

КИЇВСЬКИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

Сторожук Василь Анатолійович

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГІЧНІ
ДОСЛІДЖЕННЯ СУГЛОВОВОГО ХРЯЩА ГОМІЛКИ
ДЕЯКИХ ССАВЦІВ**

03.00.11 - ембріологія, гістологія і цитологія

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ -1996

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі анатомії і гістології Білоцерківського державного аграрного університету.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
НОВАК Віталій Петрович

Офіційні опоненти: 1. Доктор біологічних наук, професор
РОДІОНОВА Наталія Василівна
2. Доктор медичних наук, професор
БРУСКО Антон Тимофійович

Провідна організація: Харківський НДІ ортопедії та
травматології ім. М.І.Ситенка

Захист дисертації відбудеться "18" червня 1996 року о 10 годині на засіданні спеціалізованої Вченої ради Д.01.01.13 при Київському університеті імені Тараса Шевченка за адресою: пр. Глушкова, 2. НДІ фізіології Київського університету імені Тараса Шевченка.

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Київського університету імені Тараса Шевченка

Автореферат розісланий "15" червня 1996 року.

ЛННБ України ім.В.Стефаніка



00753580 (S)



Вчений секретар
спеціалізованої Вченої ради
доктор біологічних наук, професор


Лященко П.С.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сучасні вимоги ортопедії, хірургії і травматології висувають нові завдання перед фундаментальними та прикладними дослідженнями морфоадаптивних властивостей і стану хрящових компонентів опорно-рухового апарату при диференціальній діагностиці та виборі ефективних засобів лікування. Останнім часом досягнення в галузі морфологічних, біохімічних і біомеханічних досліджень хряща дозволили зробити значний крок вперед при розшифровці особливостей структури і функції хрящового матриксу, синтетичних потенцій хондроцитів, закономірностей гістогенезу хряща і його взаємодії з кістковою тканиною (В.М.Павлова, 1980; Л.І.Слуцький, 1985; Б.В. Криштофорова, 1984; І.В.Хрустальова, Б.В.Криштофорова, 1987; Н.В.Родіонова, 1987, 1989; В.М.Павлова і співавт., 1988; Н.П. Омельяненко, 1989, 1990; С.В. Гюльназарова, 1991; Н.В. Дедух, 1992, 1995; П.М. Мажуга, і співавт., 1993; А.Я.Житніков, 1980,1995). Є адекватні оцінки біологічних потенцій хряща, включаючи його унікальні біомеханічні можливості, а також розробляються питання реактивних і репаративних властивостей хрящової тканини при дистрофічних враженнях і запаленнях (М.М.Павлова, В.А.Дуляпін, 1976; Т.Н.Коп'єва і співавт., 1983, 1985; М.Г. Остапенко і співавт., 1984; Г.І. Лаврищева і співавт., 1981, 1985, 1987; Б.А.Нікітук, В.В.Сімаков, 1985; Л.Р.Гонгадзе, 1986; Н.А.Слесаренко, 1985, 1986, 1993; Л.Н.Михайлова і співавт., 1987; В.П.Новак, 1988, 1989, 1990; В.В.Пляцко і співавт., 1990; О.А.Ушакова, 1990, 1991).

Великий інтерес до вивчення хрящових структур свідчить про те, що хондрологія стає самостійним розділом у вченні про опорно-руховий апарат. Проте частина дослідників інших систем організму вважають хрящову тканину інертною, брэдїтрофною, яка не визначає функціонального стану організму. Ось чому вивчення морфоадаптивних властивостей хряща, його реактивних, репаративних і біологічних потенцій на різних об'єктах із широкою постановкою експерименту є необхідною умовою для виявлення загальнобіологічних закономірностей органоспецифічної перебудови хрящової тканини у різних представників хребетних. Оскільки суглобовий хрящ разом із субхондральною кістковою тканиною, синовією і синовіальною оболонкою забезпечує гомеостаз суглобу, то він знаходиться в прямій залежності від морфофункціонального стану всього синовіального середовища. Хрящ приймає на себе

найбільше механічне навантаження в локомоторному циклі, а тому морфологічні дослідження цієї системи на різних об'єктах є необхідними при розшифровці морфоадаптивних властивостей синовіального середовища в процесі філогенезу.

Отже, хондрологія, зокрема суглобова, має ще ряд дискусійних питань і "білих плям". Для внесення свого вкладу у в'яснення істини в цій проблемі ми поставили перед собою таку мету і конкретні завдання:

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було вивчення закономірностей структурної організації, морфофункціональних особливостей і адаптивних властивостей суглобового хряща гомілки у тварин різних таксономічних груп, знайти критерії оцінки структурно-метаболических проявів реактивних властивостей і репаративних потенцій, котрі необхідно враховувати у відновній і реконструктивній хірургії хрящових компонентів опорно-рухового апарату. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити ряд конкретних завдань:

- встановити загальні закономірності і видові особливості співвідношення ділянок суглобової поверхні великої гомілкової кістки, покритих колінними менісками і вільних від них із врахуванням кутових зміщень в суглобі;

- вивчити особливості структурної організації хряща гомілки з ділянок суглобової поверхні, покритих та не покритих колінними менісками в нормі;

- виявити біологічні потенції, реактивні, репаративні і морфоадаптивні властивості суглобового хряща при односторонній менісектомії, дослідити динаміку послідовних змін структури хряща і диференціровки хондроцитів тангенціальної, середньої і базальної зон;

- визначити морфологічні еквіваленти метаболическої активності хондроцитів суглобового хряща гомілки після менісектомії;

- охарактеризувати ультраструктурну організацію хондроцитів різних зон суглобового хряща в нормі та в експерименті.

Наукова новизна. Нами отримані нові дані про особливості видоспецифічної структурної організації суглобового хряща у ссавців різних таксономічних груп, визначені співвідношення загальної площі суглобової поверхні гомілки і площі її ділянок, покритих та не покритих в нормі меніском.

Біологічним моделюванням виявлені морфоадаптивні властивості суглобового хряща, зміни цитоархітектоніки хондроцитів

тангенціальної, середньої та базальної зон після менісектомії. Визначені місця локалізації та ензиматичної активності лужної фосфатази, що підтверджують диференціювання і рівень обмінних процесів хондроцитів різних зон суглобового хряща в нормі та експерименті. Описана ультраструктура ендоплазматичного ретикулу, комплексу Гольджі, мітохондрій, каріолеми хондроцитів суглобового хряща в нормі і після менісектомії, що розкривають біологічні потенції і морфоадаптивні властивості суглобового хряща при змінах механічного навантаження.

Теоретична і практична цінність роботи. Робота розкриває загальні закономірності структурної організації суглобового хряща гомілки у деяких ссавців, а також його морфофункціональні особливості, обумовлені екологічною характеристикою. Встановлено нерозривний зв'язок структури суглобового хряща з його реактивною і адаптивною перебудовою у відповідь на зміну біомеханічного навантаження. Виявлено, що органоспецифічність структури хряща в зв'язку із змінами навантаження відображає надзвичайну мобільність його клітинного компонента, а також наявність великих біомеханічних потенцій, що забезпечують високий ступінь морфофункціонального адаптогенезу.

Результати комплексних експериментально-морфологічних досліджень мають прикладне значення для розкриття патогенезу та при виборі методу лікування із врахуванням особливостей структурної організації суглобового хряща гомілки в ділянках, покритих і не покритих меніском в нормі, а також при односторонній менісектомії. Виявлені морфофункціональні адаптації суглобового хряща можуть бути використані в клінічній практиці при відновній та реконструктивній хірургії хрящових компонентів опорно-рухового апарату.

Впровадження результатів досліджень. Матеріали дисертаційної роботи впроваджені в науково-дослідній роботі відділу патоморфології і патофізіології Українського науково-дослідного інституту травматології та ортопедії; лабораторії патогістоморфології і експериментальної патології Харківського НДІ ортопедії та травматології ім. М.І. Ситенка. Результати досліджень використовуються в навчальному процесі та при проведенні наукових досліджень на кафедрі гістології, цитології і ембріології Харківського державного медичного університету; кафедрі нормальної анатомії людини Луганського медичного університету; кафедрі гістології з ембріологією і цитологією Мінського медичного інституту;

кафедри гістології і ембріології Тюменського державного медичного інституту; кафедри анатомії і фізіології тварин Мордовського університету ім. М.П. Огарьова; кафедри анатомії Ставропольської державної сільськогосподарської академії; кафедри морфології і фізіології Брянського сільськогосподарського інституту; кафедрах анатомії і гістології Українського національного аграрного університету та Білоцерківського державного аграрного університету.

Апробація роботи і публікації. Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на Всеросійській науковій конференції морфологів, присвяченій 100-річчю від дня народження А.І. Акаєвського (Омськ, 1993); II-й Всеросійській конференції морфологів "Влияние антропогенных факторов на структурные преобразования органов, тканей, клеток человека и животных" (Саратов, 1993); I-му Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Івано-Франківськ, 1994); VII-й республіканській школі за участю спеціалістів СНД "Біологія опорно-рухового апарату" (Харків, 1994); III-й науковій конференції "Морфофункціональний статус ссавців та птахів" (Сімферополь, 1995); I-му міжнародному конгресі з інтегративної антропології (Тернопіль, 1995), а також на щорічних науково-практичних конференціях Білоцерківського державного аграрного університету (1993-1995).

За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць та один інформаційний лист.

Об'єм і структура дисертації. Робота викладена на 132-х сторінках машинописного тексту, ілюстрована 85-ти мікрофотографіями, 13-ти таблицями і 1-єю діаграмою. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, власних досліджень, що включають матеріал і методи досліджень, результати власних досліджень, обговорення одержаних результатів та висновків. Список цитованої літератури вклучає 338 першоджерел вітчизняних та зарубіжних авторів.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріалом для дослідження були взяті колінні суглоби трьох видів свійських тварин: коня - *Equus caballus* L., собаки - *Canis familiaris* L., і великої рогатої худоби - *Bos primigenius* L. Всього досліджено 48 тварин: коней 2-3 річного віку-8 голів; великої рогатої худоби, віком 1,5-2 роки- 8 голів; статевозрілих, безпорідних собак - 32 голови.

В роботі використано комплекс макромікроскопічних, морфометричних, рентгенологічних, гістологічних, гістохімічних та електронномікроскопічних методів дослідження.

Характеристика досліджуваного матеріалу за видами досліджень подана в табл. № 1.

Таблиця 1. Характеристика досліджуваного матеріалу

№ п/п	Вид тварин	Кількість тварин (за видами досліджень)					
		Анато- мічні	Морфо- метричні	Гістоло- гічні	Гісто- хімічні і	Рентге- нологі- чні	Електрон- номікро- скопичні
1	Кінь	8	5	3	-	-	-
2	Велика рогата худоба	8	5	3	-	-	-
3	Собака в т.ч. :	32	10	23	21	21	21
а)	норма	8	5	3	3	3	3
б)	експе- римент	24	5	20	18	18	18
	Всього	48	20	29	21	21	21

Макроморфологічні дослідження полягали в тонкому анатомічному препаруванні 96-ти колінних суглобів, та вивченні особливостей взаємовідношення структур синовіального середовища. Особлива увага зверталась на взаємоз'язок колінних менісків із суглобовою поверхнею гомілки. За допомогою морфометрії 21-го колінного суглоба трьох видів тварин визначили відношення загальної площі суглобової поверхні гомілки до площі її ділянок, покритих і не покритих колінним меніском. Вірогідність одержаних результатів оцінювали, використовуюючи метод варіаційної статистики Є.В. Монцевичюте-Ерінгене (1964).

Після цього за допомогою рентгенологічних досліджень 21-го колінного суглоба визначили найбільш навантажені ділянки суглобової поверхні гомілки при різних кутових зміщеннях в колінному суглобі (60°, 90°, 120°). Рентгенологічні дослідження проводили з використанням рентгенустановки РУМ-20. Знімки суглоба проводили у фронтальній і боковій проєкціях. Результати рентгенологічних досліджень аналізували у співставленні з даними морфо

метрії суглобових поверхонь гомілки.

Значне місце в роботі займає її експериментальна частина, яка проводилась на безпорідних статевозрілих собаках, і полягала в біологічному моделюванні органоспецифічного морфогенезу суглобового хряща гомілки після односторонньої менісектомії. Операції менісектомії проводились в умовах лабораторії кафедри із дотриманням всіх правил асептики та антисептики по вже відпрацьованій на кафедрі методиці (В.П. Новак, 1989). В післяопераційний період собак утримували в кафедральному віварії під постійним наглядом. Виводили тварин з експерименту в різні строки: від 1-го до 12-ти місяців (1,2,4,6,9,12.). Умертвіння здійснювали введенням великих доз рометару. Розтинали трупи і відбирали матеріал для гістологічних, гістохімічних, електронномікроскопічних досліджень. Для встановлення певних закономірностей органоспецифічного морфогенезу суглобового хряща після односторонньої менісектомії по кожному строку експерименту досліджено 3-5 тварин.

Об'єктом гістологічних та гістохімічних досліджень був суглобовий хрящ, відібраний з ділянок суглобової поверхні гомілки, покритих і не покритих менісками в нормі, а у експериментальних тварин також із місця дотику суглобових поверхонь стегнової кістки і гомілки після екстирпації меніска. Матеріал фіксували в 10-12 % нейтральному, охолодженому (+2°C) формаліні, рідині Карнуа та інших специфічних фіксаторах в залежності від подальшого фарбування (Г.А.Меркулов, 1969; Б.Ромейс, 1953; Г.І.Роскін, 1954; Є.Пірс, 1962; Р.Ліллі, 1969; О.І.Кононський, 1976). Потім на заморожуючому мікротомі ТОС-2 готували гістозрізи завтовшки 10-15 мкм. В процесі роботи використовували методи фарбування гістозрізів гематоксилін-еозином, за Ван-Гізеном, толуїдиновим синім за методом Доминічі. Поєднання барвників, що відносяться до протилежних груп, дозволило одержати найбільш повну яву про стан досліджуваної тканини, виявити одночасно ядерні структури та цитоплазматичні і позаклітинні утворення. З допомогою диференційного фарбування за Лյондвалем визначали місця кальцифікації суглобового хряща.

Місця локалізації і ензиматичної активності лужної фосфатази (лужної фосфомоноестерази, 3.1.3.1. - фосфогідролази моноєфірів ортофосфату) визначали за методом Гоморі -Такаматчу (1939). В процесі роботи гістологічні та гістохімічні препарати вив-

чали з використанням мікроскопів МБС-2, МБІ-15, Stydar, Enaval, Biolag. Фотографування мікропрепаратів проводили за допомогою фотокамери "Зеніт" на фотоустановці.

Для електронної мікроскопії, згідно з рекомендаціями Б.Уіклі (1980), префіксацію об'єктів проводили в 2,5% розчині глутаральдегіду, а постфіксацію - в 1% розчині осміевої кислоти. Заключали в епон-аралдіт (Mollenhauer, 1964). Напівтонкі та ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі УМТП-4. Фарбували напівтонкі зрізи толудіновим синім і фуксином. Ультратонкі зрізи контрастували в 2-5% розчині ураніацетату і в цитраті свинцю. Вивчення та фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопа ПРЕМ-200 при збільшенні на екрані від 3000 до 50000.

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Макроморфологічні, рентгенологічні та морфометричні характеристики елементів синовіального середовища колінного суглоба.

Анатомічні дослідження колінних суглобів тварин показують, що суглобовий хрящ гомілки в різних ділянках суглобової поверхні не в однаковій мірі захищений такими своєрідними компонентами синовіального середовища, як меніски. Тому на суглобовій поверхні виростків великої гомілкової кістки виділяються ділянки хряща, покриті колінними менісками і вільні від них. До покритих відноситься хрящ латеральної частини суглобової поверхні і середня її ділянка. Непокритим є хрящ дорсальної, плантарної та медіальної ділянок суглобової поверхні. Проте необхідно відзначити, що дорсальні і плантарні ділянки є місцем, де меніск ковзає при рухах у суглобі, а медіальна ділянка, тобто локус міжвиросткового підвищення, є місцем, де хрящ ніколи не покривається меніском.

Проведені рентгенологічні дослідження дозволили визначити найбільш навантажені ділянки суглобової поверхні гомілки при різних кутових зміщеннях в суглобі. Аналіз рентгенограм показує, що при кутовому зміщенні в колінному суглобі на 90° найбільш навантаженою є ділянка суглобової поверхні, розміщена на рівні міжвиросткового підвищення. Колінна чашка при такому кутовому зміщенні розміщується в середній третині блока стегнової кістки. При кутовому зміщенні в колінному суглобі на 60° найбільш навантаженою стає плантарна ділянка суглобової поверхні великої гомі-

кової кістки. При цьому колінна чашка переходить вниз, а точка дотику стегнової кістки і гомілки зміщується каудально. Під час розгинання колінного суглоба місце дотику виростків стегна і гомілки зміщується краніально. При кутовому зміщенні на 120° найбільш навантаженою стає дорсальна ділянка суглобової поверхні, колінна чашка розміщується на рівні верхньої третини блоку стегнової кістки.

При співставленні серії рентгенограм встановлено, що при згинально-розгинальних рухах в колінному суглобі амплітуда переміщення найбільш навантаженої ділянки по суглобовій поверхні гомілки менша від амплітуди переміщення її по поверхні виростка стегнової кістки, тому що останній при зміщеннях в суглобі описує майже напівсферу. Таким чином, встановлені ділянки найбільшого навантаження дають підстави сформулювати робочу гіпотезу про різний характер органоспецифічного морфогенезу хрящової тканини після односторонньої менісектомії.

В результаті проведених порівняльно-анатомічних і морфометричних досліджень нами визначені співвідношення загальних площ суглобових поверхонь гомілки і площ їх ділянок, покритих і не покритих менісками в нормі у коня, великої рогатої худоби та собаки, а також відношення площі суглобової поверхні інтактного виростка гомілки до площі ділянок, покритих і не покритих меніском, після односторонньої менісектомії у собак. Одержані результати приведені у вигляді діаграми (рис. 1).

Встановлено, що у коня відношення загальної площі латеральної суглобової поверхні гомілки до площі ділянки, покритої меніском, дорівнює $1,78 \pm 0,07$, а до площі ділянки, не покритої меніском - $2,32 \pm 0,14$. У великої рогатої худоби ці показники наступні: $1,51 \pm 0,07$ і $3,06 \pm 0,26$. У собаки відповідно: $1,75 \pm 0,07$ та $2,38 \pm 0,12$. Відношення загальної площі медіальної суглобової поверхні гомілки до площі її ділянки, покритої меніском, у коня становить $1,56 \pm 0,05$, а до площі ділянки, не покритої меніском - $2,86 \pm 0,16$. У великої рогатої худоби ці показники наступні: $1,34 \pm 0,02$ і $3,99 \pm 0,25$. У собаки відповідно: $1,58 \pm 0,02$ та $2,74 \pm 0,08$. Аналізуючи ці показники, можна зробити висновок, що досліджувані тварини мають вірогідну різницю у співвідношенні ділянок суглобової поверхні гомілки, покритих і не покритих в нормі колінними менісками. Очевидно, швидкість локомоцій, характер опори та амплітуда рухів відбиваються на ступені механічного навантаження хряща в колінному суглобі. Це, напевно, послужило одним

із основних механізмів формування амортизаційних компонентів суглоба в процесі філогенезу.

Через 12 місяців після екстирпації медіального колінного меніска у собаки відношення загальної площі суглобової поверхні латерального, інтактного виростка гомілки до площі її ділянки, покритої меніском, зменшилось із $1,75 \pm 0,07$ до $1,58 \pm 0,01$ ($P < 0,05$), а відношення загальної площі до площі ділянки, не покритої

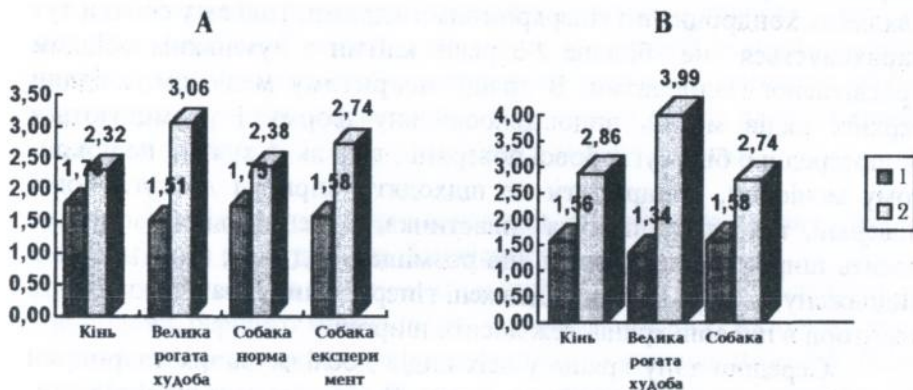


Рис. 1 Відношення загальної площі латеральної (А) і медіальної (Б) суглобових поверхонь гомілки до площі їх ділянок, покритих (1) та не покритих (2) меніском у коня, великої рогатої худоби і собаки в нормі та в експерименті.

меніском, збільшилось із $2,38 \pm 0,12$ до $2,74 \pm 0,05$ ($P < 0,05$). Звідси випливає, що на суглобовій поверхні гомілки вірогідно збільшилась площа ділянки, покритої меніском, і відповідно зменшилась площа ділянки, не покритої таким. Це, очевидно, відбулося в результаті інтерстиціального розросту тканини інтактного, латерального меніска під впливом збільшеного біомеханічного навантаження, що діє на нього після екстирпації медіального меніска.

Видоспецифічні особливості структурної організації суглобового хряща гомілки із ділянок, покритих і не покритих колінними менісками в нормі.

Нашими дослідженнями встановлені як загальнобіологічні закономірності, так і видоспецифічні особливості будови суглобового хряща та рівня функціонального стану клітинного компонента хрящової тканини різних тварин. Встановлено, що кінь, собака

та велика рогата худоба мають вірогідну морфологічну різницю в структурній організації тангенціальної, середньої та базальної зон хряща гомілки, покритого та не покритого колінним меніском в нормі. Суглобовий хрящ із ділянок, покритих меніском, у всіх видів досліджуваних тварин несе на своїй поверхні тонку, безклітинну, "блискучу" пластинку, утворену глікозамінгліканами та хонроїтинсульфатами. В хрящі, не покритому меніском, ця пластинка досить широка. У фалангоходячих в тангенціальній зоні лежить 5-7 рядів овальних хондроцитів з гіперхромними ядрами, тоді як у собаки тут нараховується не більше 2-3 рядів клітин з вузьким обідком просвітленої гіалоплазми. В хрящі, покритому меніском, клітини верхніх рядів мають видовженоовальну форму і розміщуються безпосередньо біля суглобової поверхні, тоді як в хрящі, не покритому меніском, хондроцити не підходять впритул до суглобової поверхні, так як "блискуча" пластинка тангенціальної зони тут досить широка. Хондроцити, що розміщені під нею, мають більш видовжену форму і такі ж видовжені гіперхромні ядра. Міжклітинні території в цій зоні хряща теж досить широкі.

Середню зону хряща у всіх видів досліджуваних тварин ми розподіляємо на два перехідних шари. В перехідному шарі від тангенціальної до середньої зони хряща хондроцити округляються, виникають окремі ізогенні групи. В середній зоні хряща проходять активні проліферативні процеси. Хондроцити формують ізогенні групи із 2-х, іноді 3-х, клітин овальної форми. У фалангоходячих в середній зоні ізогенні групи рівномірно розташовуються, а у собаки утворюють вертикальні колонки і формують хондрінові кулі. Також в середній зоні хряща у фалангоходячих виділяється шар гіпертрофованих хондроцитів. Перехідний шар від середньої до базальної зони характеризується деструктивними змінами в хондроцитах, котрі виділяються у вигляді сегментації ядер та піноподібності цитоплазми.

Базофільна лінія добре контурована у хрящі всіх досліджуваних видів тварин у вигляді тонкої звивистої смужки. В хрящі собаки вона перегинає ізогенні групи клітин і окремі хондроцити, а у фалангоходячих - обгинає їх. Ширина базофільної лінії також неоднакова у різних видів досліджуваних тварин. У великої рогатої худоби вона часто розшаровується, і в товщі її розміщуються хрящові клітини. У собаки базофільна лінія утворює численні воронкоподібні впинання назустріч судинним каналам, розміщеним в шарі кальцифікованого хряща. Останній несе в собі у різних видів

тварин неоднакову кількість рядів хондроцитів. У собаки тут лежить 5-7 рядів клітин, які в більшості випадків не утворюють ізогенних груп. У коня - 2-3 ряди хондроцитів, що формують ізогенні групи, але не утворюють хондрінових куль, а у великої рогатої худоби лише 1-2 ряди клітин з вираженими деструктивними змінами. Також у цьому шарі хряща у собаки багато судинних каналів, чого не зустрічається в хрящі коня та великої рогатої худоби. В глибше розміщених шарах хряща вже спостерігаються процеси осифікації.

Виходячи із вищевикладеного, доходимо висновку, що видоспецифічні особливості структурної організації тканини суглобового хряща, покритого і не покритого меніском, очевидно обумовлені типом опори, характером локомоцій та мірою навантаженості хряща в різних ділянках суглобової поверхні гомілки.

Морфологічна характеристика суглобового хряща гомілки собаки після односторонньої менісектомії.

Аналізуючи експериментальний матеріал, ми відзначаємо, що впродовж першого місяця після менісектомії в суглобовому хрящі проходить перегрупування хондроцитів у відповідь на зміну біомеханічного навантаження. В хрящі, покритому в нормі меніском, на поверхні тангенціальної зони утворюється безклітинний "захисний" шар. Під ним лежать хондроцити тангенціальної зони, більшість з яких перебувають в стані активної проліферації. Це дозволяє припустити, що органоспецифічна перебудова хрящової тканини торкається в першу чергу клітинного компонента, проходить передислокація проліферативних процесів, а також синтез міжклітинної речовини тангенціальної зони. В середній зоні хондроцити не утворюють традиційних вертикальних колонок, а розташовуються рівномірно.

В суглобовому хрящі із місць дотику суглобових поверхонь після менісектомії на поверхні тангенціальної зони утворюється досить широкий безклітинний, "захисний" шар. Тангенціальна зона включає 5-7 рядів видовжених хондроцитів з гіперхромними ядрами. Поздовжня вісь клітин паралельна суглобовій поверхні хряща. Міжклітинні території звужені. Проліферуючі клітини лежать в середній зоні хряща, але ізогенні групи не формують вертикальних колонок, а розташовуються рівномірно. Базофільна лінія чітко контурує в вигляді звивистої смужки, що перетинає ізогенні групи та окремі хондроцити. Шар мінералізованого хряща дещо тоншає, в ньому лежать гіпертрофовані хондроцити.

Через 2 місяці після менісектомії в суглобовому хрящі, покритому в нормі меніском, цитоархітектоніка хондроцитів залишається такою ж, як і при одномісячному експерименті. Проте проліферативні процеси зміщуються в перехідний шар від тангенціальної до середньої зони хряща. В проміжній зоні вже помітна тенденція формування вертикальних колонок хондроцитів. Базофільна лінія слабо контурована. Шар мінералізованого хряща вміщує 3-5 рядів клітин з вираженими деструктивними змінами. Суглобовий хрящ із місць дотику суглобових поверхонь стегна і гомілки після менісектомії також характеризується наявністю безклітинного, “захисного” шару. Хондроцити тангенціальної зони зібрані в ізогенні групи. Проліферативні процеси проходять в перехідному шарі від тангенціальної до середньої зони хряща, де клітини утворюють ізогенні групи, але не формують вертикальних колонок. Міжклітинні території тут звужені. Шар мінералізованого хряща містить у собі 8-10 рядів хондроцитів, об'єднаних в ізогенні групи. Частина клітин мають виражені деструктивні зміни. Таким чином, на цей період експерименту значно збільшується ширина мінералізованого шару хряща та клітинного його компонента.

Досліджуючи матеріал наступних строків експерименту, ми відзначаємо, що через 4 місяці після менісектомії в суглобовому хрящі із місць дотику суглобових поверхонь стегна і гомілки на поверхні тангенціальної зони залишається добре вираженим безклітинний “захисний” шар. Хондроцити тангенціальної зони не мають такого рівномірного розташування, як в більш ранні строки експерименту, а формуються “гнізда”, між якими утворюються широкі міжклітинні території. Проліферативні процеси проходять в тангенціальній зоні і в перехідному шарі від тангенціальної до середньої зони хряща. В останній, ізогенні групи, що містять по 2, іноді 3, хондроцити, не утворюють традиційних вертикальних колонок.

В 6-місячний строк експерименту цитоархітектоніка хондроцитів майже не змінюється. Однак в середній зоні хряща помітна тенденція утворення вертикальних колонок хрящових клітин. В хрящі, покритому в нормі меніском, на цей період експерименту проліферуючі клітини зосереджуються в перехідному шарі від тангенціальної до середньої зони і в верхніх шарах останньої, а в середній її частині формуються вертикальні колонки хондроцитів.

Через 9-12 місяців після менісектомії суглобовий хрящ зберігає на своїй поверхні безклітинний, “захисний” шар. Хрящові

клітини, як і раніше, утворюють "гнізда". В середній зоні хряща формуються вертикальні колонки хондроцитів. В суглобовому хрящі із ділянок, покритих в нормі меніском, хондроцити тангенціальній зоні підходять безпосередньо до суглобової поверхні. В середній зоні клітини рівномірно розташовані. Проліферативні процеси проходять в верхніх шарах тангенціальній зоні. Ізогенні групи, що при цьому утворюються, формують вертикальні колонки, між якими зберігаються вузькі інтерцелюлярні території (особливо це виражено в хрящі із місць дотику суглобових поверхонь стегна і гомілки після екстирпації меніска). Шар мінералізованого хряща тут помірної ширини і містить в собі 3-5 рядів деструктивнозмінених хондроцитів.

Суглобовий хрящ із ділянок, не покритих в нормі меніском, зазнає лише незначної адаптаційно-компенсаторної перебудови після менісектомії і в основному зберігає свою типову гістоструктуру. Проте в перші місяці експерименту дещо змінюється проліферативний пул хондроцитів, проліферативні процеси зміщуються в тангенціальну зону хряща. В середній зоні хондроцити рівномірно розташовуються, не утворюючи вертикальних колонок. В пізніші строки експерименту проліферуючі клітини концентруються в середній зоні хряща, ізогенні групи формують вертикальні колонки. Шар мінералізованого хряща вміщує 4-6 рядів клітин з гіпохромними сегментованими ядрами і піноподібною цитоплазмою. Від субхондральної кістки в шар мінералізованого хряща підходять судинні канали, навколо яких помітні процеси осифікації.

Таким чином, в суглобовому хрящі гомілки після менісектомії проходить органоспецифічний морфогенез, спрямований на підтримку структурного та функціонального гомеостазу колінного суглобу.

Локалізація і активність лужної фосфатази суглобового хряща гомілки в експерименті.

Для підтвердження одержаних гістологічних даних нами проведено гістохімічні дослідження з визначення місць локалізації та ензиматичної активності лужної фосфатази. Встановлено, що в тангенціальній і середній зонах хряща активність фермента виявляється в ядрах хондроцитів. В проліферативній зоні хряща найбільша активність ензиму визначається в клітинах, які формують ізогенні групи. В глибших шарах середньої зони, де згасають проліферативні процеси, активність ферменту знижується, а в хонд-

роцитах, що лежать на базофільній лінії, не виявляється взагалі. В шарі мінералізованого хряща, де зосереджені деструктивнозмінені хондроцити, відмічається вихід ферменту із ядра клітини в цитоплазму, а із неї, через плазмолему, в інтерцелюлярний простір. Отже, очевидним є те, що локалізація і активність лужної фосфатази залежить від рівня участі хондроцитів в хондрогенезі, їх морфологічної, цитохімічної організації та функціонального стану. Ензиматична активність лужної фосфатази в хондроцитах, очевидно, підсилює їх диференціювання і стає максимальною під час активного колагеногенезу. Вважаючи, що цей фермент зв'язаний із внутрішньоклітинним транспортом речовин, можна думати, що він виконує певну функцію в синтезі колагену та глікозамінгліканів.

Після екстирпації колінного меніска дещо змінюється характер локалізації і активності лужної фосфатази. Через місяць після менісектомії в хрящі з ділянок, покритих в нормі меніском, активність ферменту проявляється в клітинах перехідного шару від тангенціальної до середньої зони, тоді як в хрящі, не покритому меніском, і в хрящі із місць дотику суглобових поверхонь після менісектомії активність ензиму виявляється в хондроцитах середньої зони хряща. Після 2-х місячного строку експерименту у хрящі, покритому в нормі меніском, висока активність лужної фосфатази визначається в клітинах тангенціальної зони, у непокритому - в клітинах середньої зони, а у взятому з місць дотику суглобових поверхонь - в клітинах перехідного шару від тангенціальної до середньої зони хряща.

Аналізуючи матеріал пізніших термінів експерименту, ми відзначаємо, що активність ферменту проявляється в перехідному шарі від тангенціальної до середньої зони хряща, незалежно від того, з яких ділянок суглобової поверхні досліджували матеріал. В перехідному шарі від середньої до базальної зони, активність ферменту не проявляється, тоді як в зонах набухання і деструктивних процесів в хрящових клітинах міститься велика кількість ензимопозитивних гранул за рахунок виходу ферменту із зруйнованих хондроцитів. Також виявлено, що в різні строки експерименту, коли змінюється проліферативний пул хондроцитів і зміщується проліферативна зона хряща, відповідно переміщується зона найбільш високої активності лужної фосфатази. Поява ензиму в хондроцитах базальної зони співпадає із початком процесів мінералізації міжклітинної речовини, а його активність свідчить про участь в процесах остеогенезу. Тому можна сказати, що картини

локалізації і активності лужної фосфатази не є випадковими, так як вони відповідають описаним на світлооптичному рівні проявам реактивності хрящової тканини, а результати гістохімічних досліджень необхідні для розуміння репаративних і морфоадаптивних процесів в сполучнотканинних елементах локомоторного апарату при змінах функції.

Ультраструктурна організація хондроцитів в експерименті.

На електронномікроскопічному рівні вивчалась ультраструктурна організація хондроцитів, що диференціюються після менісектомії. В роботі описано стан ендоплазматичної сітки, комплексу Гольджі, мітохондрій, каріолеми, а також відношення до неї хроматину. Хоч це далеко не всі структури, що визначають рівень диференціювання та функціональної активності клітини, проте такий комплекс вже дає право розмірковувати про морфофункціональний стан хондроцитів та рівень їх біологічної активності. В результаті проведених ультраструктурних досліджень експериментального матеріалу нами виділено 3 групи хондроцитів (неактивні, хондроцити, що диференціюються та активнофункціонуючі) в залежності від морфофункціонального стану та адаптивних реакцій клітин на зміну біомеханічного навантаження після односторонньої менісектомії. В неактивних хондроцитах відмічається наявність невеликої кількості малих та середніх мітохондрій, рівномірно розташованих по всій цитоплазмі. Привертає увагу те, що в клітинах, де мало мітохондрій, виявляється слаборозвинений ендоплазматичний ретикулум і комплекс Гольджі. Останній являє собою слаборозвинену систему сплюснених цистерн, що лежать по 2-3 щільно одна до одної у віддалених від ядра ділянках цитоплазми. Ендоплазматична сітка представлена системою внутрішньоклітинних каналців і вакуолей які хаотично розміщуються в цитоплазмі. Вони рідко на своїй поверхні несуть полісоми і, як правило, є структурою агранулярного ендоплазматичного ретикулуму.

Процес диференціювання і активізації білоксинтетичної функції хондроцитів супроводжується збільшенням кількості середніх та появою великих мітохондрій. Вони набувають овальної або округлої форми, групуючись по декілька, формують своєрідні агрегати і локалізуються в ділянки цитоплазми з добре розвиненим ендоплазматичним ретикулумом. У великих мітохондріях крісти розташовані не щільно і між ними добре видно проміжки, заповнені матріксом, тоді як у малих мітохондрій кріст більше, і розміщують

ся вони щільно.

В клітинах, що диференціюються і функціонально-активних хондроцитах комплекс Гольджі локалізується, як правило, в навколядерній зоні. Кількість сплюснених цистерн збільшується до 4-6, і вони щільно упаковані. На кінцях таких цистерн лежать мікропухирці, а на поверхні - вакуолі, наявність яких, очевидно, пов'язана з активізацією секреторної діяльності клітини. Окремі компоненти пластинчастого комплексу контактують із структурами ендоплазматичного ретикулулу. Останній, в процесі диференціювання, також ускладнює свою структуру. В ньому представлені всі компоненти-цистерни, каналці і вакуолі, які формують складну систему каналців клітини. В активно-функціонуючій групі клітин цистерни ендоплазматичної сітки розміщуються щільно, внутрішньоцистернальні простори розширені, а на поверхні мембран концентруються полісоми. В таких клітинах невелика електронна щільність ядра, хроматин розміщується дифузно, у вигляді дрібних гранул, із незначним прикаріолемним розташуванням гетерохроматину. В ядерній оболонці функціонально-активних хондроцитів помітне збільшення кількості пор. Перінуклеарні простори в окремих клітинах розширені, і формуються своєрідні лакуни, в інших - ядерна оболонка утворює випинання і інтердігідації.

Отже, в процесі субмікроскопічного дослідження хрящової тканини в експерименті підтверджені процеси органоспецифічного морфогенезу, виявлені на світлооптичному рівні. Виявлено високий ступінь біологічних потенцій хрящової тканини у відповідь на зміну біомеханічного навантаження, котрі необхідно враховувати у відновній та реконструктивній хірургії хрящових компонентів опорно-рухового апарату ссавців.

Таким чином, в результаті проведеного комплексного експериментально-морфологічного дослідження нами визначені особливості видоспецифічної структурної організації суглобового хряща гомілки у коня, собаки та великої рогатої худоби, співвідношення загальних площ суглобових поверхонь гомілки і їх ділянок, покритих та не покритих менісками в нормі. Біологічним моделюванням встановлено морфоадаптивні властивості суглобового хряща, зміни цитоархітектоніки хондроцитів тангенціальної, середньої і базальної зон після меніскектомії. Визначені місця локалізації та ензиматична активність лужної фосфатази, що підтверджують ступінь диференціювання і рівень обмінних процесів в хондроцитах різних зон суглобового хряща в нормі та після односторонньої меніскекто-

мії. Описана ультраструктурна організація ендоплазматичного ретикулуму, комплексу Гольджі, мітохондрій і каріолеми хондроцитів різної функціональної активності, що розкриває біологічні потенції і морфоадаптивні властивості суглобового хряща при змінах біомеханічного навантаження.

ВИСНОВКИ

1. У коня, собаки та великої рогатої худоби виявлені як загальні закономірності, так і видоспецифічні особливості структурної організації тангенціальної, середньої і базальної зон суглобового хряща гомілки із ділянок, покритих та не покритих колінними менісками в нормі:

а) в тангенціальній зоні хряща у фалангоходячих лежить 3-5 рядів хондроцитів, тоді як у собаки - не більше 2-3 рядів клітин із вузьким обідком просвітленої гіалоплазми;

б) в середній зоні хряща гомілки собаки ізогенні групи формують вертикальні колонки, у фалангоходячих - виділяється шар гіпертрофованих хондроцитів;

в) базальна зона хряща собаки вміщує в собі 5-7 рядів хондроцитів, у коня - не більше 3-5 рядів клітин, що утворюють ізогенні групи, але не формують хондрінових куль, а у великої рогатої худоби - лише 1-2 ряди клітин з вираженими деструктивними змінами.

2. Фаланго - і пальцеходячим ссавцям притаманна вірогідна різниця у співвідношенні ділянок суглобової поверхні гомілки, покритих і не покритих в нормі колінними менісками:

а) відношення загальної площі суглобової поверхні латерального виростка гомілки до площі її ділянки, покритої меніском, дорівнює у коня $1,78 \pm 0,08$, у великої рогатої худоби - $1,51 \pm 0,07$, у собаки - $1,75 \pm 0,07$, а відношення до площі ділянки, не покритої меніском, становить у коня $2,32 \pm 0,14$, у великої рогатої худоби - $3,06 \pm 0,26$, у собаки - $2,38 \pm 0,12$;

б) відношення загальної площі суглобової поверхні медіального виростка гомілки до площі її ділянки, покритої меніском, дорівнює у коня $1,56 \pm 0,05$, у великої рогатої худоби - $1,34 \pm 0,02$, у собаки - $1,58 \pm 0,02$, а відношення до площі ділянки, не покритої меніском, становить у коня $2,86 \pm 0,16$, у великої рогатої худоби - $3,99 \pm 0,25$, у собаки - $2,74 \pm 0,08$.

3. Після односторонньої менісектомії у собаки на суглобовій

поверхні гомілки вірогідно збільшується площа ділянки, покритої інтактним колінним мініском, і зменшується площа ділянки, вільної від нього ($P < 0,05$).

4. В суглобовому хрящі гомілки після менісектомії відбуваються морфоадаптивні зміни, що забезпечують структурну організацію тканини, здатну функціонувати в нових умовах синовіального середовища.

5. Органоспецифічний адаптогенез характеризується активізацією синтезу міжклітинної речовини хондроцитами, в результаті чого на поверхні тангенціальної зони хряща утворюється широкий, безклітинний, "захисний" шар, а хондроцити рівномірно розташовуються, змінюючи свою цитоархітектоніку в усіх зонах хряща.

6. Через 4 місяці після менісектомії хрящ гомілки зберігає на своїй поверхні безклітинний, "захисний" шар. Хондроцити вже не мають рівномірного розташування, а формують "гнізда", між якими утворюються широкі інтерцелюлярні простори. Для 12-ти місячного терміну експерименту також є характерною наявність "захисного" шару, але ізогенні групи вже формують вертикальні колонки, розмежовані вузькими міжклітинними територіями.

7. Суглобовий хрящ гомілки із ділянок, не покритих в нормі мініском, найменше піддається адаптаційно-компенсаторній перебудові після менісектомії і на зміну біомеханічного навантаження відповідає лише незначними змінами проліферативного пула і цитоархітектоніки хондроцитів тангенціальної та середньої зон.

8. Морфологічні кореляти (локалізація і ензиматична активність лужної фосфатази) в суглобовому хрящі гомілки після менісектомії свідчать про рівень обмінних процесів в тангенціальній, середній та базальній зонах при змінах біомеханічного навантаження.

9. Процеси диференціювання хондроцитів і посилення їх білоксинтегичної активності супроводжуються змінами ультраструктурної організації клітин різної функціональної активності:

а) в неактивних хондроцитах наявна незначна кількість дрібних та середніх мітохондрій. В активно функціонуючих клітинах збільшується кількість середніх та з'являються великі мітохондрії, що формують своєрідні агрегати і локалізуються в ділянках цитоплазми з добре розвиненим ендоплазматичним ретикуломом;

б) комплекс Гольджі в неактивних хондроцитах являє собою слабкорозвинену систему сплюснених цистерн, які лежать у віддалені

них від ядра ділянок цитоплазми. В хондроцитах, що диференціюються, та функціонально-активних клітинах збільшується кількість цистерн і локалізуються вони в навколоядерній зоні;

в) ендоплазматичний ретикулум в неактивних хондроцитах складається із вакуолей і цистерн, які хаотично розміщуються в цитоплазмі. У функціонально-активних хондроцитах він утворений цистернами, каналцями і вакуолями, що формують складну систему каналців клітини.

10. Морфогенез адаптивних пристосувань суглобового хряща в умовах менісектомії є ілюстрацією надзвичайної пластичності хрящової тканини, а тому становить значний практичний інтерес в розв'язанні проблем реконструктивної і відновної хірургії хрящових компонентів локомоторного апарату.

ОСНОВНІ ПУБЛІКАЦІЇ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Новак В.П., Сторожук В.А. Морфометрические показатели суставного хряща большеберцовой кости у фалангоходящих // Проблемы эволюционной, сравнительной и функциональной морфологии домашних животных и пушных зверей клеточного содержания: Материалы Респ. научн. конф. вет. морфологов, посвящ. 100-летию со дня рождения А.И.Акаевского. - Омск, 1993. - С. 38-39.

2. Новак В.П., Сторожук В.А. Видоспецифические особенности структурной организации суставного хряща // Влияние антропогенных факторов на структурные преобразования органов, тканей, клеток человека и животных: Материалы II-й Всероссийской конференции морфологов. Часть 2.- Саратов, 1993. - С.36.

3. Сторожук В.А., Морфологія суглобового хряща при односторонній менісектомії //Матеріали I-го Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України. - Івано-Франківськ, 1994. - С. 234.

4. Сторожук В.А. Ферментативна активність лужної фосфатази суглобового хряща в нормі та експерименті //Вчені Білоцерківського державного сільськогосподарського інституту - виробництву: Матеріали наук.-практ. конференції. - Біла Церква. - 1994. - С. 110-111.

5. Сторожук В.А. Цитоархитектоника суставного хряща при односторонней менискэктомии // Ортопедия, травматология и протезирование.- 1994.- № 4.-С. 120.

6. Сторожук В.А. Морфофункциональное состояние сустав-

ного хряща после односторонней менискэктомии // Морфофункциональный статус млекопитающих и птиц: Материалы научн. конф. морфологов.- Симферополь, 1995.- С.32-33.

7. Сторожук В.А. Морфоадаптивні властивості суглобового хряща в експерименті // Наукове забезпечення агропромислового комплексу України в сучасних умовах : Матеріали наук.-практ. конф., присвяч. 75-річчю Білоцерківського державного сільсько-господарського інституту.- Біла Церква, 1995.- С.115-116.

8. Новак В.П., Сторожук В.А., Мельниченко А.П., Дудка В.Б. Реактивность биотканей локомоторного аппарата при менискэктомии // Материалы I-го Международного конгресса по интегративной антропологии.- Тернополь, 1995.- С. 252-253.

9. Сторожук В.А. Видовые особенности структурной организации суставного хряща голени домашних млекопитающих // Актуальные вопросы морфологии: Сборник научных работ. Материалы междунар. конф., посвящ. памяти академика, лауреата Госуд. премии Украины, профессора Сморгца С.А.- Тернополь, 1996.- Т. 3. - С. 624-626.

10. Сторожук В.А. Экспериментально-морфологические исследования суставного хряща млекопитающих: Информационное письмо. /Белоцерковский государственный с.-х. институт.- Белая Церковь, 1995.- 8 с.

Сторожук В.А. Экспериментально-морфологические исследования суставного хряща голени некоторых млекопитающих . Рукопись. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11.- эмбриология, гистология и цитология. Киевский университет имени Тараса Шевченко, Киев, 1996.

Защищается рукопись диссертации и 12 научных работ, содержащих результаты комплексных экспериментально - морфологических исследований, которыми установлены особенности видоспецифической структурной организации суставного хряща голени лошади, собаки и крупного рогатого скота. Определено соотношение суставных поверхностей голени и их участков, покрытых и не покрытых коленными менисками. Биологическим моделированием выявлены морфоадаптивные свойства суставного хряща после односторонней менискэктомии, изменения при этом цитоархитектоники хондроцитов тангенциальной, средней и базальной зон.

Установлено, что после экстирпации мениска на поверхности тангенциальной зоны хряща голени образуется широкий, бесклеточный, "защитный" слой, а хондроциты изменяют свою цитоархитектонику во всех зонах хряща. Определены места локализации и энзиматическая активность щелочной фосфатазы, подтверждающие дифференцировку и уровень обменных процессов хондроцитов в норме и эксперименте. Выявлены особенности ультраструктурной организации хондроцитов разной функциональной активности, раскрывающие биологические потенции и морфоадаптивные свойства суставного хряща при изменениях биомеханической нагрузки.

Storozhuk V.A. Experimental-morphological researches of the joint cartilage of the shank of some mammals. The manuscript. The thesis for a Candidate's degree of biology in speciality 03.00.11 - embryology, histology and cytology. The Taras Shevchenko Kyiv University, Kyiv, 1996/

The thesis manuscript and 12 scientific works are presented for defence, which include the results of the complex experimental-morphological researches which revealed the peculiarities of the species-typical structural organization of the joint cartilage of a horse, a dog and cattle. The correlation of the joint surfaces of the shank and their sections, covered and not covered with the knee meniscus, is defined. In the process of the biological simulation the morpho-adaptive properties of the joint cartilage after the unilateral meniscus-ectomy are revealed as well as the changed cyto-architectonics of the hondrocytes of the tengential, middle and the basal sections. It is found that after the extirpation of the meniscus the broad "defensive" layer without cells is formed on the surface of the tangential section while the hondrocytes change their cyto-arhitectonics in all sections of the cartilage. The localization and the enzymatic activity of the alkali phosphatasa are determined which confirm the differentiation and the level of the metabolic processes of the hondrocytes in norm and in the experiment. The peculiarities of the ultrastructural organization of the hondrocytes of different functional activity are revealed which show the biological potential and morpho-adaptive properties of the joint cartilage in the conditions of the changed biochemical loading.

Ключові слова: колінний суглоб, суглобовий хрящ гомілки, видові особливості, менісектомія, морфоадаптивні властивості хряща, хондроцити, ферменти, органоїди.

126807



МПП "Мустанг" м. Біла Церква, вул. Водолійна, 37, (04463) 6-17-81

Ф.А5, Пап. 80/95 Зам.96054-100