // Травматология и ортопедия России. – СПб.: РНИИТО, 2008. – №1. – С. 38–44.

Новиков Михаил Игоревич

**ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ БИОГЕННЫХ МАКРО- И
МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В КОСТНОЙ ТКАНИ СОБАК В
ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ И В УСЛОВИЯХ
ЧРЕСКОСТНОГО ДИСТРАКЦИОННОГО ОСТЕОСИНТЕЗА**

03.00.04 – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Нижний Новгород – 2008

Работа выполнена в лаборатории биохимии клинико-экспериментального лабораторного отдела Федерального Государственного учреждения «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова»

Научный руководитель: доктор биологических наук
Лунева Светлана Николаевна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
профессор
Ерлыкина Елена Ивановна

доктор медицинских наук
профессор
Шараев Пётр Низамиевич

Ведущая организация: Тюменский государственный университет, г. Тюмень

Защита диссертации состоится «16» октября 2008 г. на заседании диссертационного совета Д 212.166.15 при Нижегородском государственном университете (603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23), биологический факультет

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Нижегородского Государственного Университета им. Лобачевского

Автореферат разослан «15» сентября 2008 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор биологических наук,

доцент



Корягин А.С.

вых собак в процессе онтогенеза обнаружен синергический характер взаимоотношений между следующими парами биогенных элементов: калий-натрий, кальций-натрий, железо-никель, медь-никель, марганец-магний, кадмий-медь.

5. Независимо от содержания на ранних сроках созревания дистракционного регенерата к 7-му месяцу после окончания дистракции концентрация макроэлементов соответствует таковой в кости здоровых животных. Количество микроэлементов на данном сроке достоверно отличается от нормального, и продолжает изменяться.

6. По окончании дистракции в контрлатеральной и костных отломках оперированной конечности происходят изменения состава неорганического матрикса костной ткани, сходные с таковыми в дистракционном регенерате.

7. Динамика изменений содержания магния, натрия, калия, железа, кадмия и марганца при созревании регенерата и в онтогенезе совпадает; для элементов кальция, никель и медь характерна обратная динамика накопления. Различия состоят в величине скоростей аккумуляции и выведения.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Новиков М. И., Накоскин Н. А. Динамика накопления микроэлементов в большеберцовых костях собак // Изв. Челябин. науч. центра УрО РАН. – 2006. – №3 (33). – Режим доступа: <http://csc.ac.ru/ej/file/3375>. – Загл. с экрана.

2. Накоскин Н.А., Новиков М.И., Канашкова Ю.И. Возрастная динамика содержания некоторых минеральных компонентов костной ткани щенков // Молодые ученые: новые идеи и открытия: материалы Всероссийской науч.– практ. конф. молодых ученых, посвященной 85–летию со дня рождения академика Г.А. Илизарова и 35–летию Российского научного центра «Восстановительная травматология и ортопедия» / Под ред. проф. В.И. Шевцова. – Курган, 2006. – С. 109–112.

3. Колчерина В.В., Канашкова Ю.И., Новиков М.И. Некоторые особенности водного обмена у больных с переломами длинных костей скелета, сочетанными с черепно–мозговой травмой // Наука и инновации XXI века: Материалы VI Окружной конференции молодых ученых – Сургут, 24–25 ноября 2005 г. – Сургут, 2005. – С. 28.

4. Накоскин А.Н., Новиков М.И., Колчерина В.В. Содержание некоторых микроэлементов в костной ткани щенков // Наука и инновации XXI века: Материалы VI Окружной конференции молодых ученых – Сургут, 24–25 ноября 2005 г. – Сургут, 2005. – С. 34.

5. Канашкова Ю.И., Колчерина В.В., М.И.Новиков. Изменения баланса электролитов у больных с переломами длинных костей скелета, сочетанных с черепно–мозговой травмой // Наука и инновации XXI века: Материалы VI Окружной конференции молодых ученых – Сургут, 24–25 ноября 2005 г. – Сургут, 2005. – С. 35.

6. Новиков М.И., Накоскин Н.А., Еманов А.А. Накопление эссенциальных элементов в костной ткани щенков и дистракционном регенерате // Актуальные вопросы ветеринарной хирургии: материалы научно–практической конференции. – Курган, 2006. – С. 49–51.

7. Новиков М.И., Накоскин Н.А. Содержание эссенциальных микроэлементов в большеберцовых костях щенков // Актуальные вопросы ветеринарной хирургии: материалы научно–практической конференции. – Курган, 2006. – С. 51 – 54.

Таким образом, общие тенденции обнаружены для изменения содержания в онтогенезе и в условиях репаративной регенерации таких элементов, как магний, калий, железо, кадмий и марганец. Причина различий между динамичностью процессов депонирования и выведения в нормальном онтогенезе и в условиях травмы как для данных элементов, так и для прочих, может состоять либо в изменении конкурентных отношений в восстанавливающейся ткани по сравнению со здоровой, так и во влиянии уже существующего минерального депо организма в объёме здорового скелета взрослого экспериментального животного, а также других опосредованных и косвенных факторов.

Практические рекомендации

По итогам проведённого исследования представляется целесообразным рекомендовать:

1. Использовать полученные нами нормальные показатели содержания макро- и микроэлементов костной ткани при дальнейших исследованиях той или иной костной патологии.
2. Учитывать макро- и микроэлементную недостаточность регенерирующейся костной ткани при составлении сбалансированного рациона питания организма в условиях травмы.

Выводы

1. У здоровых половозрелых собак количество биогенных элементов в костной ткани не зависит от пола и составляет: кальций – 55,64%, магний – 1,76 г%, натрий 0,41 г%, калий – 0,115 мг%, железо – 0,016 мг%, медь – 1,109 мг%, никель – 0,088 мг%, кадмий 6,552 мкг%, марганец 0,026 мг%.
2. Наибольшее накопление биогенных макроэлементов в костной ткани собак происходит в периоде от 0 до 2-х месяцев и составляет для кальция 1529%, магния – 431%, натрия – 1667%, калия более чем в 700 раз. Содержание кальция в костной ткани собак увеличивается до периода половозрелости, затем имеет тенденцию к снижению. Количества калия и натрия в онтогенезе снижаются от возраста 4 месяца до периода выраженных старческих изменений. Минимум концентрации магния обнаружен у половозрелых животных, после чего концентрация магния достоверно возрастает в 2 раза.
3. При исследовании содержания микроэлементов в костной ткани собак в онтогенезе обнаружено уменьшение концентрации меди и кадмия в периоде от 0 до 2-х месяцев на 50±9%. Затем происходит увеличение их концентрации в 2-4 раза. Содержание никеля и железа возрастает к 2-х месячному возрасту на 30 и 38% соответственно и остаётся неизменным. Затем концентрация железа к периоду выраженных старческих изменений уменьшается в 6 раз. Количество марганца возрастает в 32-35 раз к 2-м месяцам жизни животного, и затем после 6-и месячного возраста снижается в 2,5 раза. Содержание лития в период от 0 до 6-ти месяцев увеличивается в 6 раз, снижаясь вдвое у старых животных.
4. В костной ткани здоровых собак в процессе онтогенеза обнаружен антагонистический характер взаимоотношений между следующими парами биогенных элементов: кальций-магний, железо-медь, железо-кальций. В костной ткани здоро-

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. В настоящее время одну из наиболее актуальных проблем здравоохранения составляют метаболические остеопатии [Верткин А.Л., 2007]. Усугубляют значимость заболеваний тяжесть социально-экономических последствий, к которым приводят патологии опорно-двигательной системы. Переломы, связанные с минимальной травмой, не только являются специфическими проявлениями остеопорозного процесса, но и определяют физические, моральные и экономические потери больного и общества в целом [Дегтярёв А.А., 2003]. При этом наиболее тяжёлые последствия связаны с переломами бедренной кости, при которых показатели смертности, инвалидности и стоимости медицинского лечения выше, чем при других, вместе взятых, видах переломов [Ершова О.Б., Семенова О.В., 2003]. Предполагается, что увеличение народонаселения и продолжительности жизни до 80 лет приведет к середине XXI века к троекратному возрастанию частоты переломов во всем мире [Cooper C, Campion G, Melton L.J., 1997], так как к этому возрасту существенная потеря костной массы, в том числе ускоренная деминерализация костей – серьёзный фактор риска. Однако остеопороз – проблема не только людей пожилого возраста. Так как остеопороз определяется как сравнение индивидуальной минеральной плотности кости со средними значениями пиковой костной массы у людей молодого возраста, можно сказать, что предпосылки к развитию остеопороза закладываются еще во время внутриутробного развития, в период формирования скелета. [Щеплягина Л.А., Моисеева Т.Ю., 2003] Причиной детской остеопении также служит и наследственно детерминируемый фосфат-диабет. За последние 10-12 лет замечен рост остеохондропатий головки бедренной кости – болезни Пертеса, приводящих к детской инвалидности [Крысанов В.О., 2006].

Для решения поставленных проблем необходимо глубокое понимание сущности патогенеза того или иного заболевания опорно-двигательной системы. Причина любого органического или функционального расстройства кроется не только в как таковом морфологическом нарушении, но и на уровне биохимического обмена, взаимодействии субклеточных молекулярных структур ткани [Heany R., Dowell S., 2001].

Важнейшими структурными составляющими костной ткани являются остеотропные макро- и микроэлементы. Исследование метаболизма макроэлементов при регенерации кости и патологических состояниях вскрыло важные закономерности и особенности их накопления в костной ткани [Авцын А.П., Жаворонков А.А. и др., 1991]. На данный момент известно, что именно минеральный матрикс ответствен за сложную архитектуру кости [Попова Л.А., 2001]. Наряду с этим до последнего времени существует очень мало сведений о роли микроэлементов в костной ткани, и изучение данной проблемы является целесообразным хотя бы потому, что и макроэлементы, и микроэлементы выполняют важнейшие функции в организме в целом, являясь как регуляторами, так и непосредственными составляющими макромолекулярных участников биоорганических взаимодействий живого организма. Невозможно переоценить их значение в функционировании ферментов, гормонов, нуклеиновых кислот, белков и других биополимеров. Так, кальций, как известно, входит в состав основного неорганического структурного компонента кости – оксиапатита,

таким образом, выведение из организма кальция по тем или иным причинам приводит к утере не только механических свойств костной ткани, но и нарушает баланс данного элемента в организме в целом [Аврунин А.С., 2000]. Дефицит меди в организме приводит к искривлению и ломкости костей, деформации скелета [Вгуант F., 1964]. Избыточное введение железа в растущий организм вызывает патологические изменения костей типа хондродистрофии Кашина-Бека, недостаточное его поступление приводит к тяжело протекающему остеопорозу [Жаворонков А., 1991].

Патологию опорно-двигательной системы невозможно понять, не учитывая метаболизма биогенных элементов, так как кость – это многофункциональная анатомическая составляющая, скелет – это основное депо минеральных соединений, обеспечивающее стабильный водно-солевой обмен. Более того, многие исследователи последних лет видят причины целого ряда заболеваний скелета не собственно в костной патологии, а в дисбалансе микроэлементов в организме в целом, то есть в так называемом микроэлементозе [Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С., 1991]. Изучение динамики накопления макро- и микроэлементов в онтогенезе позволило бы расширить представления о роли микроэлементов при репаративной регенерации кости. Для понимания потребности клеточных структур кости в минеральных веществах на различных стадиях остеорепарации необходимо четкое представление о сложных синергических или антагонистических взаимодействиях элементов.

После периода накопления ценных, но недостаточно систематизированных фактов, появилась необходимость изучения содержания макро- и микроэлементов в норме, исследование динамики накопления их с возрастом, а также выявление особенностей колебания концентраций в условиях травмы.

Факт накопления отдельных микроэлементов в скелете с возрастом имеет немаловажное значение, так как замена этими микроэлементами ионов кальция в кристаллической решетке оксиапатита ведёт к утрате механической прочности кости, её ломкости и хрупкости. Поэтому изучение обмена микроэлементов в костной системе в геронтологическом аспекте имеет большое значение для понимания сущности происходящих метаболических процессов. Между тем литература по данному вопросу представлена главным образом данными по количественному содержанию микроэлементов в костной системе человека и экспериментальных животных на стадии эмбрионального и раннего постэмбрионального периода и в очень малой степени освещает вопросы обмена микроэлементов в условиях физиологической и особенно репаративной регенерации кости.

Цель исследования. Определить взаимозависимость изменения содержания биогенных макро- и микроэлементов в костной ткани собак в процессе онтогенеза и в период созревания дистракционного регенерата.

Задачи исследования:

1. Исследовать содержание биогенных макро- и микроэлементов в компактной кости взрослых здоровых собак: кальция, магния, натрия, калия, железа, меди, никеля, кадмия и марганца.

2. Изучить динамику накопления биогенных элементов в онтогенезе и исследовать взаимосвязь накопления отдельных микро- и макроэлементов в костной ткани собак.

Обнаружено очевидное сходство в динамике изменения содержания кадмия со второй точки сравнения, т.е. в возрасте регенерата 4 месяца. При этом можно видеть, что на 4-м месяце эксперимента действительно происходит резкое снижение уровня кадмия во всех изученных сегментах костной ткани оперированного животного (табл. 2), после чего, вступает в силу определённая общая закономерность накопления кадмия в регенерирующейся и растущей кости (рис. 13). По окончании эксперимента содержание кадмия в регенерате и в интактной конечности находилось на одном уровне.

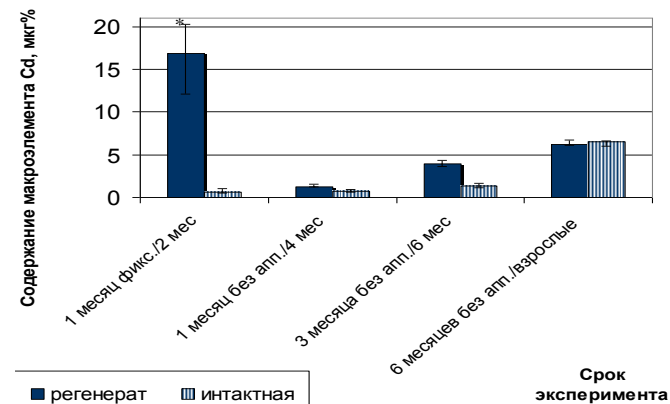


Рис. 13. Изменение содержания кадмия в процессе регенерации и онтогенеза

Из рис. 14. можно видеть, что изменение содержания марганца в онтогенезе и при регенерации подчиняются общим тенденциям. В регенерате марганец действует в меньших количествах, однако фактически повторяет волнообразное колебание его в онтогенезе, при этом с большей выраженностью интенсивности. По окончании эксперимента содержание марганца в регенерате и в интактной конечности находилось на одном уровне.

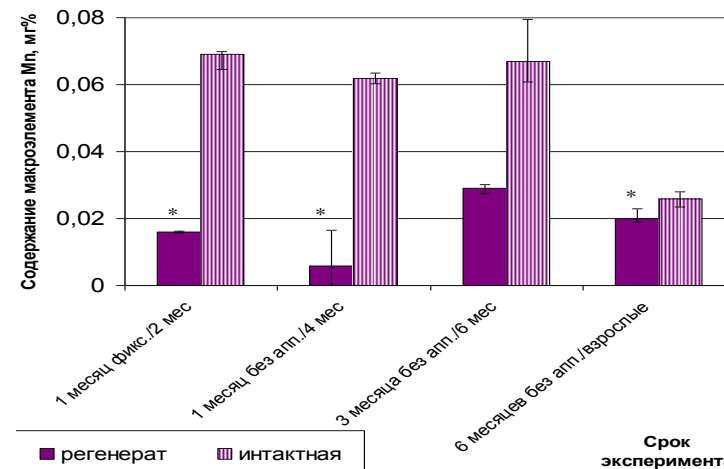


Рис. 14. Изменение содержания марганца в процессе регенерации и онтогенеза

Анализ количественных колебаний меди показал противоположно направленные тенденции в онтогенезе и в условиях удлинения, так, на первых двух и на последней точке сравнения отмечены статистически значимые отличия в содержании меди (рис.11).

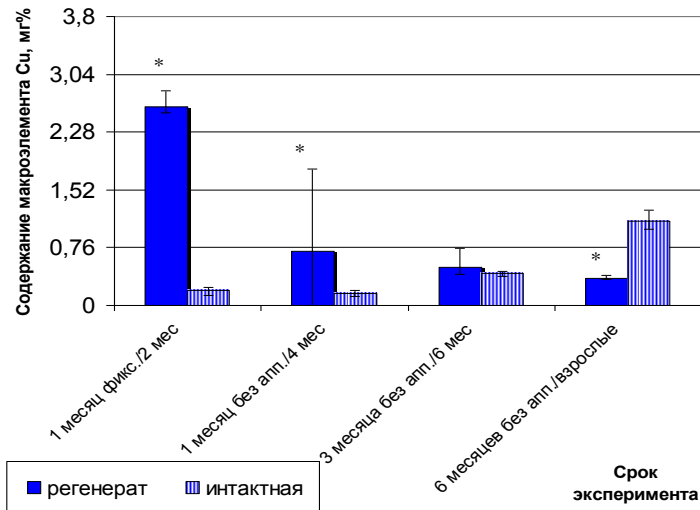


Рис. 11. Изменение содержания меди в процессе регенерации и онтогенеза

Динамика изменения концентрации никеля в процессе регенерации и онтогенеза была различной (рис. 12). Накопление никеля в регенерате подчиняется тем же закономерностям, что и в других сегментах костной ткани организма в условиях удлинения (табл. 2), в онтогенезе же после резкого повышения в первые 2 месяца жизни (табл. 1) в дальнейшем существенных изменений не происходило.

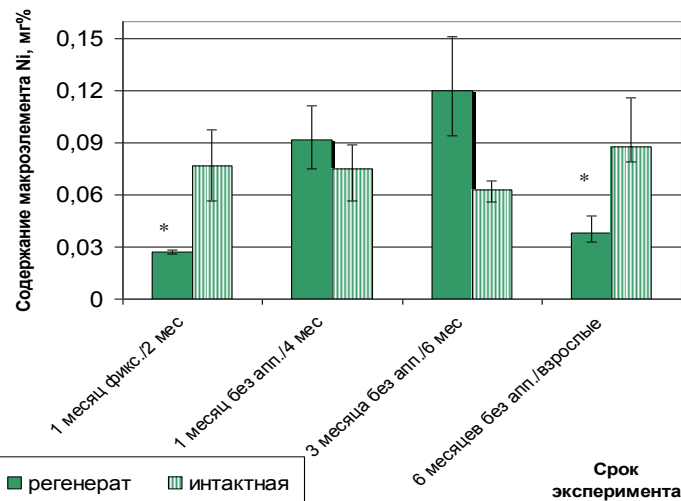


Рис. 12. Изменение содержания никеля в процессе регенерации и онтогенеза

3. Исследовать изменение макро- и микроэлементного состава костной ткани экспериментальных животных в условиях чрескостного дистракционного остеосинтеза в контрлатеральной конечности и в сегментах оперированной конечности.

4. Провести сравнительный анализ динамики процессов аккумуляции и выведения катионов макро- и микроэлементов в онтогенезе и при регенерации кости.

Положения, выносимые на защиту:

1. Накопление биогенных элементов в костной ткани здоровых собак в процессе онтогенеза происходит взаимосвязано: между парами элементов калий-натрий, кальций-натрий, железо-никель, медь-никель, марганец-магний, кадмий-медь существует синергический характер соотношения, между парами элементов кальций-магний, железо-медь, железо-кальций - антагонистический.

2. Максимальная скорость накопления макро- и микроэлементов обнаружена в первые 2 месяца жизни животного. Зрелый регенерат и костная ткань взрослых здоровых животных содержат одинаковое количество макроэлементов, в то время, как концентрации микроэлементов достоверно различны.

Научная новизна исследования. Впервые выявлено, что наибольшее накопление биогенных макроэлементов в костной ткани собак происходит в возрасте от новорождённых до 2-х месяцев. Также обнаружено, что содержание кальция в костной ткани собак увеличивается до периода половозрелости, затем проявляется тенденция к его снижению. Впервые показано, что количества калия и натрия в онтогенезе снижаются от возраста 4 месяца до периода выраженных старческих изменений, а минимум концентрации магния обнаружен у половозрелых животных, в дальнейшем с возрастом концентрация магния достоверно возрастает в 2 раза. Впервые при исследовании содержания микроэлементов в костной ткани собак в онтогенезе обнаружено уменьшение концентрации меди и кадмия в периоде от 0 до 2-х месяцев, а затем её увеличение. Впервые найдено, что содержание никеля и железа возрастает к 2-х месячному возрасту и остаётся неизменным до половой зрелости. Также показано, что количество марганца значительно возрастает к 2-м месяцам жизни животного, и затем после 6-и месячного возраста снижается. Впервые показано, что независимо от содержания на ранних сроках созревания дистракционного регенерата к 7-му месяцу после окончания дистракции концентрация макроэлементов соответствует таковой в кости здоровых животных, а количество микроэлементов на данном сроке достоверно отличается от нормального, и продолжает изменяться.

Практическое значение. В комплексе оценены изменения элементного состава неорганического матрикса костной ткани здоровых половозрелых собак в течение жизни. Полученные данные позволяют судить о потребности организма в условиях травмы как в макро-, так и в микроэлементах. Экспериментально обнаружен недостаток ряда микроэлементов в условиях репаративной регенерации кости. Показано, что по окончании дистракции в контрлатеральной и костных отломках оперированной конечности происходят изменения состава неорганического матрикса костной ткани, сходные с таковыми в дистракционном регенерате. Экспериментально обосновано сходство динамики изменений содержания магния, натрия, калия, железа, кадмия и марганца при созревании регенерата и в онтогенезе, а также обратный характер накопления элементов кальций, никель и медь.

Внедрение результатов исследования. По результатам работы в клинко-диагностическую лабораторию РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова внедрены методы исследования, позволяющие оценить минеральный катионный состав костной ткани в возрастном аспекте, а также его изменения в условиях травмы. Материалы диссертации включены в планы выполнения курсовых и дипломных работ студентов Курганского государственного университета

Апробация и публикация работы: Материалы работы доложены на: Окружной конференции молодых учёных «Наука и инновации XXI века», Сургут, 2005; Всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые: новые идеи и открытия», Курган, 2006; областном научном обществе ортопедов и травматологов, Курган, 2006; Всероссийской научно-практической конференции «Клеточные и нанотехнологии в биологии и медицине», Курган, 2007; по теме диссертации опубликовано 12 печатных работ в республиканских и областных изданиях, в том числе в изданиях, рекомендованных ВАК – 2 работы.

Объём и структура: диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов исследований, заключения, обсуждения полученных данных, выводов, списка литературы, включающего 174 работ (из них 92 отечественных, 82 зарубежных); изложена на 137 страницах машинописного текста, иллюстрирована 36 рисунками и 7 таблицами. Диссертационная работа выполнена по плану НИР РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова (номер гос. регистрации 01.2.003.16.067).

Содержание работы

Материалы и методы исследования. В основу работы положен анализ результатов исследований, выполненных на 84 беспородных собаках в возрасте от новорождённых до периода выраженных старческих изменений. Уход и содержание животных осуществлялось в соответствии с требованиями инструкции № 12/313 Министерства здравоохранения Российской Федерации «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментальных биологических клиник» от 06.01.73 г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария, получали дозированный рацион сухим кормом Royal Canine. Количество корма рассчитывалось исходя из возраста животного по рекомендациям компании производителя. Доступ к питьевой воде был неограничен. Эвтаназию собак проводили, исходя из сроков эксперимента, внутривенным введением 5% раствора тиопентала натрия в летальных дозах.

Взятие биологического материала проводили непосредственно по прошествии эвтаназии. По наружной поверхности бедра проводилось рассечение кожных покровов и мягких тканей. Пилкой Джигли резецировался диафиз правой и левой голени. Полученные образцы костной ткани после выделения очищали от мягких тканей, надкостницы, скальпелем вычищали внутреннюю поверхность от костного мозга и упаковывали в полиэтиленовые пакеты, маркировались и хранились при температуре -70°C .

Исходя из задач исследования, экспериментальный материал был распределён на серии.

Серию I составляли здоровые интактные животные в возрасте от новорождённых

чем у интактных животных. К стадии созревания регенерата количество калия снижалось, аналогично как и у интактных животных (рис. 9).

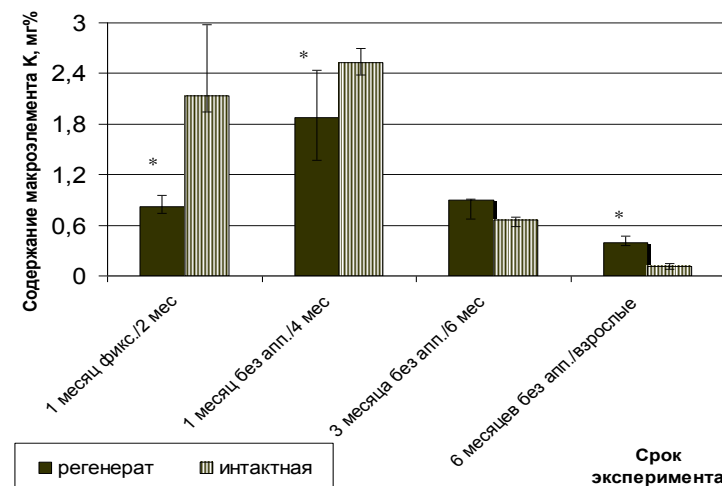


Рис. 9. Изменение содержания калия в процессе регенерации и онтогенеза

В отношении железа также прослеживалась общность тенденций в динамике изменения содержания в процессе роста интактной кости и регенерата, заключающаяся в снижении уровня концентрации железа. При этом согласно наблюдениям (табл. 2) очевидно, что явления, происходящие в регенерате, не повторяют таковые в отломках оперированной конечности и в пробах контрлатеральной. Т.е. изменения содержания железа, происходящие в онтогенезе и при регенерации, вероятно, подчиняются некой общей закономерности (рис. 10). По окончании эксперимента содержание железа в регенерате и в интактной конечности находилось на одном уровне.

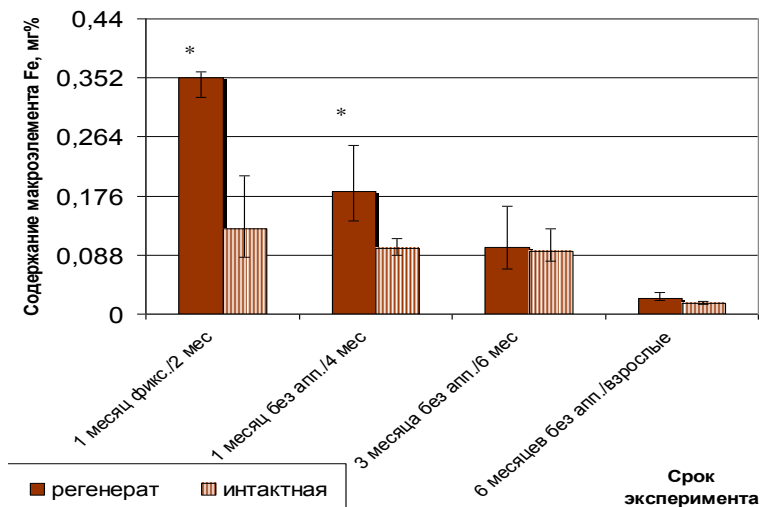


Рис. 10. Изменение содержания железа в процессе регенерации и онтогенеза

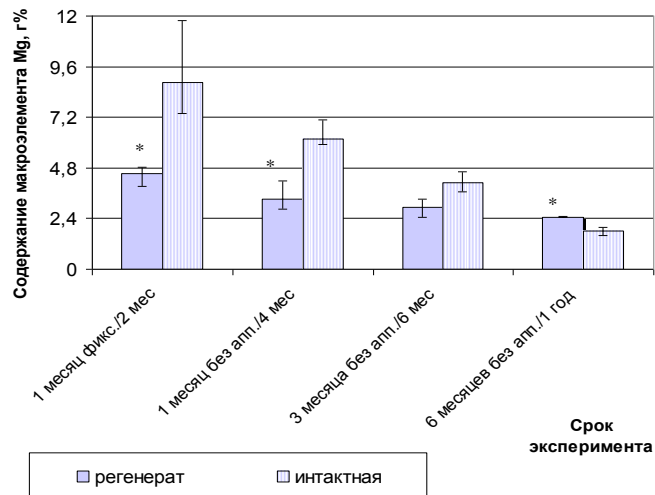


Рис. 7. Изменение содержания магния в процессе регенерации и онтогенез

В условиях удлинения количество натрия в отломках и контрлатеральной конечности претерпевает значительные изменения (табл.2). Однако данное явление не касается содержания этого элемента в регенерате. То же явление наблюдается для динамики изменения натрия в онтогенезе (табл. 1). Т.е. такой количественный баланс уровня натрия в растущей кости при прочем размахе колебаний концентраций детерминирован общей причиной.

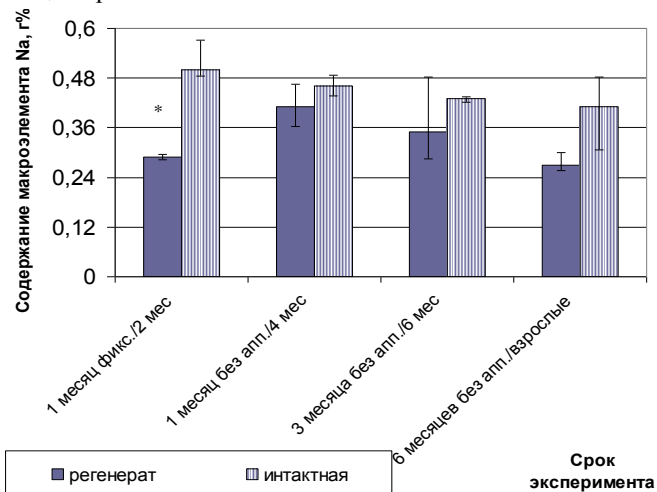


Рис. 8. Изменение содержания натрия в процессе регенерации и онтогенеза

Динамика изменения содержания калия в процессе регенерации при меньшей количественной выраженности в целом повторяет таковую в онтогенезе. Как и в раннем возрасте у интактных животных, в регенерате от стадии 1 месяца фиксации происходит накопление калия, хотя и находится в количестве, достоверно меньшем,

до периода выраженных старческих изменений, в которую входили:

- I.1. Новорождённые щенки – 7 животных.
- I.2. Щенки в возрасте 2 месяца – 6 животных.
- I.3. Щенки в возрасте 4 месяца – 6 животных.
- I.4. Щенки в возрасте 6 месяцев – 6 животных.
- I.5. Взрослые половозрелые собаки – 6 животных.
- I.6. Собаки в периоде выраженных старческих изменений – 6 животных.

В первой серии изучали неорганический макро- и микроэлементарный состав диафиза большеберцовой кости (правой и левой конечности) интактных животных.

С целью изучения в условиях удлинения конечности по методу чрескостно-дистракционного остеосинтеза динамики накопления биогенных макро- и микроэлементов в костных отломках и регенерате, а также определения взаимосвязи накопления биогенных макро- и микроэлементов костной ткани была подготовлена и исследована II серия экспериментального материала, включающая в себя взрослых животных, у которых проводили закрытую флекссионную остеоклазию большеберцовой кости с наложением аппарата Илизарова на правую голень со следующими сроками эксперимента:

- II.1. Прооперированные животные со сроком дистракции 14 дней – 7 животных
- II.2. Прооперированные животные со сроком дистракции 28 дней – 7 животных
- II.3. Прооперированные животные со сроком дистракции 28 дней, фиксации 15 дней – 7 животных
- II.4. Прооперированные животные со сроком дистракции 28 дней, фиксации 30 дней – 7 животных
- II.5. Прооперированные животные со сроком дистракции 28 дней, фиксации 30 дней, без аппарата 1 месяц – 6 животных
- II.6. Прооперированные животные со сроком дистракции 28 дней, фиксации 30 дней, без аппарата 3 месяца – 6 животных
- II.7. Прооперированные животные со сроком дистракции 28 дней, фиксации 30 дней, без аппарата 6 месяцев – 7 животных.

Удлинение голени осуществляли с темпом дистракции 1 мм в сутки, ритм дистракции 0,25 мм за 4 приёма. По окончании эксперимента у животных каждого срока II серии для исследования были взяты дистракционные регенераты и интактный участок контрлатеральной конечности, симметричный сегменту взятия проб ткани из оперированной конечности

Подготовленную ткань помещали во взвешенные заранее пенициллиновые флаконы и взвешивали на электронных весах Balance 6110 (U.K.), предел чувствительности составил 0,0001 г. После этого навески сырой компактной кости замораживали при -70°C и высушивали на лиофильной сушке НЕТО Liolab 3000 (Германия) в течение суток. Высушенные пробы костной ткани обезжиривали смесью этанол : эфир (1 : 1) в объеме 4-8 мл смеси на одну пробу.

Костную ткань измельчали до размеров частиц около 5мм. На аналитических весах Sartorius Tecator (Германия) отмеряли навеску $1,0000 \pm 0,1000$ г, помещали в колбу Кьельдаля ёмкостью 50мл и проводили влажное озоление раствором уксусно-го ангидрида в 57%-ной хлорной кислоте при температуре $\approx 300^{\circ}\text{C}$. Далее проводили

спектрофотометрическое определение микро и макроэлементов. [Десятниченко К.С., 1992]

Параллельно взвешенный препарат кости помещали в выпарительную чашку и проводили первичный отжиг на электроплитке в течение 4х часов. Затем препараты переносили в фарфоровые тигли и озоляли в муфельной печи при температуре от 700 до 800°C до исчезновения дыма. Озоленный минерал в таком виде переводили в раствор.

Определение ионов Mg^{2+} в озолотах костной ткани осуществлялось посредством использования набора реагентов «VITAL DIAGNOSTICS Spb» для определения концентрации магния колориметрическим методом без депротенизации «MAGNESIUM “E-FL”». Концентрацию элемента определяли на приборе «Stat Fax – 1904 Plus» (США).

Определение ионов Ca^{2+} в озолотах костной ткани осуществлялось посредством использования набора реагентов «VITAL DIAGNOSTICS Spb» «CALCIUM FL-E». Концентрацию элемента определяли на приборе «Stat Fax – 1904 Plus» (США).

Определение содержания, железа, марганца, меди, кадмия, никеля проводилось методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии спектрофотометрии [Хавезов И., Цалев Д., 1983; Ермаченко Л. А., 1997] с пламенной атомизацией на атомно-абсорбционном спектрофотометре «КВАНТ-2А» (Россия) с системой коррекции фона на основе дейтериевой лампы с полым катодом в одноламповом варианте исполнения с ручной установкой длины волны. Для детектирования устанавливались следующие длины волн: железо – 248,3 нм, марганец – 279,5 нм, медь – 324,8 нм, кадмий – 228,8 нм, никель – 232,0 нм. Концентрирование проб не проводилось ввиду высокого предела обнаружения данных ионов – 0,1 мкг/л.

Определение содержания натрия и калия осуществлялось методом атомно-эмиссионной с пламенной атомизацией на атомно-абсорбционном спектрометре «КВАНТ-2А» (Россия) при длинах волн для натрия – 589,0 нм, калия – 766,5 нм.

Результаты исследований обработаны методом вариационной статистики, применяемым для малых выборок с принятием вероятности (P), равной 0,05. Результаты представлены медианами, 25-ой и 75-ой перцентилями в пересчёте на сухую обезжиренную ткань. Достоверность различий между группами проверяли с помощью непараметрического W-критерия Вилкоксона для независимых выборок. Для исследования корреляционных связей применяли непараметрический критерий Спирмена. Оценивали статистическую значимость отличий между содержанием определённого элемента в различных возрастах, отличий между содержанием того или иного элемента в костной ткани интактных животных и регенерата соответствующего возраста, а также находили корреляцию между изменением содержания элементов, имеющих связанные метаболические пути, в онтогенезе и в эксперименте

При статистической обработке результатов исследования был использован интеграторный модуль Atte Stat 1.0 для программы Microsoft Excel, разработанный в лаборатории информационно-вычислительного центра РНЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова И.П. Гайдшевым.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

При исследовании накопления макроэлементов в онтогенезе было обнаружены следующие закономерности: наиболее интенсивное депонирование макроэлементов происходит в раннем возрасте, а именно в первые 2 месяца жизни (см. табл.1).

Был проведён сравнительный анализ динамики изменения минерального катионного состава неорганического матрикса кости в онтогенезе и в условиях удлинения.

Согласно результатам анализов очевидно, что значительных колебаний содержания кальция в 2-х месячной костной ткани как в онтогенезе, так и в условиях регенерации не происходит. Вероятно, данное явление обусловлено тем, что к данному возрасту неорганический матрикс кости уже достаточно кальцифицирован. Так, последние три точки сравнения не имели статистически значимых различий в показателях концентрации кальция (рис. 6).

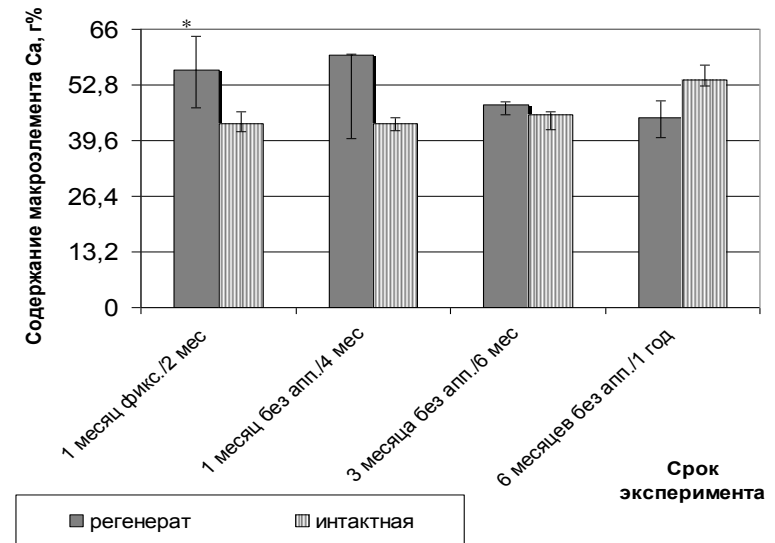


Рис. 6. Изменение содержания кальция в процессе регенерации и онтогенеза

На всех стадиях эксперимента состав регенерата по содержанию магния статистически значимо отличался от растущей интактной кости. Концентрация магния как в 2-х месячном регенерате, так и в 3-х месячном была примерно в 2 раза ниже, чем на соответствующих стадиях онтогенеза. Однако, следует отметить явную общность тенденций к снижению содержания магния у животных обеих серий (рис. 7). При этом в регенерате этот процесс был менее выраженным. По окончании эксперимента содержание магния в регенерате и в интактной конечности находилось на одном уровне.

Таблица 2. Продолжение.

Срок эксперимента, сегмент костной ткани	Динамика накопления макро- и микроэлементов в костях собак в условиях удлинения конечности.									
	Содержание макро- и микроэлементов									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1 месяц фиксации, 1 месяц фиксации, 1 месяц после снятия аппарата										
Кальций, г%	Магний, г%	Натрий, г%	Калий, мг%	Железо, мг%	Медь, мг%	Никель, мг%	Кадмий, мкг%	Марганец, мг%		
дистракционный регенерат	59,89; 6	3,94; 6	0,41; 6	1,881; 6	0,183; 6	0,717; 6	0,092; 6	1,285; 6	0,006; 6	
костные отломки	39,98-59,99	2,84-4,2	0,35-0,55	1,658-1,894	0,151-0,244	0,623-0,965	0,066-0,123	1,201-1,588	0,004-0,007	
контрлатеральная конечность	51,64; 6	3,87; 6	1,54 *; 6	2,542; 6	0,216; 6	1,493; 6	0,181; 6	3,689; 6	0,022 *; 6	
	37,54-52,62	3,35-4,85	1,13-1,72	2,048-2,977	0,121-0,411	1,162-1,99	0,122-0,198	2,153-8,569	0,016-0,028	
	59,03; 6	3,63; 6	2,64 *; 6	2,843 *; 6	0,0009 *; 6	2,506 *; 6	0,155; 6	5,669 *; 6	0,030; 6	
	56,11-59,32	3,37-4,16	2,42-2,78	2,603-2,977	0,0009-0,001	2,373-3,183	0,149-0,221	4,644-6,620	0,017-0,050	
1 месяц фиксации, 3 месяца после снятия аппарата										
дистракционный регенерат	48,1; 6	2,93; 6	0,35; 6	0,900; 6	0,100; 6	0,500; 6	0,120; 6	3,966; 6	0,029; 6	
костные отломки	45,75-48,73	2,47-3,31	0,34-0,38	0,864-0,976	0,096-0,108	0,480-0,542	0,115-0,13	3,641-4,318	0,028-0,032	
контрлатеральная конечность	52,38; 6	3,4; 6	0,92; 6	1,400; 6	0,150; 6	0,100 *; 6	0,200 *; 6	1,851 *; 6	0,022; 6	
	49,7-52,99	3,01-3,59	0,88-1,00	1,344-1,519	0,144-0,163	0,096-0,108	0,192-0,217	1,757-1,939	0,021-0,024	
	61,07; 6	3,04; 6	1,42; 6	1,599; 6	0,020 *; 6	0,180 *; 6	0,109; 6	4,611; 6	0,024; 6	
	58,13-61,81	2,97-3,18	1,36-1,54	1,536-1,735	0,019-0,022	0,173-0,195	0,105-0,119	4,533-5,213	0,024-0,027	
1 месяц фиксации, 6 месяцев после снятия аппарата										
дистракционный регенерат	45,10; 7	2,47; 7	0,27; 7	0,398; 7	0,024; 7	0,359; 7	0,038; 7	6,192; 7	0,020; 7	
костные отломки	40,32-49,04	2,46-2,5	0,24-0,3	0,294-0,477	0,018-0,037	0,167-0,724	0,03-0,051	6,127-8,771	0,017-0,022	
контрлатеральная конечность	57,61 *; 7	2,99; 7	0,32; 7	0,379; 7	0,026; 7	0,432 *; 7	0,060 *; 7	7,758; 7	0,023; 7	
	56,46-58,12	2,83-3,04	0,28-0,33	0,283-0,423	0,023-0,029	0,331-0,662	0,052-0,064	7,101-8,084	0,021-0,024	
	48,25; 7	2,84; 7	0,33; 7	0,331; 7	0,021; 7	0,265; 7	0,045; 7	7,994 *; 7	0,022; 7	
	37,64-57,96	2,6-3,06	0,31-0,35	0,274-0,364	0,017-0,024	0,235-0,399	0,038-0,058	7,401-9,115	0,021-0,025	

Примечание: в таблице приведены значения медиан для выборок, размер выборки, 25-й и 75-й процентиля. * - показан уровень значимости отличий регенерата от костных отломков или контроллатеральной конечности $p < 0,05$.

Таблица 1

Динамика накопления макро- и микроэлементов в большеберцовых костях собак в онтогенезе.

Возраст	Содержание элементов									
	Кальций, г%	Магний, г%	Натрий, г%	Калий, мг%	Железо, мг%	Медь, мг%	Никель, мг%	Кадмий, мкг%	Марганец, мг%	
Новорождённые животные	2,85 *; 7	2,05; 7	0,03 *; 7	0,003 *; 7	0,033; 7	0,283 *; 7	0,025 *; 7	1,167 *; 7	0,002 *; 7	
	2,64-6,15	1,39-2,67	0,03-0,05	0,003-0,014	0,019-0,047	0,235-0,49	0,016-0,042	0,944-1,849	0,001-0,007	
2 месяца	43,59 * Δ; 7	8,83 * Δ; 7	0,50 Δ; 7	2,134 * Δ; 7	0,127 * Δ; 7	0,192 *; 7	0,077 Δ; 7	0,666 * Δ; 7	0,069 * Δ; 7	
	41,82-46,42	7,36-11,77	0,48-0,57	1,949-2,978	0,085-0,206	0,138-0,236	0,057-0,098	0,568-1,068	0,064-0,07	
4 месяца	43,58; 6	6,19 * Δ; 6	0,46; 6	2,525 *; 6	0,098 *; 6	0,162 * Δ; 6	0,075; 6	0,688 *; 6	0,062 * Δ; 6	
	41,86-45,11	5,9-7,06	0,44-0,49	2,379-2,7	0,087-0,112	0,119-0,202	0,057-0,089	0,599-0,922	0,060-0,063	
6 месяцев	45,64 *; 6	4,11 Δ; 6	0,43; 6	0,666 * Δ; 6	0,093 *; 6	0,428 * Δ; 6	0,063 *; 6	1,346 * Δ; 6	0,067 *; 6	
	42,26-46,39	3,65-4,63	0,42-0,44	0,59-0,692	0,078-0,127	0,387-0,446	0,056-0,068	1,097-1,616	0,060-0,079	
Половозрелые животные	55,64 Δ; 6	1,67; 6	0,41; 6	0,115 Δ; 6	0,016 Δ; 6	1,109; 6	0,088 Δ; 6	6,552 Δ; 6	0,026 Δ; 6	
	54,21-59,17	1,48-1,87	0,31-0,49	0,081-0,145	0,015-0,020	0,999-1,254	0,079-0,116	5,979-6,584	0,023-0,028	
Период выраженных старческих изменений	39,68; 6	3,46 *; 6	0,28; 6	0,103; 6	0,022; 6	0,618; 6	0,059 * Δ; 6	6,107; 6	0,023; 6	
	37,59-45,73	3,4-5,28	0,25-0,32	0,086-0,195	0,017-0,027	0,608-1,257	0,030-0,062	6,074-26,587	0,021-0,024	

Примечание: в таблице приведены значения медиан для выборок, размер выборки, 25-й и 75-й процентиля, здесь и далее в таблицах и рисунках знаком * показан уровень значимости отличий данной возрастной группы от половозрелых $p < 0,05$, Δ - показан уровень значимости отличий данной возрастной группы от предыдущей $P < 0,05$.

Накопление кальция продолжалось до максимума 55,64 г% в половозрелом возрасте. Максимальное содержание магния и натрия зафиксировано в возрасте 2 месяца, после чего содержание натрия с возрастом имело тенденцию к снижению, в отношении магния отмечено явление статистически достоверного снижения до минимума 1,67 мг% у взрослых животных. Концентрация калия достигала максимума в 4 месяца, после чего на каждом следующем сроке достоверно снижалась.

Изучение изменения содержания микроэлементов также позволило обнаружить ряд общих закономерностей. Так, наибольший рост концентрации в первые 2 месяца жизни отмечен для марганца – в 35 раз, железа – в 4 раза, никеля – в 3 раза. Концентрация меди в костях щенков снижалась до минимума 0,162 мг% в возрасте 4 месяца, а затем имела максимальное значение у половозрелых – 1,109 мг%. Схожая динамика изменения присутствовала и для кадмия: минимум 0,666 мкг% у 2-х месячных щенков и максимум 6,552 мкг% у половозрелых животных. Наиболее высокое содержание железа и марганца зафиксировано в костях 2-х месячных щенков – 0,127 мг% и 0,069 мг% соответственно, наименьшее количество железа – у половозрелых животных – 0,016 мг%, концентрация марганца была минимальна у животных в возрасте выраженных старческих изменений – 0,023 мг%. Содержание никеля возрастало от минимума 0,025 мг% у новорождённых животных до 0,088 мг% у половозрелых (табл. 1).

Изучение скоростей изменения содержания макроэлементов с возрастом, т.н. количественных градиентов, выявило следующие закономерности: обнаружено, что между накоплением кальция и магния существуют антагонистические взаимоотношения, которые были наиболее выражены у взрослых животных (рис.1). В свою очередь, скорость изменения содержания натрия и кальция с возрастом была синхронной (рис. 2).

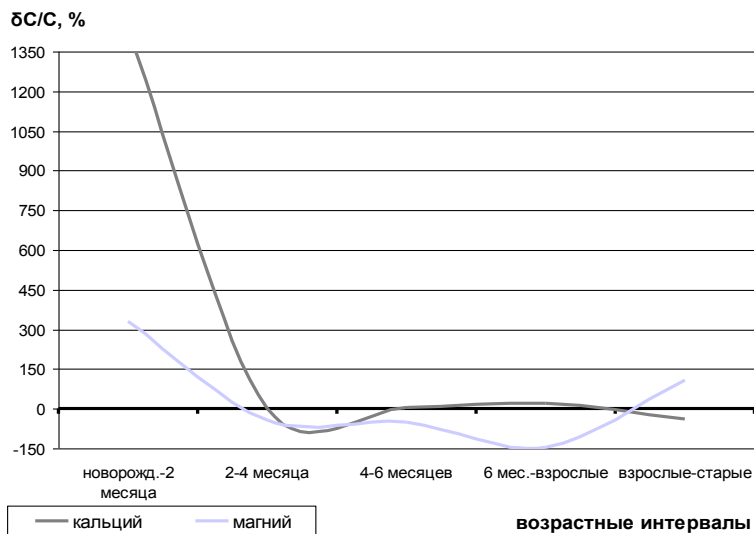


Таблица 2.

Динамика накопления макро- и микроэлементов в костях собак в условиях удлинения конечности.

Срок эксперимента, сегмент костной ткани	Содержание макро- и микроэлементов									
	Кальций, г%	Магний, г%	Натрий, г%	Калий, мг%	Железо, мг%	Медь, мг%	Никель, мг%	Кадмий, мкг%	Марганец, мг%	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
14 дней дистракции										
дистракционный регенерат	21,88; 7	5,41; 7	0,22; 7	0,611; 7	0,293; 7	1,277; 7	0,012; 7	11,252; 7	0,024; 7	
костные отломки	20,19±23,18	5,32±5,51	0,2±0,28	0,562±0,953	0,267±0,296	1,133±1,392	0,009±0,029	10,619±11,932	0,02±0,027	
контралатеральная конечность	53,35; 7 *	3,32; 7	0,34; 7	0,516; 7	0,029 *; 7	0,163 *; 7	0,021; 7	10,771; 7	0,016 *; 7	
дистракционный регенерат	51,94±53,81	2,98±3,61	0,33±0,34	0,343±0,726	0,025±0,032	0,101±0,265	0,016±0,03	9,667±21,525	0,012±0,019	
костные отломки	49,53; 7 *	2,93; 7	0,31; 7	0,356; 7 *	0,006 *; 7	0,367 *; 7	0,044 *; 7	7,108; 7	0,016 *; 7	
контралатеральная конечность	48,17±51,44	2,83±3,07	0,27±0,36	0,283±0,42	0,006±0,007	0,211±0,634	0,037±0,049	7,909±13,276	0,01±0,023	
1 месяц дистракции										
дистракционный регенерат	26,93; 7	4,98; 7	0,22; 7	0,60; 7	0,72; 7	1,67; 7	0,02; 7	12,556; 7	0,01; 7	
костные отломки	25,33±28,5	4,82±5,17	0,21±0,27	0,59±0,716	0,677±0,764	1,517±1,783	0,014±0,018	11,61±14,457	0,014±0,015	
контралатеральная конечность	52,46; 7 *	6,86; 7	0,40; 7 *	0,55; 7	0,05 *; 7	0,404 *; 7	0,027; 7	7,278 *; 7	0,014; 7	
дистракционный регенерат	50,51±52,95	6,23±7,16	0,38±0,41	0,498±0,601	0,042±0,054	0,216±0,654	0,024±0,033	7,024±7,504	0,011±0,018	
костные отломки	54,17; 7 *	3,7; 7	0,53; 7 *	0,552; 7	0,006 *; 7	1,01 *; 7	0,052 *; 7	11,14; 7	0,016 *; 7	
контралатеральная конечность	47,27±59,63	3,63±3,76	0,47±0,61	0,472±0,655	0,005±0,007	0,763±1,189	0,045±0,057	9,637±16,707	0,013±0,019	
1 месяц дистракции, 15 дней фиксации										
дистракционный регенерат	34,59; 7	4,77; 7	0,24; 7	0,759; 7	0,601; 7	2,014; 7	0,022; 7	12,755; 7	0,017; 7	
костные отломки	33,62±35,72	4,72±4,82	0,23±0,25	0,675±0,892	0,572±0,61	1,926±2,226	0,021±0,023	10,094±16,225	0,016±0,017	
контралатеральная конечность	48,48; 7	6,92; 7	0,50; 7 *	0,703; 7	0,076 *; 7	1,795; 7	0,037; 7	12,961; 7	0,015; 7	
дистракционный регенерат	47,91±48,92	6,65±7,14	0,5±0,51	0,576±0,815	0,069±0,082	1,448±2,129	0,032±0,04	12,669±13,236	0,014±0,015	
костные отломки	57,6; 7 *	4,00; 7	0,95; 7 *	0,765; 7	0,007 *; 7	2,256; 7	0,064 *; 7	11,462; 7	0,019; 7	
контралатеральная конечность	56,6±58,62	3,91±4,09	0,84±1,03	0,517±1,224	0,005±0,008	2,086±2,457	0,057±0,071	10,675±13,031	0,018±0,02	
1 месяц дистракции, окончание фиксации										
дистракционный регенерат	56,29; 7	4,54; 7	0,29; 7	0,885; 7	0,352; 7	2,616; 7	0,027; 7	16,838; 7	0,016; 7	
костные отломки	47,37±64,27	3,93±4,83	0,25±0,35	0,349±1,524	0,307±0,42	1,49±3,695	0,01±0,046	12,060±20,255	0,01±0,026	
контралатеральная конечность	44,79; 7	7,29 *; 7	0,62; 7	0,885; 7	0,095 *; 7	2,299; 7	0,049; 7	14,557 *; 7	0,017; 7	
дистракционный регенерат	32,29±30,08	6,46±7,96	0,35±0,88	0,349±1,524	0,017±0,206	1,714±2,977	0,001±0,146	3,57±19,456	0,014±0,022	
костные отломки	63,96; 7	4,43; 7	1,23; 7	1,132; 7	0,0008 *; 7	2,679; 7	0,088; 7	11,803; 7	0,025; 7	
контралатеральная конечность	50,97±66,85	3,27±6,06	0,37±2,16	0,156±2,14	0,0007±0,0009	1,881±3,574	0,001±0,217	3,281±21,614	0,019±0,033	

Примечание: в таблице приведены значения медиан для выборок, размер выборки, 25-й и 75-й процентиля. * - показан уровень значимости отличий регенерата от костных отломков или контралатеральной конечности $p < 0,05$.

отмечены аналогичные тенденции. Выведение меди из зоны регенерации от срока 1 месяц фиксации до 6 месяцев после снятия аппарата было более интенсивно, чем в костных отломках и контрлатеральной конечности.

Концентрация никеля в процессе эксперимента увеличивалась синхронно в оперированной и контрлатеральной конечности до наибольшего значения на сроке 1-3 месяца после снятия аппарата. В оперированной конечности динамика накопления была менее выраженной.

В отношении кадмия во всех изученных сегментах оперированной и контрлатеральной конечности отмечено значительное снижение содержания по достижении срока эксперимента 1 месяц фиксации, после чего вторичное явление накопления как в регенерате, так и в контрлатеральной конечности.

Концентрация марганца в регенерате в течение эксперимента изменялась волнообразно. Так, отмечено максимумы содержания марганца в регенерате на сроках: 14 дней distraction – 0,024 мг%, 15 дней фиксации – 0,017 мг% и 3 месяца без аппарата – 0,029 мг%. В костных отломках происходило накопление марганца до максимума 0,023 мг% на стадии окончания эксперимента. В контрлатеральной конечности количество марганца на начальных стадиях эксперимента изменялось незначительно; обнаружено повышение содержания марганца на сроке 1 месяц после снятия аппарата. К стадии окончания эксперимента содержания марганца в изученных сегментах оперированной и в контрлатеральной конечности приходило к уровню 0,02 мг%.

Рис. 1. Количественный градиент кальция и магния в большеберцовых костях собак в онтогенезе

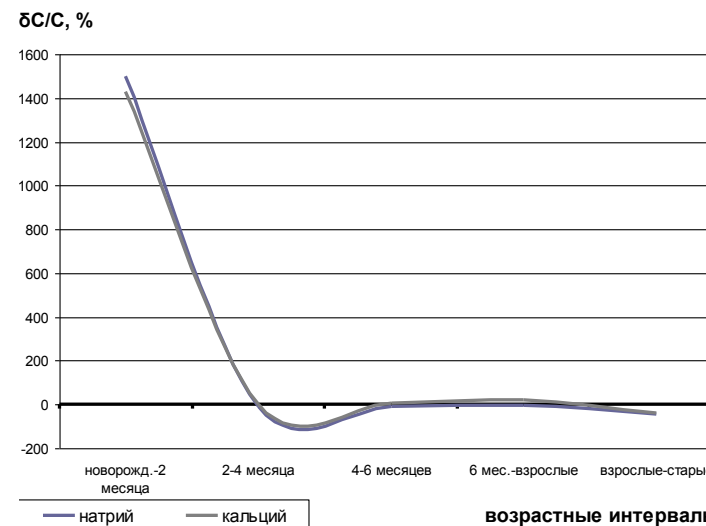


Рис. 2. Количественный градиент кальция и натрия в большеберцовых костях собак в онтогенезе

При исследовании взаимосвязи накопления между микроэлементами было обнаружено существование как антагонистических закономерностей, так и явление синергизма (рис. 3).

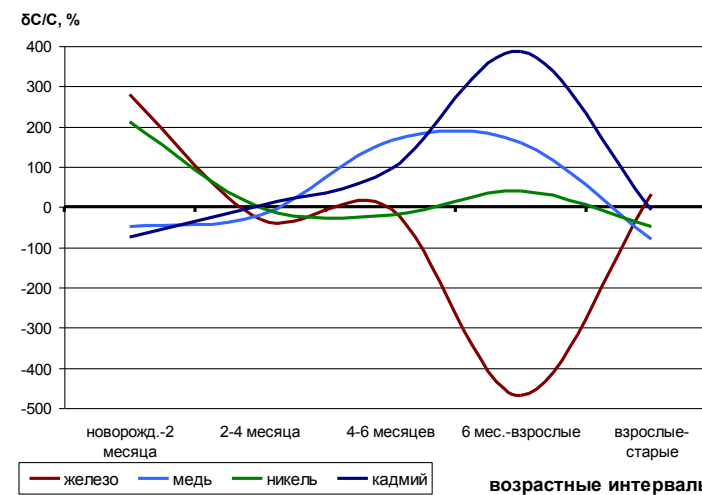


Рис. 3. Количественный градиент железа, никеля, меди и кадмия в большеберцовых костях собак в онтогенезе

На ранних возрастах отмечено с большой скоростью параллельное накопление железа и никеля, и вплоть до половозрелого возраста скорость накопления этих

элементов синхронна, лишь в поздних возрастах обнаруживалось различие в динамике изменения содержания элементов. Тенденция синергического характера накопления никеля и меди прослеживалась в интервале от шести месяцев до половозрелого возраста, и в некоторой степени в периоде выраженных старческих изменений. Замечена обратная динамика во взаимосвязи изменения содержания меди и железа.

Обнаружена синхронная динамика накопления между марганцем и магнием в возрастном интервале от 2-х животных к половозрелым (рис. 4).

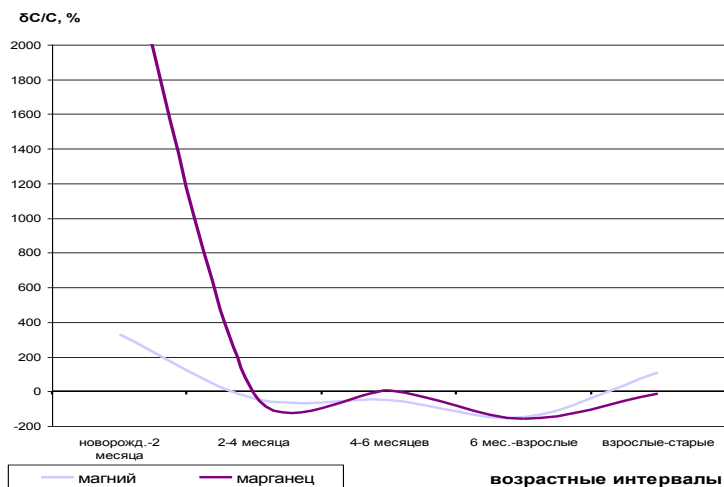


Рис. 4. Количественный градиент магния и марганца в большеберцовых костях собак в онтогенезе

В раннем возрасте количество кальция и железа возрастало с высокой скоростью, особенно это касалось кальция. В возрасте от 2-х до 6-и месяцев существенного изменения количества железа и кальция не происходило, в половозрелом возрасте отмечен выраженный антагонизм во взаимосвязи изменения содержания, когда наблюдался максимум концентрации кальция в костной ткани, количественный градиент накопления железа приобретал отрицательные значения (рис. 5).

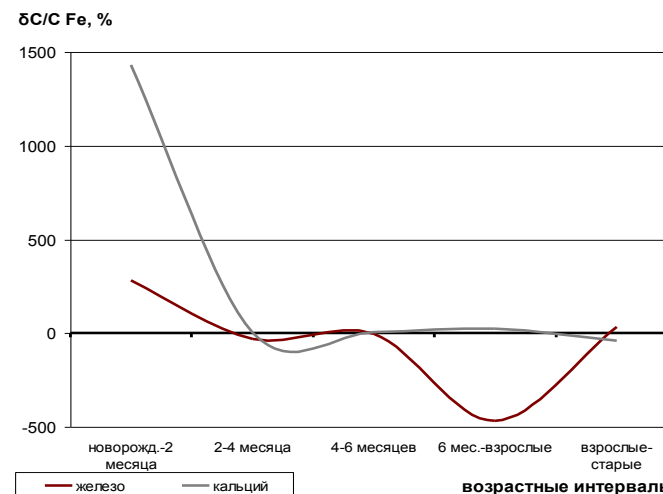


Рис. 5. Количественный градиент кальция и железа в большеберцовых костях собак в онтогенезе

С целью изучения в условиях удлинения конечности по методу чрескостно-дистракционного остеосинтеза динамики накопления биогенных макро- и микроэлементов в костных отломках и регенерате была исследована вторая серия экспериментального материала.

В условиях созревания регенерата при удлинении конечности колебания концентрации ионов макроэлементов происходило по следующим схемам. Изменение содержания кальция в процессе созревания регенерата происходило с возрастанием от начала эксперимента до максимума на сроке 1 месяц после снятия аппарата, составляя 59,89 г%. В костных отломках наблюдался обратный процесс: снижение содержания до срока 1 месяц фиксации. В контрлатеральной конечности существенного изменения концентрации кальция не обнаружено. Максимальное количество магния зафиксировано в регенерате на стадии 14 дней дистракции, после чего из зоны регенерации магний выводился. В костных отломках и в контрлатеральной конечности максимум содержания магния наблюдали на сроке 1 месяц фиксации, затем снижение до уровня в регенерате.

Исследования показали, что натрий и калий в процессе заживления перелома проявляли схожую тенденцию в изменении содержания: достижение максимума во всех изученных сегментах на сроке 1 месяц после снятия аппарата и снижение концентрации к окончанию эксперимента.

Накопление микроэлементов носило динамически разнообразный характер, однако в ряде моментов можно выделить общие тенденции.

Максимум концентрации железа в регенерате отмечен на сроке 1 месяц дистракции – 0,72 мг%, затем в процессе созревания содержание элемента снижалось до минимума 0,025 мг% на стадии 6 месяцев после снятия аппарата. В костных отломках до стадии 1 месяц после снятия аппарата происходил обратный процесс - накопление железа до 0,216 мг%. В контрлатеральной конечности содержание железа не подвергалось существенным изменениям.

Для меди характерно накопление в регенерате от начала эксперимента до максимума 2,161 мг% на стадии 1 месяц фиксации. В остальных исследованных участках