

$${}^{(19)}\text{UA} \quad {}^{(11)}\text{16622} \quad {}^{(13)}\text{U}$$

Для демінералізації кісткового матрикса у щурів брали циліндр з кортикальної частини діяфіза, частково подрібнювали і занурювали у посудину з магнітною мішалкою. Кістки оброблювали послідовно 2 год в дистильованій воді, по 1 год в 70%, 96%, 100% розчинах етанолу і 30 хвилин в дистильованому ефірі. Висушували в ламінарному потоці повітря і занурювали в рідкий азот на 12 годин.

Кістки подрібнювали до розмірів фрагментів 300-450 мікрон. Отриманий порошок демінералізували протягом 12 годин в 0,6М соляної кислоти, відмивали кислоту в дистильованій воді, дегідрували в етанолі і діетиловому ефірі. Всі процедури здійснювали при 4°C. Отриманий демінералізований кістковий матрикс зберігали при 4°C.

Клітини кісткового мозку отримували з стегнових кісток щурів. Отриманий кістковий мозок змішували з фосфатно-сольовим буфером pH7,4, ресуспендували, двічі відмивали у буфері. Кількість клітин підраховували у камері Горяєва за допомогою мікроскопа Біолам Р-II (об'єктив 8х10 окуляр) і доводили клітинну суспензію до концентрації  $3 \times 10^8$ /мл.

Для отримання суспензії клітин плазми крові у тварин під наркозом тіопенталу натрію забирали кров з правого передсердя в пластиковий шприц і стабілізували 3,8% розчином цитрату натрію у співвідношенні 1:10. Кількість клітин підраховували в камері Горяєва за допомогою мікроскопа Біолам Р-II і доводили клітинну суспензію до концентрації  $3 \times 10^8$ /мл.

Клітини кісткового мозку і суспензію плазми крові готували в день експерименту.

Донорські фібробласти отримували методом трипсинізації шкіри щурів-донорів. Для цього у щурів в асептичних умовах брали шматочок шкіри, обробляли 96% спиртом і поміщали в поживне середовище. В стерильних умовах шкіру розрізали на шматочки 3х3мм, промивали фосфатно-сольовим розчином, переносили в посудину з магнітною мішалкою і ставили на 10хв. на трипсинізацію. Розчин трипсину з розміщеними в ньому клітинами зливали крізь стерильну лійку з двома шарами марлі в стерильну колбу і ставили в холодильник для зупинки трипсинізації. Для шматочків шкіри, що залишились, в посудину наливали нову порцію трипсину для подальшої трипсинізації. Цей процес повторювали кілька разів до повного виснаження тканин.

Отримані суспензії центрифугували, осад ресуспендували в живильному середовищі, підраховували кількість клітин у камері Горяєва і доводили клітинну суспензію до кінцевої концентрації 250-500тис. клітин. По 1мл суспензії розливали у флакони, розміщали їх у термостаті при 37°C. Че-

рез 2 дні моношар фібробластів відокремлювали від скла за допомогою розчину версену, відмивали у фосфатно-сольовому буфері, розводили в поживному середовищі до концентрації  $3 \times 10^8$ /мл.

Для дослідження реконструкції кістки і гемопоетичного мікрооточення був застосований синтетичний остеопластичний препарат «Коллапан».

В експерименті використовували комбіновані трансплантати, які готували перед використанням:

а) 20мкл суспензії клітин кісткового мозку в концентрації  $3 \times 10^8$ /мл змішували з 4мг демінералізованого кісткового матрикса;

б) 20мкл суспензії клітин кісткового мозку ( $3 \times 10^8$ /мл) змішували з 4мг гранул коллапана;

в) 20мкл суспензії клітин плазми крові ( $3 \times 10^8$ /мл) змішували з 4мг гранул коллапана;

г) 20мкл суспензії фібробластів ( $3 \times 10^8$ /мл) змішували з 4мг гранул коллапана.

Тварини були розділені на 7 груп. Щурам у всіх групах, крім контрольної, наносили дозований дефект діаметром 3мм і глибиною 3мм в ділянці тіла нижньої щелепи справа і альвеолярного відростка за допомогою фісурного бора під інгаляційним ефірним наркозом: 2-й групі наносили дозований дефект, 3-й групі - дефект заповнювали комбінованим трансплантатом з 20мкл суспензії клітин кісткового мозку і 4мг демінералізованого кісткового матрикса; 4-й групі тварин дефект заповнювали 20мкл суспензії клітин кісткового мозку і 4мг гранул коллапана; 5-й групі - 20мкл суспензії клітин плазми крові і 4мг гранул коллапана; 6-й групі дефект заповнювали гранулами коллапана; 7-й групі - 20мкл суспензії фібробластів і 4мг гранул коллапана.

Дефект після заповнення трансплантатом покривали фібриновим клеєм.

Для гістологічного дослідження у тварин забирали нижні щелепи. Фіксацію матеріалу здійснювали 10% розчином нейтрального формаліну, щелепи декальцінували в 10% розчині ЕДТА, знежирювали етанолом і заливали парафіном, після чого готували зрізи.

Як показали наші дослідження, найбільш виражений ефект спостерігали при заміщенні дефекту демінералізованим кістковим матриксом з суспензією клітин кісткового мозку.

Заміна демінералізованого кісткового матрикса коллапаном зменшила активність регенераторних процесів, однак ця активність була суттєвою. При заміні клітин кісткового мозку клітинами периферійної крові ще більше знизило активність процесів регенерації, однак результативність їх була достатньо високою, перевищуючи комбінацію коллапана з суспензією фібробластів.