

DOI: 10.26693/jmbs05.01.079

УДК 616.24–018–06:577.118:613.32(043.5)

Ртайл Р. А.

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ РІЗНИХ ФАЗ РЕГЕНЕРАЦІЇ СКЕЛЕТНОЇ МУСКУЛАТУРИ ЩУРІВ ПІСЛЯ НАНЕСЕННЯ МЕХАНІЧНОЇ ТРАВМИ

Сумський державний університет, Україна

transmitter@ukr.net

Відомо, що процес відновлення скелетних м'язів відрізняється у кожному окремому організмі і залежить від ступеня пошкодження та природи ушкоджуючого фактору. Поряд із цим однією із проблем описання структурних особливостей відновного міогенезу є складність визначення чітких морфометричних параметрів, що можуть бути використані для статистичного порівняльного аналізу.

Метою дослідження стало вивчення гістоморфометричних особливостей різних фаз регенерації скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми.

У роботі було використано 50 лабораторних білих щурів–самців зрілого віку (7–9 місяців). Щури контрольної групи (10 тварин) не підлягали жодним маніпуляціям. Тваринам дослідної групи (40 щурів) було змодельовано механічну травму на триголовому м'язі литки. Дослідження структурних особливостей відновлення скелетних м'язів проводили на 3, 7, 14 та 28 добу після початку експерименту. Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопу Olympus BH–2 (Японія).

На 28–у добу експерименту місце дефекту у тварин дослідної групи було заповнено сполучнотканинно–м'язовим регенератом. Морфометричний аналіз показав, що відносна площа усіх м'язових волокон ($P < 0,001$), відносна площа сполучної тканини ($P < 0,001$), площа ушкодження ($P < 0,001$) та площа регенерації ($P < 0,001$) значущо відрізнялась у різні терміни експерименту, як у периферичній, так і у крайовій зонах регенерату.

Встановлено, що регенераторний процес скелетних м'язів щурів після їх механічного ушкодження завершується утворенням сполучнотканинно–м'язового регенерату. При цьому у різних зонах дефекту до завершення процесу відновлення зменшується площа сполучної тканини, зменшується площа ушкодження та зростає площа регенерації та загальна площа м'язових волокон.

Ключові слова: регенерація м'язів, механічна травма, морфометричний аналіз.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Представлена робота є складовою частиною науково–дослідної теми з держбюджетним фінансування «Молекулярно–генетичні та морфологічні особливості регенерації тканин нижньої кінцівки за умов хронічної гіперглікемії», № державної реєстрації 0117U003926.

Вступ. Скелетні м'язи являють собою свідомо контрольовану поперечно–посмуговану м'язову тканину, що забезпечує рівновагу тіла, переміщення його у просторі, теплопродукцію а також зовнішнє дихання. Виходячи із функцій та розташування скелетних м'язів, вони схильні до уражень, спричинених перерозтягненням, перенапруженням, мітоксичними агентами, ішемією, різними видами травм, дегенеративними процесами тощо. На сьогодні, найбільш поширеною причиною пошкодження м'язів вважається механічна травма [1]. Вона призводить до порушення цілісності базальної пластинки і плазматичної мембрани м'язового волокна (МВ), що викликає масивне затікання позаклітинних іонів кальцію [2] та у кінцевому рахунку призводить до деградації м'язових білків і некрозу [3]. Після цього відбувається фокальна дегенерація скелетного м'язу, що виявляє себе набуханням та утворенням гематоми [4]. Після початкової дегенерації розпочинається опосередкований м'язовими стовбуровими клітинами процес регенерації м'язів. У результаті останнього відбувається відновлення як структури ушкоджених МВ, так і їх функцій, зокрема здатності до скорочення та реалізації внутрішньоклітинного метаболізму.

Регенерація скелетних м'язів є складним явищем, що включає в себе багато регуляторних процесів, які вимагають близької співпраці між двома основними категоріями клітин: прогеніторами та оточуючими інтерстиційними клітинами. Шляхом безпосереднього контакту або через вивільнення активних молекул різні типи інтерстиційних клітин здатні підтримувати вміст стовбурових клітин у нормальній тканині або активізувати клітини–прогенітори під час м'язової регенерації [5].

На сьогодні існує низка підходів до класифікації стадійності процесу відновлення скелетних м'язів, більшість яких вказує на те, що регенерація пошкоджених м'язів відбувається у п'ять взаємопов'язаних та залежних від часу фаз, а саме: дегенерація (некроз), запалення, регенерація, ремоделювання та дозрівання (функціональне відновлення) [6]. При цьому слід відзначити, що не дивлячись на те, що етапність відновлення м'язів аналогічна у різних видів тварин, кінетика і амплітуда кожної фази можуть відрізнятися в кожному окремому організмі і можуть залежати від ступеня пошкодження та природи ушкоджуючого фактору.

Поряд із цим однією із проблем описання структурних особливостей відновного міогенезу, з якою стикаються вчені, є складність визначення чітких морфометричних параметрів, що можуть бути використані для статистичного порівняльного аналізу.

Мета дослідження – вивчення гістоморфометричних особливостей різних фаз регенерації скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми.

Матеріал та методи дослідження. У роботі було використано 50 лабораторних білих щурів-самців зрілого віку (7–9 місяців). Щури знаходились в умовах, що відповідали загальноприйнятим рекомендаціям, вимогам та положенням щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт з використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р., «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин»; «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); Гельсинська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000); положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Під час експерименту норми етики і моралі порушені не були. Тварини знаходились у приміщенні виварію за умов сталої температури повітря (24–25 °С), вологості (60±5%) та за умов 12-годинного циклу зміни температури та освітлення.

До складу першої групи (інтактний контроль) входило 10 щурів, які утримувались в умовах нормального харчового раціону та не підлягали жодним маніпуляціям.

До складу другої групи (експериментальна група) було віднесено 40 щурів. Механічну травму у цих тварин відтворювали на триголовому м'язі литки шляхом лінійного глибокого розрізу перпендику-

лярно ходу МВ з подальшим зіставленням та зшиванням країв рани. Перед операцією тваринам було внутрішньом'язово введено ксилазин (3 мг/кг) та кетамін (8 мг/кг).

Дослідження структурних особливостей відновлення скелетних м'язів у дослідних тварин проводили на 3, 7, 14 та 28 добу після моделювання механічної травми. Щурів із експерименту виводили по 10 істот у кожний термін шляхом передозування тіопенталового наркозу (4мг/100 г маси тіла).

З метою вивчення мікроскопічної будови відрепаровані ділянки м'яза з візуальним дефектом фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну протягом двох діб. Зразки зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації та проводили заливку в парафін. З одержаних препаратів робили позовжні (по ходу МВ) та поперечні (поперек МВ у місці дефекту) зрізи на санному мікротомі МС-2 з товщиною зрізів 4–6 мкм. Далі гістологічні зрізи фіксували на знежирені предметні скельця та висушували. Фарбування проводили гематоксилін-еозином та пікросиріусом червоним. У кожній підгрупі забір зразків триголового м'яза на гістологічний аналіз проводили від усіх 10 щурів.

Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопу Olympus BH-2 (Японія) (біокуляр x10, x15, об'єктиви x10, x20, x40). Фотографування гістологічних препаратів виконували цифровою камерою Baumer/optronic Typ: CX 05c. Мікроморфометричний аналіз здійснювали за допомогою мікросітки, мікролінійки та з використанням універсальної обчислювальної програми «Digimizer». Вивчення гістологічних препаратів проводили у зоні безпосереднього дефекту, у периферійній ділянці (зона м'язу, що безпосередньо прилягає до місця дефекту) та у прикрайовій ділянці (зона м'язу, що прилягає до неураженої частини органу). Морфометричний аналіз включав визначення кількості МВ різного типу, площі їх поперечного перетину, площі сполучної тканини, площі ушкодження (ПУ) та площі регенерації (ПР). Усі МВ були розділені на три типи: нормальні м'язові волокна (НМВ), пошкоджені м'язові волокна (ПМВ) та регенеруючі м'язові волокна (РМВ).

Статистичне опрацювання проводили із використанням пакету програм SPSS-17. Безперервні дані представлені у вигляді середнього арифметичного (M) та середнього квадратичного відхилення (SD). Величини на нормальність розподілу перевіряли за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Визначення достовірності відмінностей показників морфометричних параметрів між чотирма термінами експерименту проводили із використанням однофакторного дисперсійного аналізу для повторних вимірів. Останній був реалізований за

допомогою методу "узагальненої лінійної моделі" (GLM) з наступними апостеріорним тестом Бонферроні. Відмінність вважали достовірною, якщо значення P не перевищувало 0,05 ($P < 0,05$).

Результати дослідження. Проведений нами мікроскопічний аналіз триголового м'язу литки щурів інтактної групи показав, що він має класичну будову і складається з пучків посмугованих м'язових волокон (рис. 1А). Кожне м'язове волокно являє собою міосимпласт, що зовні оточений сарколемою та базальною мембраною. Ядра міосимпластів розміщені під клітинною мембраною вздовж пучків міофібрил, якими заповнена саркоплазма.

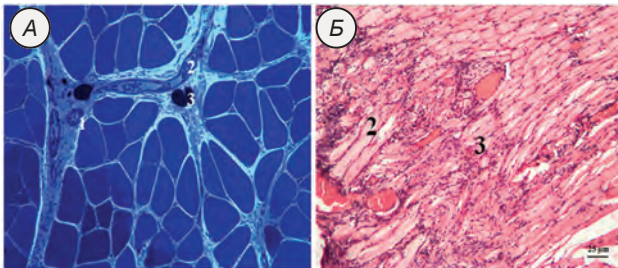


Рис. 1. Триголовий м'яз литки щурів інтактної групи (А) та ділянка дефекту триголового м'язу литки щура дослідної групи на 28-у добу після нанесення травми (Б)
А: артеріола (1), венула (2), нерве волокно (3). Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. Зб. х 200
Б: артеріола (1), м'язові волокна (2), капіляри (3). Забарвлення гематоксиліном і еозиним. Зб. х 200

Структурний аналіз відновного міогенезу триголового м'язу литки у щурів дослідної групи на 3-у добу після нанесення механічної травми показав виражену інфільтрацію місця дефекту еритроцитами, нитками фібрину, фібробластами та клітинами лейкоцитарного ряду. Процес відновлення скелетного м'язу на цьому етапі також характеризувався посиленням утворення судин.

На 7-у добу експерименту м'язові волокна, що знаходились у близькій до некрозу ділянці, були значно дезорганізованими. У цьому місці спостерігався перивазальний набряк та повнокрів'я судин. Центральне місце травматичного дефекту було заповнено значною кількістю фібробластів та пучків колагенових волокон.

На 14-у добу у місці м'язового регенерату щурів експериментальної групи відзначалась значна кількість міогенних клітин різної фо-

рми та розмірів, що розташовувались поміж елементів сполучної тканини. Спостерігалось активне проростання місця травматизації мікросудинами.

На 28-у добу експерименту місце дефекту у тварин дослідної групи було заповнено сполучнотканинно-м'язовим регенератом (рис. 1Б). Подальший розвиток міогенних клітин у класичні міосимпласти не відзначався.

Результати підрахунку кількості МВ у зоні відновного міогенезу щурів у різні терміни після нанесення механічної травми наведені у таблиці 1.

Математичний аналіз показав, що загальна кількість МВ у периферійній зоні регенерату значущо відрізнялась у різні терміни дослідження ($P < 0,001$) і стрімко зростала, починаючи із 14-ї доби. Схожі результати були отримані при дослідженні прикорової зони ($P < 0,001$), проте достовірне зростання загальної кількості МВ відзначалось лише наприкінці експерименту ($P < 0,001$). Кількість НМВ у периферійній і крайовій зонах також була різною у різні терміни дослідження ($P < 0,001$), поступово зростаючи при цьому на кожному етапі ($P < 0,001$). Кількість ПМВ достовірно зменшувалась, як у периферійній, так і у крайовій зонах ($P < 0,001$), а кількість РМВ починала статистично значущо наростати з 7-ї доби дослідження, досягаючи свого максимуму на 28-у добу ($P < 0,001$).

У таблиці 2 представлені результати виміру площі різних компонентів м'язового регенерату

Таблиця 1 – Кількість різних м'язових волокон у ділянці регенерату скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми

Доба	Загальна кількість м'язових волокон		Кількість нормальних м'язових волокон	
	Периферійна зона	Крайова зона	Периферійна зона	Крайова зона
3	273,40±20,8	482,80±29,5	63,0±4,8	347,6±21,1
7	281,60±32,9	498,10±31,7	56,4±6,6 *	343,7±21,8
14	481,00±31,7 *	499,70±32,1	72,2±4,8 *	339,6±21,7
28	674,20±51,1 *	608,80±33,8 *	114,6±8,5 *	401,8±22,4 *
	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,001$
Доба	Кількість пошкоджених м'язових волокон		Кількість регенеруючих м'язових волокон	
	Периферійна зона	Крайова зона	Периферійна зона	Крайова зона
3	210,4±15,9	135,2±8,9	–	–
7	202,7±23,7	129,5±8,3	22,5±2,7	25,1±1,7
14	197,2±12,9	59,9±3,9 *	211,5±14,1 *	100,1±6,3 *
28	47,4±3,5 *	18,3±1,1 *	512,3±38,7 *	188,8±10,4 *
	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,001$

Примітки: Результати представлені у вигляді $M \pm SD$. P – відображає достовірність відмінностей показників між усіма термінами експерименту (відповідно до методу узагальненої лінійної моделі); * – вказує на наявність достовірної відмінності показників між вказаним терміном експерименту та попереднім терміном (відповідно до апостеріорного тесту Бонферроні).

Таблиця 2 – Показники площі різних структурних компонентів ділянки регенерату скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми

Доба	Відносна площа м'язових волокон (%)		Відносна площа сполучної тканини (%)	
	Перицентральнона зона	Крайова зона	Перицентральнона зона	Крайова зона
3	35,21±3,1	63,73±4,5	63,78±3,1	36,26±4,5
7	33,67±4,9	61,98±5,1	66,32±4,9	38,01±4,1
14	43,18±5,2 *	54,61±4,1 *	56,82±5,2 *	45,38±4,1 *
28	57,3±6,3 *	64,02±5,7 *	42,73±6,3 *	35,97±5,7 *
	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001
Доба	Площа ушкодження (%)		Площа регенерації (%)	
	Перицентральнона зона	Крайова зона	Перицентральнона зона	Крайова зона
3	77,22±2,2	28,83±3,1	–	–
7	77,61±2,8	30,14±4,1	0,91±0,61	0,55±0,3
14	66,66±7,5 *	17,48±4,8 *	12,60±5,9 *	5,74±1,1 *
28	20,86±11,7 *	5,69±2,6 *	55,76±11,4 *	20,02±3,1 *
	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001	P < 0,001

Примітки: Результати представлені у вигляді M±SD. P – відображає достовірність відмінностей показників між усіма термінами експерименту (відповідно до методу узагальної лінійної моделі); * – вказує на наявність достовірної відмінності показників між вказаним терміном експерименту та попереднім терміном (відповідно до апостеріорного тесту Бонферроні).

щурів у різні терміни після нанесення механічної травми.

Показано, що як і загальна кількість МВ, відносна площа усіх МВ статистично значущо відрізнялась у різні строки експерименту, як у периферичній, так і у крайовій зоні (P<0,001), поступово зростаючи при цьому із кожним наступним терміном. Відносна площа сполучнотканинних елементів м'язового регенерату також достовірно відрізнялась на різних етапах дослідження, проте, навпаки, виявила тенденцію до зменшення і у периферичній зоні, і у крайовій (P<0,001). Разом із цим значущо меншою, починаючи із 14-ї доби ставала площа ураження, як у периферичній ділянці регенерату, так і у крайовій його зоні (P<0,001). Щодо площі регенерації, то вона значущо збільшувалась у різні строки експерименту, більшою мірою – у периферичній зоні (P<0,001), та меншою – у крайовій (P<0,001).

Обговорення отриманих результатів. Отримані у представленій роботі результати вказують на те, що після механічної травматизації процес відновлення скелетної мускулатури щурів завершується утворенням сполучнотканинно-м'язового регенерату. Схожі результати були отримані у роботі Венгерович та співавт. при дослідженні посттравматичної регенерації скелетних м'язів після вибухової травми [7]. Авторами було показано, що заключним етапом відновлення посмугованих м'язів за таких умов є також формування сполучнотканинно-м'язового регенерату, в якому переважають елементи сполучної тканини, міститься значна кількість МВ атипової форми та зберігається неповноцінність мікроциркуляторного русла. Разом із цим Лебєдєва та співавт. продемонстрували, що через 30 днів після травматичного ушкодження посмугованих м'язів щурів у зоні дефекту спостерігається регенерат, що складається з м'язової, сполучної та жирової тканин [8].

Важливою задачею нашої роботи став пошук та вивчення морфометричних показників м'язової регенерації, що можуть бути використані для точного математичного аналізу під час дослідження процесів відновного міогенезу за умов впливу на організм різних факторів зовнішнього та внутрішнього середовища. Достовірні зміни під час різних фаз регенераторного процесу посмугованих м'язів спостерігались у показниках кількості МВ різного типу та у показниках площі різних компонентів регенерату. Характер та динаміка змін повністю відповідали гістологічній картині. Подібні результати були отримані дослідницею групою Nguyen et al. під час вивчення відновлення скелетних м'язів після їх ураження кардіотоксином [9]. Було показано, що починаючи з 5-ї доби у зоні регенерату починає зростати кількість РМВ та збільшується загальна площа регенерації. Разом із цим авторами показано, що відновний міогенез після хімічної травматизації, завершується повним відновленням структури та функції ураженого м'яза.

Висновки

1. Регенераторний процес скелетних м'язів щурів після їх механічного ушкодження завершується утворенням сполучнотканинно-м'язового регенерату.
2. У різних зонах дефекту до завершення процесу відновлення зменшується площа сполучної тканини, зменшується площа ушкодження та зростає площа регенерації та загальна площа м'язових волокон.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні структурних та ультраструктурних характеристик посттравматичного відновлення посмугової мускулатури щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

References

- Huard J, Li Y, Fu FH. Muscle injuries and repair: current trends in research. *J Bone Jt Surg Am.* 2002; 84–A(5): 822e32. doi: 10.2106/00004623-200205000-00022
- Jarvinen TA, Kaariainen M, Jarvinen M, Kalimo H. Muscle strain injuries. *Curr Opin Rheumatol.* 2000; 12(2): 155e61. PMID: 10751019. doi: 10.1097/00002281-200003000-00010 Pierre BA, Tidball JG. Differential response of macrophage subpopulations to soleus muscle reloading after rat hindlimb suspension. *J Appl Physiol.* 1994; 77(1): 290e7. PMID: 7961247. doi: 10.1152/jappl.1994.77.1.290
- Aragno M, Mastrocola R, Catalano M, Brignardello E, Danni O, Boccuzzi G. Oxidative stress impairs skeletal muscle repair in diabetic rats. *Diabetes.* 2004; 53: 1082–1088. PMID: 15047625. DOI: 10.2337/diabetes.53.4.1082
- Chang NC, Rudnicki MA. Satellite cells: the architects of skeletal muscle. *Curr Top Dev Biol.* 2014; 107: 161e81. PMID: 24439806. doi: 10.1016/B978-0-12-416022-4.00006-8
- Krause M, Al-Sajee D, D'Souza D, Rebalka I, Moradi J, Riddell M. Impaired macrophage and satellite cell infiltration occurs in a muscle-specific fashion following injury in diabetic skeletal muscle. *PLoS ONE.* 2013; 8: e70971. PMID: 23951058. PMCID: PMC3741394. doi: 10.1371/journal.pone.0070971
- Vengerovich N, Shperling I, Yurkevich Yu, Vladimirova O, Alekseyeva I, Shulepov A. Morphologicheskaya harakteristika posttravmaticheskoy regeneracii skeletnykh muskulov pri eksperimentalnoy vuzruvnoy travme [Morphological characteristics of posttraumatic skeletal muscle regeneration after experimental blast injury]. *Bulleten of Siberian Medicine.* 2015; 14(4): 17–24. [Russian]
- Lebedeva A, Muslimov S, Musina L, Gareev E. Rol makrofagov v regeneracii skeletnoy muskulnoy tkani laboratornykh zhivotnykh, inducirovannoy biomaterialom Alloplant [The role of macrophages in the regeneration of skeletal muscle tissue laboratory animals, induced by the Alloplant biomaterial]. *Biomedicina.* 2014; 2: 43–50. [Russian]
- Nguyen M, Cheng M, Koh T. Impaired muscle regeneration in ob/ob and db/db mice. *Sci World J.* 2011; 11: 1525–1535. PMID: 21805021. PMCID: PMC5720064. doi: 10.1100/tsw.2011.137

УДК 616.24–018–06:577.118:613.32(043.5)

ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАЗЛИЧНЫХ ФАЗ РЕГЕНЕРАЦИИ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ КРЫС ПОСЛЕ НАНЕСЕНИЯ МЕХАНИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Ртайл Р. А.

Резюме. Известно, что процесс восстановления скелетных мышц отличается в каждом отдельном организме и зависит от степени повреждения и природы повреждающего фактора. Наряду с этим, одной из проблем описания структурных особенностей восстановительного миогенеза является сложность определения четких морфометрических параметров, которые могут быть использованы для статистического сравнительного анализа.

Целью исследования стало изучение гистоморфометрических особенностей различных фаз регенерации скелетных мышц крыс после нанесения механической травмы.

Исследование проведено на 50 лабораторных белых крысах–самцах зрелого возраста (7–9 месяцев). На крысах контрольной группы (10 животных) не было выполнено никаких манипуляций. У животных опытной группы (40 крыс) была смоделирована механическая травма на трехглавой мышце икры. Исследование структурных особенностей восстановления скелетных мышц проводили на 3, 7, 14 и 28 сутки после начала эксперимента. Световую микроскопию проводили с использованием микроскопа Olympus BH–2 (Япония).

На 28–й день эксперимента место дефекта у животных опытной группы было заполнено соединительнотканно–мышечным регенератом. Морфометрический анализ показал, что относительная площадь всех мышечных волокон ($P < 0,001$), относительная площадь соединительной ткани ($P < 0,001$), площадь повреждения ($P < 0,001$) и площадь регенерации ($P < 0,001$) значительно отличалась в разные сроки эксперимента, как в периферической, так и в краевой зонах регенерата.

Установлено, что регенераторный процесс скелетных мышц крыс после их механического повреждения завершается образованием соединительнотканно–мышечного регенерата. При этом в разных зонах дефекта до завершения процесса восстановления уменьшается площадь соединительной ткани, уменьшается площадь повреждения и растет площадь регенерации и общая площадь мышечных волокон.

Ключевые слова: регенерация мышц, механическая травма, морфометрический анализ.

UDC 616.24–018–06: 577.118: 613.32 (043.5)

**Histomorphometric Analysis of Different Phases
of Skeletal Muscle Regeneration after Mechanical Injury**

Rtail R. A.

Abstract. It is known that process of skeletal muscle recovery differs in each individual organism and depends on the damage degree and damaging factor nature. Along with this, one of the problems in describing skeletal myogenesis structural features is difficulty of clear determining morphometric parameters that can be used for statistical comparative analysis.

The purpose of research was to study the histomorphometric features of different stages of skeletal muscle regeneration in rats after mechanical injury.

Materials and methods. 50 laboratory white male rats (7–9 months) were used for the study. Control rats (10 animals) were not subjected to any manipulation. Triceps surae muscle mechanical injury was reproduced in experimental group animals (40 rats). Structural features of skeletal muscle recovery were studied on the 3rd, 7th, 14th and 28th days after mechanical injury. Light microscopy was performed using Olympus BH–2 microscope (Japan). Morphometric analysis included determination of different muscle fibers number, their cross-sectional area, connective tissue area, damage area and regeneration area. SPSS–17 software package was used for statistical analysis. The reliability of differences in morphometric parameters between four terms of experiment was performed using one–way ANOVA for repeated measurements. The difference was considered significant if the P value did not exceed 0.05 ($P < 0.05$).

Results and discussion. On the 28th day of experiment the defect site in experimental animals was filled with connective tissue and muscle fibers. Morphometric analysis showed that all muscle fibers relative area ($P < 0.001$), connective tissue relative area ($P < 0.001$), damage area ($P < 0.001$), and regeneration area ($P < 0.001$) differed significantly at different stages of the experiment both in pericentral and in marginal zones of regeneration site.

Conclusion. The obtained results showed that regenerative process of rats striated muscles after mechanical injury was completed by the formation of connective tissue–muscle regenerate. At the same time, in different parts of muscle defect, there was a decrease of connective tissue area and damage area, while regeneration area and muscle fibers total area were increased till the completion of skeletal muscles recovery process.

Keywords: muscle regeneration, mechanical trauma, morphometric analysis.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 02.08.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування