

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**РТАЙЛ РАЄД АБДАЛЛАХ**

УДК: 616.74:616.151.1-008.9-092.19:612.748.5(043.5)

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГЕНЕРАЦІЇ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ  
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ**

222 – «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ Ртайл Р.А.

Наукові керівники:

**Ткач Геннадій Федорович**, доктор медичних наук, професор

**Мухамед Нассер**, доктор філософії

Суми – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Ртайл Р.А.* Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина». – Сумський державний університет, Суми, 2021.

Сумський державний університет, Суми, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вивченню структурних особливостей регенерації скелетних м'язів щурів на різних етапах відновного гістогенезу за умов дії на організм хронічної гіперглікемії, а також з'ясуванню можливості корекції процесу м'язового відновлення в умовах хронічної гіперглікемії за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми.

В експерименті було використано 140 лабораторних білих щурів-самців зрілого віку (7-9 місяців), які були розподілені на чотири групи: I – група із механічної травмою триголового м'яза литки (ТМЛ) – контрольна група (40 щурів); II – тварини із механічним ушкодженням ТМЛ та змодельованою хронічною гіперглікемією (ХГ) (40 щурів); III – щури з механічною травмою ТМЛ, експериментальною ХГ та введенням у ділянку пошкодження м'яза збагаченої тромбоцитами плазми (ЗТП) (40 щурів); IV-А (10 щурів) та IV-Б (10 щурів) – група для підтвердження використаної в експерименті моделі ХГ.

Моделювання ХГ у тварин II, III та IV-Б груп проводили за допомогою двотижневого навантаження 10 % водним розчином фруктози, одноразового введення стрептозотоцину (40 мг/кг) («Sigma-Aldrich», США) та нікотинової кислоти (1 мг/кг). Механічну травму щурам I, II і III груп відтворювали на 60-у добу після симуляції ХГ шляхом лінійного глибокого розрізу перпендикулярно ходу м'язових волокон з подальшим зіставленням та зшиванням країв рани.

Вивчення особливостей регенерації скелетних м'язів в усіх групах проводили на 3-у, 7-у, 14-у та 28-у добу після нанесення травми за допомогою

органометричного, лабораторного, морфометричного, мікроскопічного, ультрамікроскопічного, хіміко-аналітичного та статистичного методів. Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопу Olympus BH-2 (Японія). Ультрамікроскопічне дослідження виконували за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ-100м (Суми, Україна). Статистичне опрацювання числових даних проводили за допомогою пакету програм SPSS (версія 17.0, США).

Встановлено, що у щурів без хронічної гіперглікемії посттравматичне відновлення триголового м'яза литки завершується формуванням сполучнотканинно-м'язового регенерату. Протягом відновного міогістогенезу відбувається збільшення кількості регенеруючих м'язових волокон (до  $(512,3 \pm 38,7)$  шт/мм<sup>2</sup>), площі регенерації (до  $(66,6 \pm 2,8)$  %) та новоутворених судин (до  $(27,0 \pm 2,1)$  шт/поле зору). Сполучна тканина найбільшу площу м'яза займає на 14-у добу після травмування (до  $(57,6 \pm 5,0)$  %), поступово зменшуючись до 28-ї доби (до  $(39,1 \pm 3,0)$  %).

Підрахунок кількості судин у посттравматичному регенераті контрольних тварин на 28-у добу після нанесення травми показав, що загальний уміст мікросудин у перицентральної зоні становив  $((27,0 \pm 2,1)$  шт/поле зору), а у крайовій зоні судин було  $((24,3 \pm 1,5)$  шт/поле зору). Ознаки запальної інфільтрації в посттравматичних дефектах триголового м'яза литки щурів без метаболічних розладів не виявлялись лише на 28-у добу після нанесення травми.

Результати спектрофотометричного визначення вмісту різних хімічних елементів у ТМЛ щурів контрольної групи на 28-у добу після нанесення механічної травми показали, що концентрація К склала  $((3,86 \pm 0,30)$  мг/г), Na –  $((0,75 \pm 0,14)$  мг/г), Ca –  $((0,38 \pm 0,03)$  мг/г), Mg –  $((0,39 \pm 0,09)$  мг/г), Fe –  $((20,31 \pm 2,09)$  мкг/г), Zn –  $((92,49 \pm 10,22)$  мкг/г), Cu –  $((0,36 \pm 0,05)$  мкг/г).

Виявлено, що експериментальна хронічна гіперглікемія чинить негативний вплив на процес посттравматичного відновлення триголового м'яза литки щурів. Структурними проявами цього виступають зменшення кількості

новоутворених м'язових волокон (на 26,8 %;  $p < 0,001$ ), недосконалість їх внутрішньоклітинної організації, зменшення загальної площі регенерації (на 21,7 %;  $p < 0,001$ ) наявність значної кількості пошкоджених м'язових волокон на 28-у добу після нанесення травми (до  $(150,1 \pm 14,0)$  шт/мм<sup>2</sup>;  $p < 0,001$ ), зменшення інтенсивності неоангіогенезу (на 40,0 %;  $p < 0,001$ ), посилений розвиток сполучної тканини (на 7,3 %;  $p = 0,006$ ) та стійка персистенція клітин лейкоцитарного ряду з переважанням гранулоцитів на фоні дефіциту агранулоцитів.

Крім цього, у посттравматичному регенераті візуалізувались структурно змінені макрофаги, вакуолі, міхурці різного розміру, судини мікроциркуляторного русла, які зберігали свою неповноцінність, а також деструктивно змінені міосателітоцити, навколо яких відмічалися залишки органел та пучки міофібрил.

Результати визначення вмісту хімічних елементів у ТМЛ щурів із ХГ на 28-у добу після нанесення травми показали, що лише концентрація К значущо не відрізнялась від контрольних значень ( $p = 0,176$ ). Уміст Na у скелетних м'язах щурів із ХГ, порівняно із контролем, був вищим на 17,3 % ( $p = 0,031$ ), а вміст Mg – на 28,2 % ( $p = 0,015$ ). Концентрація Ca у ТМЛ щурів дослідної групи була меншою на 13,2 % ( $p = 0,008$ ), Fe – на 9,7 % ( $p = 0,025$ ), Zn – на 78,7 % ( $p < 0,001$ ), Cu – на 19,4 % ( $p = 0,033$ ), ніж у контрольній групі.

Ведення збагаченої тромбоцитами плазми у місце посттравматичного дефекту посмугованого м'яза литки тварин із хронічною гіперглікемією сприяє більш ефективному процесу регенерації. Було встановлено, що застосування збагаченої тромбоцитами плазми після механічної травми триголового м'яза литки щурів із експериментальною хронічною гіперглікемією призводить до зростання кількості новоутворених м'язових волокон (на 25,6 %;  $P < 0,001$ ), площі регенерації (на 13,1 %;  $p < 0,001$ ), посилення неоангіогенезу (на 54,3 %;  $p < 0,001$ ), зменшенню ступеня фіброзу (на 8,3 %;  $p = 0,001$ ), а також практичній нормалізації перебігу запального процесу.

Гістологічний аналіз виявив велику кількість судин мікроциркуляторного русла різного калібру та діаметру. Ультраструктурний аналіз показав, що цитоплазма новоутворених м'язових клітин містила здебільшого правильної форми ядра, значну кількість мітохондрії в перинуклеарному просторі та пучки міофібрил із хвилястою і частково розірваною Z-лінією.

Хіміко-аналітичне дослідження у цій групі щурів показало, що концентрація K становила  $((3,84 \pm 0,32)$  мг/г), Ca –  $((0,36 \pm 0,05)$  мг/г), Mg –  $((0,43 \pm 0,06)$  мг/г), Fe –  $((19,12 \pm 2,31)$  мкг/г), Cu –  $((0,31 \pm 0,09)$  мкг/г). Статистично достовірних відмінностей у значеннях вмісту наведених вище хімічних елементів під час порівняння із контрольною та основною дослідною групою виявлено не було ( $p > 0,05$ ). Концентрація Na у ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП становила  $((0,74 \pm 0,12)$  мг/г), що не відрізнялось від контрольної серії ( $p = 0,999$ ) і було при цьому на 16,9 % менше, ніж у щурів із ХГ ( $p = 0,038$ ). Уміст Zn у ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 28-у добу дослідження становив  $((58,02 \pm 31,31)$  мкг/г), що одночасно було на 37,3 % менше, ніж у контрольній групі ( $p = 0,001$ ), і на 194,5 % більше, ніж у тварин групи ХГ ( $p < 0,001$ ).

Наукова новизна. З'ясовано, що хронічна гіперглікемія під час відновного міогістогенезу зменшує інтенсивність утворення нових м'язових волокон, призводить до порушення внутрішньоклітинної організації міосимпатів, суттєво гальмує процес ангіогенезу, пришвидшує утворення елементів сполучної тканини, послаблює міграцію агранулоцитів у вогнище ушкодження та сприяє стійкій персистенції в ньому гранулоцитарних лейкоцитів.

Виявлено, що хронічна гіперглікемія впливає на макро- та мікроелементний склад скелетних м'язів під час їх посттравматичної регенерації, призводячи до зменшення вмісту кальцію, заліза, цинку та міді, та накопичення натрію і магнію.

Уперше проведено морфологічне дослідження впливу збагаченої тромбоцитами плазми крові на перебіг посттравматичної регенерації скелетних м'язів в умовах впливу на організм хронічної гіперглікемії. Установлено, що збагачена тромбоцитами плазма значно підвищує ефективність процесу

м'язового відновлення, зміщуючи його від розвитку сполучнотканинного рубця в бік утворення повноцінного м'язового органу.

Практичне значення. Розкриття структурних особливостей відновлення скелетних м'язів щурів на фоні хронічної гіперглікемії значно розширюють знання про специфіку репаративної регенерації посмугованої мускулатури за умов впливу на організм пошкоджуючих факторів, а також відкривають шлях до більш ефективного та поглибленого пошуку потенційних способів корекції цього процесу з метою стимулювання відновлення скелетних м'язів в осіб із метаболічними розладами.

Експериментально доведено ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми для покращення процесу регенерації скелетних м'язів в умовах впливу на організм хронічної гіперглікемії, що дозволяє рекомендувати застосування цього засобу для посилення процесів відновної регенерації посмугованих м'язів в осіб із хронічною гіперглікемією.

*Ключові слова:* скелетні м'язи, регенерація, гіперглікемія, збагачена тромбоцитами плазма, PRP, морфологія, стрептозотонин, триголовий м'яз литки, структура.

## ANNOTATION

*Rtail R.A.* Morphological features of skeletal muscles regeneration under the condition of experimental hyperglycemia. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis submitted for the degree of a Doctor of Philosophy by specialty 222 – «Medicine». – Sumy State University, Sumy, 2021.

Sumy State University, Sumy, 2021.

The dissertation is devoted to the study of structural features of skeletal muscle regeneration of rats at different stages of restorative histogenesis under the influence

of chronic hyperglycemia, as well as to elucidate the possibility of correcting the process of muscle recovery under chronic hyperglycemia by platelet-rich plasma.

140 white laboratory male rats (age – 7-9 months) were used for experiment. All animals were divided into four groups: I – control group – animals with mechanical injury of the triceps surae muscle (TSM) (40 rats); II – animals with simulated chronic hyperglycemia (CH) and TSM mechanical injury (40 rats); III – animals with experimental CH, TSM and platelet-rich plasma (PRP) injection into muscle damage area (40 rats); IV-A (10 rats) and IV-B (10 rats) animals for glucose homeostasis evaluation and experimental CH confirmation.

The rats of II, III and IV-B groups have been consuming 10 % aqueous fructose solution instead of drinking water during 2 weeks. Then single intraperitoneal injection of streptozotocin (40 mg/kg, Sigma-Aldrich, USA) and nicotinic acid (1 mg/kg) for each animal was performed. Mechanical injury of TSM was modeled in rats of I, II and III groups 60 days after CH simulation. Muscle trauma was reproduced by linear incision perpendicular to muscle fibers course followed by wound edges comparison and stitching.

The morphological features of skeletal muscle regeneration in all groups were studied at 3, 7, 14, and 28 days after mechanical injury using organometric, laboratory, morphometric, microscopic, ultramicroscopic, chemical-analytical and statistical methods. Olympus BH-2 microscope (Japan) was used for light microscopy. Ultramicroscopic examination was performed using an electron microscope PEM-100m (Sumy, Ukraine). Statistical analysis was performed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS, version 17.0, USA).

It was revealed that in rats without chronic hyperglycemia, the posttraumatic recovery of the triceps surae muscle results in the formation of fibro-muscle regenerate. During restorative myohistogenesis there is an increase in the number of regenerating muscle fibers (up to  $(512.3 \pm 38.7)$  pcs/mm<sup>2</sup>), the area of regeneration (up to  $(66.6 \pm 2.8)$  %) and newly formed vessels (up to  $(27.0 \pm 2.1)$  pcs/field of view). The connective tissue occupies the largest muscle area on the 14<sup>th</sup> day after

injury (up to  $(57.6 \pm 5.0)$  %), gradually decreasing until the 28<sup>th</sup> day (up to  $(39.1 \pm 3.0)$  %).

Counting the number of vessels in the post-traumatic regenerate of control animals on the 28<sup>th</sup> day after the injury showed that the total content of microvessels in the pericentral area was  $((27.0 \pm 2.1)$  pcs/field of view), in the marginal area –  $((24.3 \pm 1.5)$  pcs/field of view). Signs of inflammatory infiltration in posttraumatic defects of the TSM of rats without metabolic disorders were not detected only on the 28<sup>th</sup> day after injury.

The results of spectrophotometric determination of the content of various chemical elements in the TSM of control rats on the 28<sup>th</sup> day after mechanical injury showed that the concentration of K was  $((3.86 \pm 0.30)$  mg/g), Na –  $((0.75 \pm 0.14)$  mg/g), Ca –  $((0.38 \pm 0.03)$  mg/g), Mg –  $((0.39 \pm 0.09)$  mg/g), Fe –  $((20.31 \pm 2.09)$   $\mu$ g/g), Zn –  $((92.49 \pm 10.22)$   $\mu$ g/g), Cu –  $((0.36 \pm 0.05)$   $\mu$ g/g).

Experimental chronic hyperglycemia was found to have a negative impact on the process of post-traumatic skeletal muscle recovery. The structural manifestations of this are a decrease in the number of newly formed muscle fibers (by 26.8%;  $p < 0.001$ ), the imperfection of their intracellular organization, a decrease in the total area of regeneration (by 21.7%;  $p < 0.001$ ) the presence of a significant number of damaged muscle fibers on the 28<sup>th</sup> day after injury (up to  $(150.1 \pm 14.0)$  pcs/mm<sup>2</sup>;  $p < 0.001$ ), a decrease in the intensity of neoangiogenesis (by 40.0%;  $p < 0.001$ ), increased connective tissue development (by 7.3%;  $p = 0.006$ ) and stable persistence of leukocyte cells with a predominance of granulocytes on the background of agranulocyte deficiency.

Moreover, structurally altered macrophages, vacuoles, vesicles of various sizes, vessels of the microcirculatory tract with imperfect walls, as well as destructively altered myosatellitocytes and remnants of organelle and myofibr bundles were observed in the posttraumatic regenerate.

The results of determining the content of chemical elements in the TSM of rats with CH on the 28<sup>th</sup> day after the mechanical injury showed that only the concentration of potassium did not differ significantly from the control values ( $P =$



0.176). The sodium content in the skeletal muscle of rats with chronic hyperglycemia was 17.3 % higher ( $p = 0.031$ ), and the Mg content was 28.2% higher ( $p = 0.015$ ) than in the control group. The concentration of Ca in the TSM of rats of the experimental group was lower by 13.2% ( $p = 0.008$ ), Fe – by 9.7% ( $p = 0.025$ ), Zn – by 78.7% ( $p < 0.001$ ), Cu – by 19.4% ( $p = 0.033$ ) than in the control group.

The injection of the platelet-rich plasma into the site of the post-traumatic striated muscle defect of rats with chronic hyperglycemia promotes a more efficient regeneration process. It was found that the use of PRP after mechanical trauma of the TSM of rats with experimental CH leads to an increase in the number of newly formed muscle fibers (by 25.6%;  $p < 0.001$ ), to increased regeneration area (by 13.1%;  $p < 0.001$ ), to increased neoangiogenesis (by 54.3%;  $p < 0.001$ ), to reduced the degree of fibrosis (by 8.3%;  $p = 0.001$ ), as well as to the practical normalization of the inflammatory process.

The histological analysis revealed a large number of microcirculatory vessels of various calibers and diameters. Ultrastructural analysis showed that the cytoplasm of the newly formed muscle cells contained mostly regular-shaped nuclei, a significant amount of mitochondria in the perinuclear space, and the bundles of myofibrils with a wavy and partially ruptured Z-line.

The chemical-analytical study in this group of rats showed that the concentration of K was  $((3.84 \pm 0.32) \text{ mg/g})$ , Ca –  $((0.36 \pm 0.05) \text{ mg/g})$ , Mg –  $((0.43 \pm 0.06) \text{ mg/g})$ , Fe –  $((19.12 \pm 2.31) \mu\text{g/g})$ , Cu –  $((0.31 \pm 0.09) \mu\text{g/g})$ . There were no statistically significant differences in the values of the content of the above chemical elements during comparison with the control and main experimental groups ( $p > 0.05$ ). The concentration of sodium in the TSM of animals with CH and PRP injection was  $((0.74 \pm 0.12) \text{ mg/g})$ , which did not differ from the control series ( $p = 0.999$ ), and was 16.9 % less than in rats with CH ( $p = 0.038$ ). The zinc content in the TSM of rats with CH and PRP using was  $((58.02 \pm 31.31) \mu\text{g/g})$ , which was 37.3% less than in the control group ( $p = 0.001$ ), and 194.5 % more than in animals with CH ( $p < 0.001$ ).

Scientific novelty. It was established that chronic hyperglycemia reduces the intensity of new muscle fibers formation during the restorative myohistogenesis as well as leads to disruption of intracellular organization of myosimplasts, significantly inhibits the process of angiogenesis, accelerates the formation of connective tissue elements, weakens the migration of agranulocytes into the defect site, and contributes to the persistent of granulocytes.

It was found that chronic hyperglycemia affects the macro- and micronutrient composition of skeletal muscle during their post-traumatic regeneration, leading to a decrease in calcium, iron, zinc and copper, and the accumulation of sodium and magnesium.

For the first time, the morphological study of the effect of platelet-rich plasma on the course of post-traumatic skeletal muscle regeneration under the influence of chronic hyperglycemia was conducted. It has been proved that autologous platelet-rich plasma injection significantly promotes the skeletal muscle recovery process in rats with chronic hyperglycemia, shifting it away from fibrosis toward the complete muscular organ formation.

Practical meaning. The disclosure of structural features of skeletal muscle recovery in rats under the condition of chronic hyperglycemia significantly expands the knowledge about the specifics of reparative regeneration of striated muscles under the influence of damaging factors, as well as paves the way for more effective and in-depth search for potential ways of skeletal muscle recovery corrections in patients with metabolic disorders.

The use of platelet-rich plasma to improve skeletal muscle regeneration under chronic hyperglycemia has been experimentally proven, which suggests the use of this method to enhance the regeneration of striated muscle in people with chronic hyperglycemia.

*Key words:* skeletal muscle, regeneration, hyperglycemia, platelet-rich plasma, PRP, morphology, streptozotocin, triceps surae muscle, structure.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ АВТОРА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Ртайл, Р.А. & Ткач, Г.Ф. (2018). Вивчення особливостей макро- та мікроелементного складу скелетних м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 3(63), 185-189. (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії, виконав статистичне опрацювання даних, підготував статтю до друку)

2. Ртайл, Р.А., Максимова, О.С., Берчанов, О.М. & Ткач, Г.Ф. (2019). Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*, 2(154), 312-316. (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії та м'язової травми, провів структурний аналіз та статистичне опрацювання, підготував статтю до друку)

3. Rtail, R., Maksymova, O., Iliashenko, V., Gortynska, O., Korenkov, O., Moskalenko, P., Nasser, M. & Tkach G. (2020). Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. *BioMed Research International*, 2020, ID 6980607. (обліковується наукометричними базами Scopus та Web of Science) (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії, механічної травми, приготування та введення збагаченої тромбоцитами плазми, виконав структурний аналіз, підготував статтю до друку).

4. Ртайл, Р.А. (2020). Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 1(23), 79-84. (здобувач змодельовав механічну м'язову травму, провів структурний та статистичний аналіз, підготував матеріал до друку)

5. Ртайл, Р.А. & Ткач, Г.Ф. (2020). Хіміко-аналітична характеристика різних фаз регенерації посмугованих м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії. *Український журнал з проблем медицини праці*, 16(1), 70-76. (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії та м'язової травми, провів хіміко-

аналітичне дослідження, опрацював літературні джерела, підготував статтю до друку)

6. Ртайл, Р.А., Максимова, О.С., & Ткач, Г.Ф. (2020). Ультраструктурний аналіз регенерації скелетних м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. *Вісник проблем біології і медицини*, 3(157), 524-529. (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії та м'язової травми, провів описовий ультраструктурний аналіз, підготував статтю до друку)

7. Ртайл, Р.А., Муравський, Д.В. & Ткач, Г.Ф. Мікроскопічна характеристика особливостей ранніх стадій регенерації скелетних м'язів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії // Збірник науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології», м. Вінниця, 21-22 вересня 2017 р. – С. 142-144.

8. Ртайл, Р.А., Ткач, Г.Ф., Дубовик, Є.І. & Максимова, О.С. Моніторинг хімічного складу посмугованих м'язів за умов хронічної гіперглікемії організму // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання», м. Івано-Франківськ, 26-27 жовтня 2017 р. – С. 86.

9. Rtail, R., Tkach, G., Maksymova, O., Dubovyk, Ye., & Muravskiy D. Structure characteristics of the early stages of skeletal muscles regeneration under chronic hyperglycemia conditions // XXVI International Symposium on Morphological Sciences, Prague – 2018. – P. 73.

10. Ртайл, Р.А. Вивчення особливостей регенерації скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми // II Науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», м. Харків, 21 листопада 2019 р. – С. 306.

11. Rtail, R., Maksimova, O., Kiryan, V., Mchedlishvili, N., & Udovenko V. Morphological features of skeletal muscle regeneration under the influence of chronic hyperglycemia // «International Scientific and Practical Conference of Student, Postgraduates and Young Scientists «Biomedical Perspectives»», Sumy, October 16-18, 2019. – P. 28.

12. Ртайл, Р.А., & Ткач Г.Ф. Макро- та мікроелементний аналіз скелетних м'язів щурів за умов їх посттравматичної регенерації // Збірник тез доповідей Науково-практичної конференція з міжнародною участю “Бабенківські читання”, присвяченої пам'яті академіка Г. О. Бабенка, м. Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2019 р. – С. 33.

13. Rtail, R., Tkach, G., & Tymoshenko, A. Electron microscopic examination of skeletal muscle regeneration in rats with chronic hyperglycemia // 78th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia, Vol. 56, Supp. 1, 2020.

## ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень.....	15
Вступ .....	16
<b>Розділ 1</b> Огляд літератури .....	22
1.1 Клітинно-молекулярні механізми та морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів.....	22
1.2 Функціональне значення та структурні характеристики клітин, що задіяні у відновному міогістогенезі.....	29
1.3 Морфологічні зміни скелетних м'язів та структурні особливості їх регенерації за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.....	36
<b>Розділ 2</b> Матеріали та методи дослідження.....	42
2.1 Загальна характеристика експериментального матеріалу .....	42
2.2 Методика проведення експерименту.....	43
2.3 Методи дослідження .....	45
<b>Розділ 3</b> Триголовий м'яз литки в нормі та під час посттравматичного відновлення в щурів контрольної групи.....	51
3.1 Морфологічна та хімічна характеристика інтактного триголового м'яза литки щурів.....	51
3.2 Характеристика відновлення триголового м'яза литки після його механічного ураження в щурів контрольної групи.....	55
<b>Розділ 4</b> Дослідження посттравматичної регенерації триголового м'яза литки щурів із експериментальною хронічною гіперглікемією.....	70
<b>Розділ 5</b> Аналіз посттравматичного відновлення триголового м'яза литки щурів із хронічною гіперглікемією за умов застосування збагаченої тромбоцитами плазми.....	95
<b>Розділ 6</b> Аналіз та узагальнення результатів власних досліджень.....	119
Висновки .....	135
Список використаних джерел.....	138
Додатки.....	164

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ВПСТ	– відносна площа сполучної тканини.
ЕПР	– ендоплазматичний ретикулум.
ЗТП	– збагачена тромбоцитами плазма.
ЛПВЩ	– ліпопротеїди високої щільності.
ЛПНЩ	– ліпопротеїди низької щільності.
МВ	– м'язове волокно.
МС	– міосателітоцити.
НМВ	– нормальне м'язове волокно.
ПМВ	– пошкоджене м'язове волокно.
ПРМВ	– площа регенеруючого м'язового волокна.
ПР	– площа регенерації.
ПУ	– площа ураження.
СК	– супутникові клітини.
РМВ	– регенеруюче м'язове волокно.
ТМЛ	– триголовий м'яз литки.
ХГ	– хронічна гіперглікемія.
ЦД1	– цукровий діабет 1-го типу.
ЦД2	– цукровий діабет 2-го типу.
HGF	– фактор росту гепатоцитів.
IGF-1	– інсуліноподібний фактор росту 1.
MyoD	– білок визначення міобластів.
MCP-1	– моноцитарний хемоаттрактантний білок 1.
PDGF	– тромбоцитарний фактор росту.
TGF- $\beta$	– трансформуючий фактор росту бета.
VEGFA	– судинний ендотеліальний фактор росту А.

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Травматичні ушкодження скелетних м'язів складають близько 30 % від усіх професійних захворювань в індустріально розвинених країнах [80]. Травматизація посмугованої мускулатури, що виникає у процесі трудової діяльності, загрожує не лише здоров'ю працівників, але також несе значні економічні тягарі для країни і підприємств [156]. Разом із цим пошкодження м'язів також становлять собою одну із основних причин припинення діяльності у спортсменів [148, 203].

Хронічна гіперглікемія нині є одним із найпоширеніших розладів метаболізму, а кількість осіб, що страждають від надмірної кількості глюкози крові, продовжує зростати з кожним роком [73, 222]. Останні статистичні дані демонструють, що хронічна гіперглікемія виявляється у 382 мільйонів дорослих людей у всьому світі, а, за оцінками експертів, до 2035 року це число зросте до 592 мільйонів [85].

Відомо, що хронічна гіперглікемія пов'язана із розвитком вторинних ускладнень у скелетних м'язах і призводить до порушення процесу їх відновлення. Експериментальні дослідження показали, що надмірний вміст глюкози викликає послаблення експресії транскрипційних факторів (MyoD і міогеніна), а також зменшує кількість камбіальних клітин у скелетних м'язах щурів і людей [61, 79].

Щодо регенерації, то показано, що міосателітоцити, отримані від щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом, не здатні до утворення міотуб [102]. Разом із цим у щурів із генетичними моделями хронічної гіперглікемії спостерігається значна затримка та незавершеність посттравматичної регенерації скелетних м'язів [139].

На сьогодні показано, що збагачена тромбоцитами плазма позитивно впливає на процеси відновлення скелетних м'язів тварин, покращуючи гістологічні показники регенерації та функціональне відновлення органу [49, 157, 189]. Також повідомляється, що ін'єкції збагаченої тромбоцитами плазми здатні пришвидшувати відновлення травмованих скелетних м'язів у



спортсменів [173] та зменшувати біль у хворих із ураженням скронево-щелепної ділянки [140].

Окрім цього, результати кількох нещодавніх мета-аналізів досліджень ефективності застосування збагаченої тромбоцитами плазми для лікування виразок у хворих із синдромом діабетичної стопи показали, що цей метод достовірно покращує загоєння ран та прискорює функціональне відновлення пацієнтів [97, 98]. При цьому на сьогодні відсутні роботи щодо вивчення впливу збагаченої тромбоцитами плазмами на процес м'язової регенерації за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

Таким чином, враховуючи значну поширеність м'язових травм та розладів вуглеводного обміну, а також враховуючи їх значну соціально-економічну значимість на сьогодні важливим є детальне вивчення клітинно-молекулярних механізмів відновлення м'язів та пошук ефективних шляхів корекції цього процесу за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Представлена дисертаційна робота є частиною плану наукових досліджень Сумського державного університету і є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри морфології і кафедри фізіології і патофізіології з курсом медичної біології Сумського державного університету «Молекулярно-генетичні та морфологічні особливості регенерації тканин нижньої кінцівки за умов хронічної гіперглікемії» (номер державної реєстрації 0117U003926).

**Мета** – визначення структурних особливостей регенерації скелетних м'язів щурів на різних етапах відновного гістогенезу за умов дії на організм хронічної гіперглікемії, а також з'ясування можливості корекції процесу м'язового відновлення в умовах хронічної гіперглікемії за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми.

### **Завдання дослідження.**

1. З'ясувати мікро- та ультрамікроскопічні характеристики триголового м'яза литки інтактних щурів, а також його макро- та мікроелементний склад.
2. Вивчити на мікроскопічному та ультрамікроскопічному рівнях морфологічну картину перебігу різних фаз процесу регенерації триголового м'яза литки щурів після його травматичного ушкодження.
3. Дослідити структурні особливості різних фаз посттравматичного репаративного гістогенезу триголового м'яза литки щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.
4. Визначити динаміку змін макро- та мікроелементного складу триголового м'яза литки щурів під час його посттравматичної регенерації.
5. Встановити особливості змін хімічного складу триголового м'яза литки щурів у різні фази його посттравматичного відновлення за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.
6. З'ясувати можливість корекції негативного впливу хронічної гіперглікемії на процес регенерації посмугованих м'язів за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми.

*Об'єкт дослідження* – регенерація триголового м'яза литки щурів, динаміка змін хімічного складу триголового м'яза литки щурів під час різних фаз відновного гістогенезу.

*Предмет дослідження* – структурні особливості перебігу різних фаз посттравматичного міогенезу за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії, хімічний склад латеральної головки триголового м'яза литки щурів на різних стадіях відновного міогенезу.

*Методи дослідження:* органометричний, лабораторний, морфометричний, мікроскопічний, ультрамікроскопічний, хіміко-аналітичний, статистична обробка числових даних.

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

Уперше на експериментальному матеріалі, спираючись на застосування сучасних методів структурного та хімічного аналізів показано, що

експериментальна стрептозотоцин-індукована хронічна гіперглікемія чинить негативний вплив на процес відновлення скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми.

З'ясовано, що хронічна гіперглікемія під час відновного міогістогенезу зменшує інтенсивність утворення нових м'язових волокон, призводить до порушення внутрішньоклітинної організації міосимпластів, суттєво гальмує процес ангиогенезу, пришвидшує утворення елементів сполучної тканини, послаблює міграцію агранулоцитів у вогнище ушкодження та сприяє стійкій персистенції в ньому гранулоцитарних лейкоцитів.

Виявлено, що хронічна гіперглікемія впливає на макро- та мікроелементний склад скелетних м'язів під час їх посттравматичної регенерації, призводячи до зменшення вмісту кальцію, заліза, цинку і міді, та накопичення натрію і магнію.

Уперше проведено морфологічне дослідження впливу збагаченої тромбоцитами плазми крові на перебіг посттравматичної регенерації скелетних м'язів в умовах впливу на організм хронічної гіперглікемії. Установлено, що збагачена тромбоцитами плазма значно підвищує ефективність процесу м'язового відновлення, зміщуючи його від розвитку сполучнотканинного рубця в бік утворення повноцінного м'язового органу.

**Практичне значення одержаних результатів.** Представлена дисертаційна робота є фундаментальним дослідженням. Розкриття структурних особливостей відновлення скелетних м'язів щурів на фоні хронічної гіперглікемії значно розширюють знання про специфіку репаративної регенерації посмугованої мускулатури за умов впливу на організм пошкоджуючих факторів, а також відкривають шлях до більш ефективного та поглибленого пошуку потенційних способів корекції цього процесу з метою стимулювання відновлення скелетних м'язів в осіб із метаболічними розладами.

Експериментально доведено ефективність застосування збагаченої тромбоцитами плазми для покращення процесу регенерації скелетних м'язів в

умовах впливу на організм хронічної гіперглікемії, що дозволяє рекомендувати застосування цього засобу для посилення процесів відновної регенерації посмугованих м'язів в осіб із хронічною гіперглікемією.

Одержані результати дослідження впроваджено у науковий та освітній процес морфологічних кафедр: кафедри анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету; кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; кафедри клінічної анатомії, анатомії та оперативної хірургії ДЗ «Дніпровської медичної академії» МОЗ України; кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету; кафедри оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету; кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В.Г. Касьяненка Національного університету біоресурсів і природокористування України; кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету; кафедри патологічної анатомії з секційним курсом Української медичної стоматологічної академії; кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету; кафедри анатомії, клінічної анатомії, оперативної хірургії патоморфології та судової медицини Чорноморського національного університету ім. Петра Могили.

**Особистий внесок здобувача.** Автором дисертації особисто виконано огляд та аналіз даних літератури за темою наукового дослідження, сформульовані мета роботи, її завдання, створений план. Дисертантом власноруч реалізовані всі етапи експериментального дослідження на щурах (моделювання хронічної гіперглікемії, відтворення механічної травми, приготування та введення збагаченої тромбоцитами плазми), проведене органометричне, мікроскопічне, ультрамікроскопічне, морфометричне та хіміко-аналітичне дослідження, виконаний статистичний аналіз числових даних. Здобувачем разом із науковим керівником проведено узагальнення

одержаних результатів експериментів, сформульовано основні положення та висновки. Автором самостійно написано всі розділи дисертаційної роботи та автореферат, підготовлені матеріали для публікацій і прилюдних виступів.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дисертаційного дослідження представлені та обговорені на Науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» (м. Вінниця, 2017), на Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання», (м. Івано-Франківськ, 2017 та 2019), на XXVI Міжнародному симпозиумі з морфологічних наук (Чехія, м. Прага, 2018), на II Науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 2019), на Міжнародній науково-практичній конференції студентів, молодих учених, лікарів та викладачів «Biomedical Perspectives» (м. Суми, 2019), на 78-й Міжнародній науковій конференції Латвійського університету (Латвія, Рига, 2020).

**Публікації.** Основний зміст дисертації викладений у 13 наукових працях, з яких 5 статей у фахових наукових журналах, 1 стаття в журналі, що обліковується наукометричними базами Scopus та Web of Science, та 7 тез доповідей у матеріалах симпозиумів і конференцій. Дві наукові праці опубліковано за одноосібної участі автора.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертацію викладено українською мовою на 174 сторінках. Робота складається із анотації, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, 3 розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел. Список використаної літератури налічує 223 найменування (12 – кирилицею і 211 – латиницею). Робота ілюстрована 25 таблицями та 46 рисунками.

## РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1 Клітинно-молекулярні механізми та морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів

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. Крім цього, це також найбільша в організмі інсулін-залежна тканина з найвищим потенціалом утилізації глюкози [67]. Відомо, що скелетні м'язи, у середньому, складають 40-50 % маси тіла дорослого чоловіка і 30-40 % маси тіла дорослої жінки. Таким чином, підтримання м'язової маси є критичним не лише для реалізації точних рухів, але і для підтримання метаболічного гомеостазу.

Проте, виходячи із функцій та розташування скелетних м'язів, вони схильні до уражень, спричинених перерозтягненням, перенапруженням, міотоксичними агентами, ішемією, різними видами травм, дегенеративними процесами тощо. На сьогодні, найбільш поширеною причиною пошкодження м'язів вважається механічна травма [87]. Вона призводить до порушення цілісності базальної пластинки і плазматичної мембрани м'язового волокна, що викликає масивне затікання позаклітинних іонів кальцію та у кінцевому рахунку призводить до деградації м'язових білків і некрозу [114]. Після цього відбувається фокальна дегенерація скелетного м'язу, що виявляє себе набуханням та утворенням гематоми [41]. Після початкової дегенерації розпочинається, опосередкований м'язовими стовбуровими клітинами, процес регенерації м'язів. У результаті останнього відбувається відновлення як структури ушкоджених м'язових волокон, 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 [50].

На сьогодні існує низка підходів до класифікації стадійності процесу відновлення скелетних м'язів, більшість яких вказує на те, що регенерація посмугованих м'язів відбувається у п'ять взаємопов'язаних та залежних від часу фаз, а саме: дегенерація (некроз), запалення, регенерація, ремоделювання та дозрівання (функціональне відновлення) [71, 138]. 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.

Некротична загибель м'язових волокон індукує запальну відповідь, що відіграє важливу роль у гомеостазі та відновленні м'язів та забезпечує залучення специфічних клітин мієлоїдного ряду до вогнища ураження [172, 201, 214]. Першими прозапальними мієлоїдними клітинами, що потрапляють у місце некрозу, є нейтрофіли, кількість яких починає зменшуватись через 24 годин після пошкодження, а через 48 годин присутність цих клітин зовсім не визначається [64, 170]. Нейтрофіли потрапляють усередину пошкодженого м'яза шляхом взаємодії  $\beta_2$ -інтегрину із молекулами адгезії, розташованими на поверхні ендотеліоцитів судин, зокрема із ICAM-1 (Intracellular Adhesion Molecule-1) [154, 188].

Фагоцитарна активність нейтрофілів передбачає вивільнення високих концентрацій вільних радикалів і протеаз, а також секрецію прозапальних цитокінів, що стимулюють міграцію у вогнище запалення клітин моноцитарного ряду [185]. Відомо, що ключовим фактором, що обумовлює

зміну нейтрофільної популяції на моноцитарну, виступає продукований нейтрофілами розчинний рецептор інтерлейкіну-6 (soluble interleukin-6 receptor) [27, 218].

Протягом 24 годин після травми у вогнищі ураження стрімко зростає кількість макрофагів. У цей час саме вони виступають домінуючим пулом запальних клітин у межах травмованої ділянки посмугованого м'язу, локалізуючись здебільшого у перимізії та епимізії [167, 207]. Тут макрофаги займаються видаленням тканинного дебрису та активацією камбіальних клітин [53, 197].

Одним із важливих питань є походження м'язових макрофагів. На сьогодні результати експериментальних робіт вказують на те, що ці клітини являють собою популяцію моноцитів крові, що залучаються до скелетних м'язів під час запалення, а після цього вони перетворюються у протизапальні макрофаги та стимулюють міогенез [42, 104]. Прийнято використовувати «M1 і M2» номенклатуру для того, щоб розділяти дві протилежні форми активації макрофагів. Було запропоновано, що макрофаги диференціюються або у M1 (прозапальний), або у M2 (протизапальний) підтип, зберігаючи при цьому здатність змінювати свій функціональний фенотип у відповідь на стимули мікрооточення [59, 160].

Клітини з M1-фенотипом експресують CD68, продукуючи при цьому значну кількість інтерлейкіну-12 (ІЛ) та малу кількість ІЛ-10 [223], тоді як M2-макрофаги мають на своїй поверхні CD163 та у значній мірі секретують ІЛ-10, і у незначній – ІЛ-12 [101, 149]. Макрофаги підтипу M1 активуються такими цитокінами Т-хелперів, як  $\gamma$ -інтерферон (IFN- $\gamma$ ), фактор некрозу пухлин  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), ліпополісахарид (LPS), ІЛ-1 та ІЛ-6 [53]. M2-клітини розділяються на три підтипи: M2a, M2b і M2c, кожен з яких має своє окреме фізіологічне значення. M2a-макрофаги активуються ІЛ-4 та ІЛ-13; M2b – імунними комплексами та агоністами рецептору ІЛ-1; M2c – ІЛ-10 [109]. Макрофаги M2a і M2b у більшій мірі реалізують імунорегуляторні функції та стимулюють



гуморальну імунну відповідь, тоді як M2c-клітини пригнічують імунні реакції та запускають процеси тканинного ремоделювання [146].

У роботі Deng et al. було показано, що центральну роль у регуляції переходу м'язових макрофагів від M1 до M2-фенотипу відіграє ІЛ-10, при чому такий зсув є необхідною умовою ефективного росту та регенерації м'язів [55]. Автори продемонстрували, що пригнічення ІЛ-10 веде до посилення імунної відповіді, збільшення продукції ІЛ-6, MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1) та перешкоджає активації M2-макрофагів. Усе це врешті-решт призводить до збільшення кількості пошкоджених м'язових волокон та інактивації їх відновлення і росту

На сьогодні відомо, що серед внутрішньоклітинних регуляторів M1-M2 поляризації макрофагів особливе місце належить білкам родини STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) [115, 161]. Показано, що STAT1 є важливим фактором M1-диференціації макрофагів у присутності IFN- $\gamma$ , тоді як STAT6, синтез якого знаходить під позитивним контролем ІЛ-4 та ІЛ-13, є необхідним для розвитку M2-клітин. Взаємовиключення цих сигнальних шляхів може бути критичним фактором у поляризації макрофагів скелетних м'язів і являє собою потенційну мішень для модуляції активності цих клітин під час регенераторних процесів.

За останні роки також важлива роль у контролі фенотипного переходу макрофагів була продемонстрована для відомого регулятора енергетичного гомеостазу – AMPK $\alpha$ 1 (AMP activated protein kinase  $\alpha$ 1). AMPK $\alpha$ 1 є єдиною каталітичною субодиницею AMPK, що експресується у макрофагах [136]. Використовуючи різні генетичні моделі вчені кількох колективів показали, що пригнічення експресії AMPK $\alpha$ 1 призводить у травмованих посмугованих м'язах до накопичення некротизованої тканини, затримки вилучення фагоцитованих волокон, зменшення кількості M2-макрофагів та порушення процесу регенерації [34, 111].

Встановлено, що до регуляції так званою поляризації макрофагів під час відновлення скелетних м'язів причетні і епігенетичні механізми [182]. Було

повідомлено, що рівень експресії miR-125a-5p у M2-макрофагах значно вищий, порівняно з M1-клітинами [119]. При цьому також встановлено, що гіперекспресія вказаної мікроРНК у макрофагах зменшує в них прояви M1-фенотипу та підвищує продукцію маркерів фенотипу M2 [130]. І навпаки, нокдаун miR-125a-5p сприяє M1-диференціації та зменшує ознаки M2-варіанту [22]. Крім того, в іншому дослідженні групою Banerjee et al. також було показано, що вміст мікроРНК let-7c у M2-макрофагах значно вищий, ніж у клітинах M1-підтипу [23].

Цікаво також зазначити, що нещодавні експерименти Seafalan et al. показали існування прямих тісних контактів між міогенними клітинами і макрофагами [39]. Автори зробили припущення, що така постійна взаємодія між цими клітинами на всіх етапах міогенезу свідчить про високу ймовірність існування ще невідомого типу регуляторного механізму м'язової регенерації.

Таким чином, запальна реакція у ділянці ушкодження скелетного м'язу є координатним процесом, що необхідний для ефективного відновлення структури та функції цього органу [118]. Проте, головну роль у процесі регенерації посмугованих м'язів відіграють камбіальні клітини, що мають назву супутникових клітин (СК) [72, 171]. Останні знаходяться між базальною пластинкою і сарколемою м'язового волокна та частіше за все описуються як "сплячі міобласти, що не встигли злитись з іншими міобластами, проте готові повторити ембріональний розвиток скелетних м'язових волокон, коли основний міосимпласт буде пошкоджений» [138]. Отже, СК є мітотично неактивними клітинами, поки вони не потрібні для росту або відновлення м'язових волокон.

За останні роки методики ультрамікроскопічного аналізу дозволили виявити морфологічні характеристики СК, до яких відносять великий показник ядерно-цитоплазматичного відношення, незначну кількість органел, мале ядро і конденсований хроматин. Така структура є характерною для мітотично спокійних (у фазі G0) і транскрипційно неактивних сателітоцитів [215].

СК можуть бути активованими у відповідь як на фізіологічні подразники (такі як фізичні вправи) так і на патологічні стимули (наприклад, травми і

дегенеративні захворювання) з метою створення єдиної популяції міобластів [13]. Такі конгломерати можуть зливатися з існуючими м'язовими волокнами, відновлюючи їх після пошкодження, або зливатися один з одним, формуючи повністю нові волокна [65]. Поряд з цим незначна кількість СК не диференціюється, а замість цього повторно входить у стан спокою для підтримки пулу стовбурових клітин [84].

Результати експериментальних робіт останніх років показали наявність низки молекул, що експресуються сателітоцитами, проте відсутні у міосимпласті. Так, низкою авторів було повідомлено, що у стані спокою СК продукують рецептор кальцитоніну [210], тирозинкіназу c-Met [199], фактори транскрипції FoxK, Pax7, Sox 8, Sox 15 [174], молекули міжклітинної адгезії такі як, М-кадгерин [86], невральна молекула міжклітинної адгезії (NCAM), судинна молекула міжклітинної адгезії 1 (VCAM-1) [176], синдекан 3 і 4 [153], CD34, кавеолін-1, та  $\beta$ 1-інтегрин [198]. Білок Pax3, що є паралогом Pax7, також експресується у спокійних СК більшості м'язів та відіграє важливу роль у регулюванні входу супутникових клітин у міогенну програму [213]. Важливо відмітити, що експресія вказаних вище молекул посилюється під час активації та проліферації супутникових клітин [37].

На сьогодні також існують дані про молекулярні маркери, що є специфічними лише для СК, які знаходяться в активному, проліферуючому стані. Так, до таких належать десмін, кофактор ДНК-полімерази PCNA (Proliferating Cell Nuclear Antigen), фактори транскрипції Myf5 (Myogenic factor 5) і MyoD [209, 211]. Низкою експериментальних робіт із використанням методики генетичного нокауту продемонстровано високу активність промотору Myf5 в активних сателітних клітинах [90, 217]. Поряд з цим встановлено, що експресія цього білка відсутня в СК, що знаходяться у стані спокою та суттєво зменшується під час диференціації сателітоцитів і їх злитті в міотуби [152].

Після активації СК мають два можливі шляхи розвитку власного фенотипу залежно від активності фактору MyoD. Так, з одного боку сателітні клітини можуть пригнічувати експресію MyoD, забезпечуючи таким чином

підтримання пулу СК стану спокою. З іншого боку, міосателітоцити можуть підвищувати продукцію MyoD, активуючи таким чином утворення міогеніну та реалізуючи диференціацію [96, 107].

Важливим питанням м'язової регенерації є перемикання між процесами проліферації СК та їх диференціюванням. Результати робіт останніх років показали, що ключову роль у даній регуляторній системі відіграють фактори сигнальних шляхів Notch, Numb та Wnt [77, 81, 166]. Було показано, що Numb-система сприяє міогенній диференціації СК шляхом пригнічення в них шляху Notch та активації Wnt-сигнальної системи [200]. Також на сьогодні продемонстровано, що перехід міогенних прогеніторів від проліферації до диференціації супроводжується появою специфічних маркерів, серед яких міогенін, MyHC (неонатальна ізоформа важкого ланцюгу міозину), тропонін T, Тропонін C, Ca<sup>++</sup>-АТФаза, IGF-2 (інсуліноподібний фактор росту-2) та FGFR4 (рецептор фактору росту фібробластів 4) [15].

Прийнято вважати, що СК становлять однорідну популяцію клітин м'язових прогеніторів. Проте кілька досліджень показали можливість того, що сателітоцити є гетерогенною сумішшю двох клітинних популяцій, а саме, стовбурові клітини з повільним циклом і міогенні прогенітори зі швидким циклом [159, 187]. Групою Kuang et al. було продемонстровано, що Pax7-позитивні СК, у яких пригнічена експресія Myf5, мають «стовбуровоподібний» фенотип, тоді як Pax7-позитивні сателітоцити, що продукують Myf5, зазнають міогенної диференціації [112]. Поряд з цим, цікаво також зазначити, що нещодавні дослідження показали можливу участь СК не у процесах відновлення м'язів, а в ектопічному формуванні жирової та волокнистої сполучної тканини, де вони виступають у ролі прогеніторів фіброадипоцитів (FAPs) [68, 191].

Ремоделювання сполучної тканини і ангиогенез становлять четверту стадію регенеративного процесу [48]. Ця стадія характеризується активацією позаклітинного матриксу, що призводить до гіперпродукції кількох типів колагенів, фібронектину, еластину, протеогліканів і ламініну, які слугують

«стабілізаторами» тканини, створюючи каркас для нових м'язових волокон та забезпечуючи формування нервово-м'язових з'єднань [13, 51, 52, 133].

На сьогодні вважається, що трансформуючий фактор росту  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) є ключовим фактор активації фізіологічного каскаду фіброзу у пошкодженому скелетному м'язі [100]. На початкових етапах така реакція є корисною, оскільки є швидкою та допомагає захистити місце травми. Проте надмірне виробництво колагенів у зоні пошкодження часто призводить до рубцювання і втрати м'язової функції.

Репаративний процес у скелетних м'язах завершується, коли пошкоджені волокна відновлюють функціональну працездатність і скорочувальний апарат [124]. Таким чином, регенерація пошкоджених м'язів є завершеною лише в тому випадку, якщо регенеровані м'язи мають ефективну іннервацію. Слід зазначити, що хоча початкові фази регенерації м'язів не потребують нервового впливу, подальше зростання і дозрівання регенеруючих м'язових волокон вимагає наявності нервів, оскільки нервова активність може безпосередньо впливати на продукцію білка і експресію генів у багатоядерних міотубах [46].

Таким чином, посттравматична регенерація скелетних м'язів являє собою складний багатоетапний процес, що потребує чіткої синхронізованої взаємодії імунної системи, популяції камбіальних та інтерстиційних клітин за допомогою хімічних речовин та фізичних контактів. Формування нових м'язових волокон та їх повноцінне функціональне можливе лише за умов успішної диференціації прогеніторних клітин, ремоделювання позаклітинного матриксу з подальшим ефективним неоангіогенезом та утворенням нервово-м'язових з'єднань.

## **1.2 Функціональне значення та структурні характеристики клітин, що задіяні у відновному міогістогенезі**

Необхідною умовою відновлення посмугованих м'язів беззаперечно вважаються супутникові клітини, проте за останні роки низкою авторів було зроблено припущення, що також «нем'язові» стовбурові клітини можуть брати

участь у регенерації м'язів і певним чином сприяти підтримці пулу СК у них [138]. Ці популяції стовбурових клітин можуть бути або резидентами посмугованої мускулатури, або бути залученими із циркуляторного русла у відповідь на аттрактивні сигнали з ділянки ушкодженого скелетного м'яза [40, 138, 205].

Перші повідомлення про те, що до регенерації м'язів можуть бути залучені нерезидентні стовбурові клітини, було отримане групою Ferrari et al. в результаті трансплантаційних досліджень стовбурових клітин з кісткового мозку [69]. Автори показали, що після трансплантації стовбурові клітини кісткового мозку мігрували у ділянку пошкодження скелетного м'яза і диференціювалися у міогенні прогенітори, що в кінцевому рахунку призвело до відновлення пошкоджених волокон.

На сьогодні показано, що інша субпопуляція циркулюючих стовбурових клітин, що мають антиген CD133+ на своїй поверхні, також експресують міогенні маркери. Результати експериментів продемонстрували, що клітини CD133+ можуть не тільки підтримувати клітинні популяції кісткового мозку, диференціюватися в ендотеліальні клітини, але також беруть участь у міогенезі після кокультивації з міобластами [134]. Було також відмічено, що цей тип клітин задіяний як безпосередньо у регенерації м'язів, так і у підтриманні пулу супутникових клітин.

Сьогодні існують докази того, що значна кількість міогенних клітин локалізується в інтерстиційному просторі скелетних м'язів. Одна з популяцій інтерстиційних стовбурових клітин, що селективно мігрує до ушкоджених м'язових волокон, називається мезоангіобластами [28]. Останні є підгрупою пов'язаних із судинами стовбурових клітин, які здатні диференціюватись у кілька типів мезенхімальних клітин, включаючи скелетні м'язи [33].

На відміну від інших типів циркулюючих стовбурових клітин, мезангіобласти мігрують до ушкоджених м'язів. В експериментах на тваринних моделях м'язової дистрофії було показано, що після доставки до

ділянки м'язового ушкодження системним кровообігом ці клітини мігрують за межі судини і відновлюють структуру і функцію мускулатури [28].

Нещодавні дослідження показали, що залучення мезангіобластів до місця м'язового ураження відбувається за допомогою макрофагів, які під час запальної фази секретують у кровообіг такі фактори, як HMGB1, TNF- $\alpha$  і MMP-9 [108]. Крім цього експерименти *in vitro* та *in vivo* показали, що макрофаги здатні регулювати диференціацію мезангіобластів у м'язові прогенітори через систему сигналізації IL-10/IL-10R [186].

Інша фракція інтерстиційних стовбурових м'язових клітин представлена так званими *muscle side population cells* (MSP). Імунологічні аналізи показали, що вони не експресують c-kit, CD43 і CD45 або будь-які інші маркери супутникових клітин [150]. Молекулярним референтом фенотипу MSP є мембранний білок Abcg2 (ATP-binding cassette sub-family G member 2) [144]. На основі експресії Abcg2 в інтерстиції було встановлено, що клітини MSP розташовуються назовні від базальної пластинки м'язового волокна і здебільшого локалізуються біля ендотелію та зовнішнього шару кровоносних судин [144]. Експериментально було показано, що Abcg2-позитивні клітини під час м'язового відновлення дають початок як ендотеліоцитами і перицитам, так і міогенним клітинам [144].

Іншою популяцією м'язових стовбурових клітин є інтерстиційні клітини PW1+/Pax7 (PIC). Уперше вони були виявлені в інтерстиції скелетних м'язів під час вивчення впливу TNF на стовбурові м'язові клітини. Було встановлено, що PIC-клітини експресують PW1 – медіатор клітинного стресу, що задіяний у сигнальній системі TNF-NF $\kappa$ B [56]. Дослідження *in vitro* показало, що ці клітини здатні давати початок як гладким, так і посмугованим м'язовим клітинам [66]. Разом із цим результати дослідження Pannerec et al. продемонстрували, що PIC-клітини здатні набувати фенотипу мезенхімальних стовбурових клітин з подальшою диференціацією в жирові клітини [166].

Однією із провідних сучасних концепцій біології стовбурових клітин є те, що кровоносні судини є системним джерелом клітин-прогеніторів [216].

Мультипотентні стовбурові клітини були виділені з усіх шарів стінки кровоносних судин скелетних м'язів та різних інших органів: інтима містить ендотеліальні клітини-попередники, у медії дрібних кровоносних судин містяться перицити, у медії великих судин – прогенітори гладком'язових клітин, а зовнішній шар містить адвентиційні клітини [21]. Перетин біології камбіальних клітин судин та посмугованих м'язів відкриває нові погляди на регенерацію скелетних м'язів та відкриває цікаві перспективи.

Нещодавно між волокнами посмугованої мускулатури біоптатів скелетних м'язів людини за допомогою конфокальної мікроскопії поблизу судин мікроциркуляторного русла були ідентифіковані міогенні ендотеліальні клітини (MECs) [220]. Ці клітини характеризувались експресією як маркерів супутникових клітин (Pax7 і CD56), так і ендотеліальних маркерів (фактор Віллебранда, VE-кадгерин, CD34). Колективом Chen et al. експериментально було показано, що після трансплантації MECs реалізували регенерацію м'язових волокон у скелетних м'язах мишей після кардіотоксин-індукованої травми більш ефективно, ніж скелетні міобласти [45].

Сьогодні до клітин міогенного пулу відносять також перицити, що являють собою гетерогенну популяцію клітин з точки зору походження, морфології та маркерної експресії [30]. Встановлено, що окрім свого класичного призначення, перицити мають значну фенотипову пластичність і розглядаються у якості мультипотентних клітини-попередників зі здатністю диференціюватися в адипоцити, остеобласти, хондроцити та міобласти [31].

Периваскулярні CD146+ перицити, виділені зі скелетних м'язів щурів, пошкоджених кардіотоксином, показали особливості мезенхімальних стовбурових клітин з довгостроковим міогенним потенціалом [94]. Поряд із цим результати експериментів Dellavalle et al. продемонстрували, що судинно-асоційовані перицити сприяють постнатальному росту м'язів, проліферації пулу супутникових клітин, а їх кількість значно підвищується під час регенерації м'язів [54].



Останнім часом у сполучнотканинному просторі скелетних м'язів була продемонстрована наявність нового типу клітини із назвою телоцити [26]. Морфологічний аналіз показав, що ці клітини характеризуються малим діаметром тіла (приблизно 10 мкм), бідною на органели цитоплазмою, тонкими і довгими (до сотень мкм) відростками, що створюють значні розгалуження і організовують лабіринтоподібні системи [125]. Телоцити константно експресують різні білкові маркери, такі як c-kit, кавеолін-1, CD34, віментин [180], що полегшує їх ідентифікацію за допомогою імуногістохімії.

Крім цього дослідження також показали, що телоцити здатні продукувати VEGF [123]. Таким чином, вони можуть функціонувати як клітинна популяція, що бере участь у процесі ангиогенезу під час новоутворення та ремоделювання тканин. Припускається, що телоцити можуть становити продовження фенотипу, що починається від фібробластів, що секретують позаклітинний матрикс, до скорочувальних клітин зі скорочувальним фенотипів, таких як перицити, гладком'язові клітини та міоцити [58].

Важається, що телоцити за допомогою своїх довгих тонких відростків – телоподів, ймовірноше за все, з'єднують клітини різних типів, присутні в м'язовій тканині [127]. Враховуючи їх здатність утворювати контакти на великій відстані, вони можуть грати істотну роль у інтеграції сигналів для регулювання роботи скелетних м'язів, їх ремоделювання та регенерації. Електронна мікроскопія біоптатів скелетних м'язів показала, що телоцити часто розташовані поблизу кровоносних судин, нервових закінчень і супутникових клітин, що вказує на їх можливу причетність до підтримки та паракринної регуляції пулу стовбурових клітин [32].

Нещодавно новий регуляторний механізм міогенезу був виявлений у посмугованій мускулатурі щурів. Було показано, що він включає в себе Tcf4-позитивні фібробласти, що здебільшого локалізуються у сполучнотканинних перетинках посмугованих м'язів [131]. Використовуючи трансгенних щурів автори продемонстрували, що фібробласти м'язів регулюють розвиток і дозрівання м'язових волокон. Дослідження також показали, що взаємодія таких

клітин із міосателітоцитами сприяє ефективній регенерації м'язів. Було встановлено, що пригнічення функціонування Tcf4-позитивних фібробластів на фоні незміненої активності супутникових клітин призводить до гальмування міогенної диференціації останніх та зменшення розмірів новоутворених м'язових волокон [131]. Цікаво, що пригнічення функціонування клітин-супутників не тільки погіршує відновлення м'язів, але також значно знижує активність фібробластів.

Іншу популяція клітин, що перебувають у м'язовому інтерстиції та активуються у відповідь на пошкодження, називають фібро/адипогенними попередниками (FAPs) [29.]. Було встановлено, що FAPs експресують рецептор фактору росту тромбоцитів  $\alpha$  (PDGFR $\alpha$ ), Sca-1 і CD34 та здатні диференціюватися в бік остеобластних, гладком'язових клітин та міоцитів [158]. Повідомляється, що кількість цих клітин збільшується під час процесу регенерації скелетних м'язів, тоді як їх диференціація гальмується безпосереднім зіткненням з новоутвореними волокнами [29].

В експериментах із використанням кокультивації показано, що фібро/адипогенні прогенітори стимулюють диференціацію первинних міогенних попередників, через що вони вважаються тимчасовим джерелом сигналів про диференціації для проліферуючих міогенних камбіальних клітин під час регенерації м'язів [168]. Слід також зазначити, що в дегенеративних скелетних м'язах FAPs виступають основним фактором, що сприяє формуванню ектопічних жирових клітин [128].

Активація стовбурових клітин і ангиогенез є центральними і добре скоординованими процесами під час регенерації м'язів, які для своєї повноцінності потребують значної кількості фізичних і хімічних сигналів. Після пошкодження, руйнування судинної стінки обумовлює безпосередній контакт між судинними клітинами і потенційними міогенними попередниками, що в кінцевому рахунку забезпечує і неоангиогенез, і вивільнення широкого спектру потужних регуляторних факторів.

Відомо, що ендотеліальні клітини стимулюють ріст супутникових клітин через секрецію різних факторів росту, включаючи інсуліноподібний фактор росту (IGF-1), VEGF, фактор росту фібробластів (FGF-2), фактор росту тромбоцитів (PDGF) і фактор росту гепатоцитів HGF [14]. Вони також виділяють цитокіни, такі як IL-6, IL-8 та TNF $\alpha$  [135]. Гостре ушкодження із некрозом та подальшим запаленням призводять до деструкції ендотеліальних клітин і подальшого зниження факторів, синтезованих цією клітинною популяцією, наприклад VEGF [192]. Вміст VEGF відновлюється разом із регенерацією м'язів і реконструкцією капілярної мережі, необхідної для підтримки росту і виживання міобластів.

Періендотеліальні клітини представлені клітинами гладких м'язів та інтерстиційними клітинами ендомізію, які стабілізують кровоносні судини. Було продемонстровано, що ці клітини сприяють поверненню до неактивного стану м'язових попередників шляхом вивільнення ангіопетину-1 [129]. Ангіопетин-1 пригнічує ріст, проліферацію і диференціювання міогенних попередників. Таким чином, відновлення цілісності судин дуже ймовірно стає сигналом для закінчення міогенезу [14].

Отже, результати досліджень останніх років показали, що процес регенерації скелетної мускулатури потребує не лише участі класичних супутникових клітин, але і значної кількості нерезидентних клітин-прогеніторів, що здатні або безпосередньо брати участь у формуванні нових м'язових волокон та інших компонентів м'язового органу, або виступати у якості координаторів. Проте, значна кількість питань щодо механізмів реалізації посттравматичного відновлення скелетної мускулатури наразі лишається без відповіді. Разом із цим на сьогодні лишається практично не вивченим перебіг та якість відновного міогенезу за умов патологічних станів та дії на організм шкідливих факторів.

### **1.3 Морфологічні зміни скелетних м'язів та структурні особливості їх регенерації за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії**

Хронічна гіперглікемія (ХГ) є одним з найбільш поширених розладів метаболізму в усьому світі, а кількість осіб, що страждають від надмірної кількості глюкози крові, продовжує зростати з кожним роком [106]. ХГ часто пов'язана із розвитком вторинних ускладнень у різних органах, зокрема і скелетних м'язах [78].

Результати досліджень показують, що цукровий діабет індукує розвиток атрофії посмугованих м'язів [147], зміну фенотипу м'язових волокон від окисного до гліколітичного [122] та порушення енергетичного обміну у міосимпласті [184]. У решті-решт зазначені зміни призводять до дисфункції скелетних м'язів, таких як м'язова слабкість і непереносимість фізичних вправ [179]. Колективом Vignaud et al. також було показано, що у щурів із хронічною ХГ спостерігається зменшення ваги посмугованих м'язів та їх абсолютної максимальної тетанічної сили як до так і після травматичного ушкодження [194].

Разом з тим на сьогодні існує досить незначна кількість робіт, присвячених вивченню структурних змін, що відбуваються у скелетних м'язах у відповідь на тривалий вплив на організм ХГ. Так, нещодавно колективом Vesentini et al. на мікроскопічному та ультрамікроскопічному рівнях було проведено дослідження впливу гіперглікемії різної тяжкості на будову прямого м'яза живота щурів [193]. Результати роботи показали, що у скелетній мускулатурі піддослідних тварин спостерігається зменшення кількості швидких та зростання повільних волокон, збільшення площі сполучної тканини, поява розривів Z-ліній, зменшення площі саркомерів, набряк саркоплазматичного ретикулуму, T-трубочок та мітохондрій.

Подібне дослідження щодо дослідження морфологічних змін м'язів язика щурів на фоні стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету виконане також Левицьким та Атаманчуком [3]. Авторами показано, що ХГ призводить до

втрати поперечної смугастості, зниження осміофільності саркоплазми, до переміщення окремих ядер до центральної частини симпласту, деструкції міофіламентів, що супроводжується порушенням структури M- і Z-ліній. Разом із цим спостерігається зменшення розміру мітохондрій, дезорганізація, вкорочення та фрагментація їх крист. У саркоплазмі ж відзначається значне накопичення включень різної електронної щільності.

У роботі Гончар та співавт. проаналізовано біоптати скелетних м'язів нижніх кінцівок осіб із III-IV стадіями діабетичної ангіопатії [2]. Дослідники показали, що в ендомізії виявляється значна кількість клітин, що заповнені ліпідними включеннями. У стінці капілярів відзначається потовщення базальної мембрани. Ендотеліоцити капілярів виглядають набряклими та містять велику кількість вакуолей. Цитоплазма сателітоцитів здебільшого вповнена ліпідними вакуолями. Щодо м'язових волокон, то автори відзначають потовщення сарколеми, набряк і руйнування міофібрил та дезорганізацію мітохондріальних крист.

На сьогодні існує кілька робіт, присвячених вивченню мікроциркуляторних змін у скелетних м'язах за умов тривалої дії на організм хронічної гіперглікемії. Так, у роботі Ono et al. встановлено, що у щурів із попередньо змодельованим цукровим діабетом відзначається зменшення діаметру капілярів скелетних м'язів та зменшення об'ємної швидкості кровообігу [143]. Разом із цим автори показали, що довжина новоутворених капілярів посмугованих м'язів у діабетичних щурів також була значно меншою, порівняно із контролем.

Результати електронно-мікроскопічного дослідження біоптатів діабетичних м'язів людей групою Salem et al. показали наявність значної кількості тромбів у малих судинах, гіперплазію ендотеліальних клітин та значну кількість дегенеративно змінених перицитів, що містили великі ліпідні краплі [169].

Однією з найбільш відомих анатомічних особливостей гіперглікемічного ушкодження мікросудин є потовщення базальної мембрани (БМ) капілярів.

Результати багатьох досліджень продемонстрували, що у скелетних м'язах пацієнтів із цукровим діабетом 1 типу спостерігалися потовщення БМ капілярів [25]. У роботі Groen et al. представлені результати вивчення структури БМ капілярів посмугованих м'язів осіб із ЦД2 [89]. Було встановлено, що у хворих товщина БМ капілярів була на 14 % більшою, ніж в осіб контрольної групи. Цікаво зазначити, що кореляції товщини БМ із тривалістю та тяжкістю хронічної гіперглікемії виявлено не було. З іншого боку відомо, що товщина БМ капілярів є нормальною у більшості осіб до початку розвитку ХГ і збільшується поступово як із наростанням вмісту глюкози, так і з тривалістю захворювання [190].

Слід відзначити, що порушення чутливості мікроциркуляторної системи скелетних м'язів до постпрандіального вивільнення інсуліну може призводити до зниження щільності капілярів і морфологічних змін стінки ендотелію [38]. Разом із цим Solomon et al. нещодавно продемонстрували зменшення щільності капілярів скелетних м'язів скелета і біодоступності оксид азоту в осіб із ожирінням та порушенням толерантності до глюкози [177]. А у роботі Groen et al. показано зменшення щільності капілярів посмугованих м'язів та порушення функції ендотеліального глікокаліксу в осіб із цукровим діабетом 2 типу [89].

Поряд із дослідженням впливу ХГ на структуру скелетної мускулатури на сьогодні виконуються поодинокі роботи щодо вивчення структурно-функціональних особливостей перебігу процесу м'язової регенерації та змін міосателітоцитів за умов впливу на організм надмірної кількості глюкози крові.

Як вже зазначалось, резидентні СК скелетних м'язів сприяють постнатальному росту та відновленню скелетних м'язів [138]. За нормальних фізіологічних умов СК є мітотично спокійними, проте активуються у відповідь на пошкодження м'язів шляхом перетворення у міобласти з наступною інтенсивною проліферацією [63, 138]. Після цього більшість міобластів підлягають міогенній диференціації та зливаються з існуючими волокнами для створення нових м'язових волокон, тоді як інші повертаються у спокійний стан для підтримки пулу стовбурових клітин [40]. Показано, що порушення

функціонування СК у тварин практично унеможливорює регенерацію їх скелетних м'язів після різних видів пошкоджень [137], що беззастережно доводить важливість міосателітоцитів для процесу м'язового відновлення.

Дослідження останніх років продемонстрували, що хронічна гіперглікемія погіршує функціонування камбіальних клітин посмугової мускулатури. Так, групою Jeong et al. встановлено, що СК, отримані від мишей, у яких попередньо було змодельовано стрептозотин-індукований цукровий діабет, не здатні до утворення міотуб, що у кінцевому рахунку призводить до пригнічення процесу регенерації після хімічної травматизації м'язів [102].

Колективом Krause et al. проведено вивчення морфологічних особливостей відновлення скелетних м'язів у мишей лінії Akita з моногенною мутацією в гені інсуліну, що фенотипово виявляє себе цукровим діабетом 1 типу. Дослідники показали, що після травматичного ушкодження в м'язах тварин піддослідної групи визначається зменшення площі регенеруючих волокон, зростання площі некротичної ділянки, збільшення вмісту колагену та зменшення кількості макрофагів і СК, порівняно із контрольною групою [110]. Крім того, Aragno et al. повідомляють, що у щурів із стрептозотин-індукованою хронічною гіперглікемією знижується експресія транскрипційних факторів MyoD і міогеніна, що необхідні для активації процесів репаративного міогенезу [20].

Результати роботи дослідницької групи D'Souza et al. показали, що у скелетних м'язах людей з цукровим діабетом 1 типу, а також у м'язах тварин лінії Akita спостерігається зменшений вміст СК [61]. Молекулярно-генетична частина експерименту дала змогу встановити, що найбільш ймовірною причиною зниження сателітоцитів за умов впливу на організм надмірної глікемії є порушення функціонування сигнальної системи Notch. Разом із цим Fujimaki et al. виявили зменшення загального вмісту СК та пригнічення експресії компонентів Notch- та Wnt-хляхів у скелетних м'язах щурів із попередньо змодельованим цукровим діабетом [79].

Цікавими є також результати досліджень щодо впливу на СК скелетних м'язів та їх регенеративні можливості хронічної гіперглікемії, що здебільшого характерна для цукрового діабету 2 типу. Групою Nguyen et al. був проведений експеримент на трансгенних щурах із мутацією у гені лептину (*ob/ob*) та гені його рецептору (*db/db*), що є класичними генетичними моделями ЦД2 [139]. Результати дослідження показали значну затримку та незавершеність посттравматичної регенерації посмугованих м'язів у *ob/ob*- і *db/db*-щурів. Порушення регенерації м'язів у цих тварин було пов'язано зі зниженням накопичення макрофагів у зоні регенерації, порушенням ангиогенезу, зниженням проліферації супутникових клітин і активності міобластів.

На сьогодні також існують повідомлення про вплив на процеси регенеративного міогенезу надмірного вмісту жирів, що є основною причиною настання ЦД2. Колектив Peterson et al. показав, що ожиріння у трансгенних щурів лінії ZUC-Lepg призводить до пригнічення проліферації супутникових клітин без змін кількості неактивних камбіальних клітин м'язів [151]. Авторами також було показано зниження вмісту білків MyoD і міогеніну у посмугованих м'язах щурів із ожирінням.

Групою Hu et al. було виявлено порушення регенерації м'язів після кардіотоксин-індукованої травми у мишей, що протягом 8 місяців перебували на дієті із високим вмістом жирів [99]. Морфологічними референтами таких змін виявились зменшення загальної ваги ушкодженого м'яза, зменшення кількості волокон, що регенерують, зростання площі інтерстиційного простору та значне накопичення колагену.

Схожі результати були отримані і в експериментах із короткостроковим харчуванням із високим вмістом жирів [76, 204]. Було продемонстровано зниження кількості СК, зменшення волокон, що регенерують, та збільшення колагенових волокон у регенератах м'язів дослідних щурів, порівняно із контрольними.

Експерименти із трансгенними мишами, у яких присутня надмірна продукція ліпопротеїнліпази, показали збільшене поглинання вільних жирних



кислот скелетними м'язами та розвиток важкої міопатії [183, 121]. Групою Tamilarasan et al. було встановлено, що через десять днів після травми м'язів площа поперечного перетину регенеруючих міофібрил у трансгенних щурів була значно меншою, ніж у тварин дикого типу [183], що вказує на те, що накопичення ліпідів у скелетних м'язах погіршує їх післятравматичне відновлення. Слід також відзначити, що роботою Aguiari et al. показано, що хронічний вплив надмірної глікемії стимулює адипогенну диференціацію стовбурових клітин скелетних м'язів [16].

Крім того, супутникові клітини, отримані від пацієнтів або від тварин із хронічною гіперглікемією виявляють характерні фенотипові ознаки, що включають підвищену експресію запальних цитокінів, знижене окислення ліпідів, порушення поглинання глюкози і інсулінову резистентність [70, 75, 88]

Таким чином, результати вище наведених досліджень вказують на те, надмірний вміст глюкози крові та пов'язані з цим метаболічні розлади призводять до зниження кількості і міогенної здатності СК, що у кінцевому рахунку стає причиною пригнічення посттравматичної регенерації скелетних м'язів. Проте на даний час відсутнім є комплексний мікроскопічний, ультрамікроскопічний та мікроелементний аналіз перебігу процесу відновлення посмугованої мускулатури за умов дії на організм хронічної гіперглікемії, що дозволило б отримати точну морфологічну картину перебігу міогенезу за таких умов.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Загальна характеристика експериментального матеріалу

Для дослідження структурних особливостей посттравматичного відновлення скелетних м'язів за умов впливу на організм ХГ був виконаний експеримент на 140 лабораторних білих щурах-самцях зрілого віку (7-9 місяців).

Перед початком експерименту всі тварини були оглянуті на предмет їх рухової активності та стану зовнішнього покриву. Після цього щури підлягали двотижневій карантинізації.

Тварини доглядалися відповідно до загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень 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.); Хельсинська 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 проведення експериментальних робіт норми етики і моралі порушені не були. Щури знаходились у кімнаті віварію за умов сталої температури (24-25 °С), вологості (60 ± 5%) та за умов 12-годинного циклу зміни темряви та освітлення. Поточне прибирання кліток виконували щоденно.

## 2.2. Методика проведення експерименту

Усі використані в дослідженні щури були розподілені на чотири групи: I – група із механічної травмою ТМЛ – контрольна група (40 щурів); II – тварини із механічним ушкодженням ТМЛ та змодельованою ХГ (40 щурів); III – щури із механічної травмою ТМЛ, експериментальною ХГ та введенням у ділянку пошкодження м'яза ЗТП (40 щурів); IV-A (10 щурів) та IV-B (10 щурів) – група для підтвердження використаної в експерименті моделі ХГ (табл. 2.2.1).

Моделювання ХГ у тварин II, III та IV-B груп проводили наступним чином [24, 202]. Протягом двох тижнів щури замість питної води вживали 10 % водний розчин фруктози. Після цього кожній істоті було одноразово виконане внутрішньоочеревинне введення стрептозотоцину (40 мг/кг) («Sigma-Aldrich», США) у цитратному буфері (рН – 4,5) та нікотинової кислоти (1 мг/кг). Щурам контрольної групи (I) та тваринам підгрупи IV-A була зроблена одноразова внутрішньоочеревинна ін'єкція стерильного цитратного буферу. Після введення стрептозотоцину тварини перебували у звичайних умовах віварію на звичайному харчовому та питному раціоні впродовж 60 діб.

Слід зазначити, що підтвердження ефективності експериментальної моделі ХГ вимагає оцінки низки параметрів біохімічного аналізу крові щурів. Для проведення вказаних тестів необхідно провести забір не менше, ніж 3-х мл крові від кожної тварини, що становить приблизно 25-30 % від загального об'єму крові щурів. При цьому відомо, що втрата крові щуром в об'ємі, що перевищує 3 % від загального об'єму крові, призводить до патологічних наслідків [19]. Таким чином, взяття крові для біохімічного аналізу від тварин основних дослідних груп (I, II, III) було неможливим, оскільки призводило би до того, що процес відновлення скелетних м'язів відбувався в умовах анемії. Така обставина не дозволяла б отримати результати, що відповідають меті та завданням дослідження.

Саме тому нами була паралельно до основних груп щурів створена група IV, що слугувала для оцінки стану глюкозного гомеостазу та підтвердження

наявності експериментальної гіперглікемії. Для цього на 60-у добу після відтворення моделі ХГ у щурів підгрупи IV-A (тварини, яким було введено цитратний буфер) та IV-B (тварини, яким виконувалась ін'єкція стрептозотоцину та нікотинової кислоти) визначали показники вмісту глюкози натще, інсуліну, С-пептиду, загального холестеролу, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ) та ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ).

Щури групи IV-A також були використані для вивчення структурних особливостей і хімічного складу ТМЛ у нормі, що дозволяло краще розуміти результати, отримані під час дослідження процесу регенерації м'язів та проводити порівняльний аналіз.

Таблиця 2.2.1 – Структура експерименту та кількість піддослідних тварин

<b>Щури, яким було нанесено механічну травму скелетного м'яза</b>				
Група	Термін експерименту та кількість тварин			
	3-а доба	7-а доба	14-а доба	28-а доба
I (Контроль)	10 щурів	10 щурів	10 щурів	10 щурів
II (ХГ)	10 щурів	10 щурів	10 щурів	10 щурів
III (ХГ + ЗТП)	10 щурів	10 щурів	10 щурів	10 щурів
Загалом	120 щурів			
<b>Щури, використані для підтвердження ефективності моделі хронічної гіперглікемії</b>				
Група	Кількість тварин			
IV-A (без ХГ)	10 щурів			
IV-B (ХГ)	10 щурів			
Загалом	20 щурів			
Загалом в експерименті	140 щурів			

Примітка: ХГ – хронічна гіперглікемія; ЗТП – збагачена тромбоцитами плазма.

Після 60-и діб від відтворення ХГ щурам I, II і III груп була змодельована механічна травма ТМЛ. Обрана модель є модифікацією способу відтворення

травми скелетних м'язів, описаного Tsai et al. [189]. Оперативне втручання проводили в асептичних умовах під кетаміновим наркозом. За 30 хвилин до початку операції тваринам внутрішньом'язово вводили ксилазин (3 мг/кг) та кетамін (8 мг/кг).

Травму відтворювали шляхом лінійного глибокого розрізу перпендикулярно ходу м'язових волокон в точці, яка знаходиться на 40 % дистальніше проксимального кінця латеральної головки ТМЛ. Для травматизації використовували офтальмологічний ніж (ширина леза – 1,8 мм; довжина леза – 4,5 мм). Ширина дефекту становила приблизно 75 % ширини м'язу; глибина дефекту становила приблизно 50 % товщини м'язу. У кінці операції проводили зіставлення країв рани та зашивання шкіри.

Тваринам III групи з метою можливої корекції негативного впливу ХГ на процеси регенерації м'язів перед накладанням шва у рану було введено аутологічну збагачену тромбоцитами плазму (ЗТП) крові (доза – 250 мкл). Із цією метою попередньо у тварин із латеральної хвостової вени проводили забір 0,8 мл крові у вакутайнери, що містили розчин натрію цитрату. Втрачений об'єм крові негайно відновлювали інфузією стерильного фізіологічного розчину.

Відібрану кров центрифугували впродовж 20 хв зі швидкістю 2 000 об/хв. У результаті в пробірці спостерігалися дві фракції компонентів крові: нижня фракція темно-червоного кольору (клітинні компоненти) та верхня фракція солом'яно-жовтого кольору (компоненти сироватки). Після цього піпетували весь вміст верхньої фракції та верхньої частини нижньої фракції і переносили їх в іншу пробірку. Отриманий матеріал центрифугували впродовж 15 хв зі швидкістю 2 000 об/хв, що призводило до утворення двох фракцій: нижньої – збагаченої тромбоцитами плазми, верхньої – збідненої на тромбоцити плазми. Вміст нижньої фракції переносили в стерильну пробірку та доводили об'єм до 0,25 мл за допомогою 10 % розчину кальцію хлориду [57]. Отриманий розчин вводили тваринам у ділянку травмованого ТМЛ.

Вивчення морфологічних та мікроелементних особливостей регенерації скелетних м'язів в усіх групах проводили на 3-у, 7-у, 14-у та 28-у добу після нанесення механічної травми відповідно до основних фаз відновлення посмугованої мускулатури [71, 138]. Тварин із експерименту виводили по 10 істот з групи у кожний термін шляхом передозування тіопенталового наркозу (4мг/100 г маси тіла).

### **2.3. Методи дослідження**

У даній роботі нами були використані наступні методи.

#### **2.3.1 Органометрія.**

Органометрія у класичному варіанті включає визначення просторово-геометричних показників, оцінку кількісних параметрів (зокрема ваги) та розрахунок на основі цього відносних величин (коефіцієнтів). Однак, оцінка стереометричних параметрів триголового м'яза литки щурів (визначення довжини, товщини, діаметру та об'єму м'яза) після його масивного механічного ушкодження є досить складною задачею, що в кінцевому рахунку дає досить неінформативні результати. Виходячи з цього, у подібних дослідженнях підрахунок вказаних показників зазвичай не виконується. Саме тому нами було проведено визначення лише вагометричних параметрів. Вагу тварин визначали із використанням електронних вагів АСОМ JW (точність до 0,01 г). Після зважування сепарували від тушок щурів потрібні зразки триголового м'яза литки. Абсолютну вагу ТМЛ визначали за допомогою аналітичних терезів САУХ.

#### **2.3.2 Лабораторний метод.**

У кожної тварини IV групи був проведений забір 3 мл крові натще із ретроорбітального венозного сплетіння та/або шляхом серцевої пункції. Кров збирали у вакутайнери, що містили етилендіамінтетраацетат (ЕДТА).

Концентрацію глюкози у плазмі крові визначали в лабораторних умовах гексокіназним методом за допомогою аналізатора Cobas 6000 (Швейцарія). Детекцію вмісту інсуліну проводили за допомогою імунохімічного методу з електрохемілюмінесцентною детекцією із використанням стандартних тест-систем та аналізатору Cobas 6000 (Швейцарія). Рівень С-пептиду у плазмі крові визначали імунохімічним методом з хемілюмінесцентною детекцією на аналізаторі Immulite (Німеччина). Нарешті, показники ліпідного профілю (загальний холестерол, тригліцериди, ЛПНЩ, ЛПВЩ) оцінювали ферментативно-колориметричним способом за допомогою стандартних тест-систем та аналізатору Cobas 6000 (Швейцарія).

### **2.3.3 Гістологічне вивчення та гістоморфометрія.**

З метою вивчення мікроскопічної будови м'язових регенератів у місці дефекту у ділянці середини м'язового черевця латеральної головки триголового м'яза литки вирізали шматочки розміром 10 мм<sup>3</sup>. Далі проводили фіксування відібраних зразків у 10% розчині нейтрального формаліну протягом двох діб. Даний метод перешкоджає виникненню постмортальних змін у м'язі, що б могло призвести до спотворення структурних елементів ТМЛ. Потім з отриманих препаратів робили поздовжні (по ходу м'язових волокон у місці дефекту) та поперечні (поперек м'язових волокон у місці дефекту) зрізи на санному мікротомі МС-2 з товщиною зрізів 4-6 мкм. Далі гістологічні зрізи фіксували на знежирені (яєчний білок і гліцерин 1:1) предметні скельця та висушували.

Фарбування проводили гематоксилін-еозином та пікросиріусом червоним. Також робили напівтонкі зрізи (товщина 1 мкм), які фарбували метиленовим синім. У кожній підгрупі забір зразків триголового м'яза на гістологічний аналіз проводили від усіх 10 щурів. Для вивчення кожного препарату проводили аналіз у двох зонах регенеруючого м'язу (у периферичній зоні та у крайовій зоні дефекту) та використовували 10 зрізів, в яких проводили якісний аналіз і дослідження морфометричних показників у 10 полях зору.

Світлову мікроскопію проводили з використанням мікроскопу Olympus BH-2 (Японія) (біокуляр  $\times 10$ ,  $\times 15$ , об'єктиви  $\times 10$ ,  $\times 20$ ,  $\times 40$ ). Фотографування гістологічних препаратів виконували цифровою камерою Baumer/optronic Тур: CX 05c. Мікроморфометричний аналіз здійснювали за допомогою мікросітки, мікролінійки та з використанням універсальної обчислювальної програми «Digimizer».

Усі м'язові волокна (МВ) були розділені на три типи: нормальні м'язові волокна (НМВ) – незмінені м'язові волокна; пошкоджені м'язові волокна (ПМВ) – атипові волокна та волокна із ознаками пошкодження; регенеруючі м'язові волокна (РМВ) – волокна із центральнорозташованими ядрами та без ознак ураження.

У рамках двовимірного аналізу проводили визначення загальної кількості МВ, кількості ПМВ, РМВ, кількості судин, площі РМВ, площі регенерації (ПР), площі ушкодження (ПУ), відносної площі сполучної тканини (ВПСТ), кількості гранулоцитів і агранулоцитів. ПР розраховували як відсоток площі регенеруючих волокон від загальної площі всіх м'язових волокон; ПУ визначали як відсоток площі ушкоджених волокон від загальної площі всіх м'язових волокон; ВПСТ визначали як відсоток площі сполучної тканини від загальної площі поперечного перетину м'язу.

Також проводили якісну оцінку наступних гістологічних змін: некроз (м'язові волокна з порушенням цілісності мембрани, вакуолізацією та дезорганізацією саркоплазми); набряк сполучної тканини (збільшення сполучнотканинних просторів без ознак утворення нових волокон); запальна інфільтрація (кількість лейкоцитів); васкуляризація (кількість судин); фіброз (ділянки новоутворених колагенових волокон).

#### **2.3.4 Ультрамiкроскопія.**

Для проведення ультрамiкроскопічного аналізу в ділянці м'яза з візуальним дефектом вилучали шматочки розміром  $1\text{мм}^3$  із використанням гострого леза. Фіксацію зразків ТМЛ проводили у 2,5 % розчині глутарового



альдегіду на 0,20 М какодилатному буфері (рН = 7,2 t +4°C). Надалі препарати тричі промивали у цьому ж буфері і постфіксували у 1 % розчині OsO<sub>4</sub> протягом 4 годин (t +2°C). Після цього м'язові біоптати дегідрували за допомогою серії спиртів висхідної концентрації (по 20 хвилин у 50%, 70%, 80%, 90% та 100% розчинах).

Заливали матеріал у капсули з готовою сумішшю смол епона та аралдита (аралдит М – 20 мл, епон 812 – 25 мл, ущільнювач ДДСА – 60 мл, каталізатор ДМР-30 – 2% (6 крапель) та залишали на 1 добу при кімнатній температурі повітря. Після цього препарати поміщали у термошафу при температурі 60°C з метою полімеризації.

Використовуючи ультрамікротом УМТП-6м (Україна) готували напівтонкі (1 мкм) та ультратонкі (40-60 нм) зрізи. Проводили фарбування матеріалу толуїдиновим синім та вивчення у світловому мікроскопі з метою аналізу та прицільної заточки пірамідки перед ультрамікротомуванням. Після цього проводили дворазове контрастування встановлених на мідних сітках ультрамікрорізів. Спочатку протягом 15 хвилин у 2% розчині ураніл ацетату, а вже потім протягом 30 хвилин у розчині цитрату свинцю по Рейнольдсу.

Ультрамікроскопічне дослідження реалізовували за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ-100м (Суми, Україна) з напругою прискорення 75-100 кВ. Світлини досліджуваних препаратів при збільшенні 4800-12600 разів отримували із використанням цифрової відеокамери Baumer/optronic Тур: СХ 05с. Вивчення ультраструктурних компонентів ТМЛ проводили у динамічному режимі за допомогою електронної програми «SEO Image Lab 2.0». У кожній підгрупі забір зразків на ультрамікроскопічний аналіз проводили від усіх 10 тварин.

### **2.3.5 Хіміко-аналітичний метод.**

Визначення вмісту макро- та мікроелементів у зразках скелетних м'язів щурів проводили методами атомно-абсорбційної спектроскопії з електротермічною та полуменевою атомізацією. Зразки триголового м'язу

литки від кожної групи обсушували фільтрувальним папером для видалення надлишку рідин. Зважування зразків проводили у фторопластових стаканах на електронних аналітичних вагах ANG100C фірми «AXIS» II класу. Після зважування стакани зі зразками переносили у фторопластовий автоклав і вносили 3 мл нітратної кислоти для кислотної мінералізації. Вміст елементів у реактивах та на стінках посуду контролювали приготуванням «холостої проби».

Автоклави нагрівали на лабораторній електричній плитці Saturn ST-EC1161 із термостатом за температури 150–160 °C упродовж 2 годин, охолоджували, вміст стаканів переносили в мірні пробірки і доводили бідистилятом до 10 мл. Після автоклавної мінералізації отримували безбарвні прозорі рідини, придатні для визначення вмісту хімічних елементів атомно-абсорбційними методами. Уміст К, Na та Ca визначали на спектрофотометрі S-115-M1 AT «Selmi» (Україна) з полуменевою атомізацією в режимі емісії (табл. 2.3.1).

Таблиця 2.3.1 Спектральні умови вимірювання та атомізації для К, Na та Ca

Елемент	Довжина хвилі, нм	Спектральна щілина, нм	Горючий газ	Окисник	Тем-ра полум'я	Тип полум'я
К	769,9	0,4	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	Повітря	2300	Окисне
Na	589,0	0,4	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	Повітря	2300	Окисне
Ca	422,7	0,4	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> O	2950	Стехіометричне

Визначення концентрації Mg, Fe, Mn, Zn та Cu проводили на комплексі атомно-абсорбційному CAS-120.1 з електротермічним атомізатором А-5 і графітовою піччю Carl Zeiss Jena (Німеччина) в режимі адсорбції (табл. 2.3.2). Проби відміряли і вносили в піч дозатором FAA-50 об'ємом 10 мкл. Аналітичний сигнал сканували з кроком 0,016 с та обробляли програмою «AAS-SPECTR3».

Таблиця 2.3.2 Спектральні та температурно-часові режими вимірювань

Елемент	Довжина хвилі, нм	Ширина щілини, нм	Піроліз		Атомізація	
			T, °C	$\tau$ , с	T, °C	$\tau$ , с
Mg	202,6	0,4	1 000	10	2 200	5
Fe	372,0	0,4	1 000	10	2 500	5
Mn	279,5	0,4	1 000	10	2 500	4
Zn	213,9; 307,4	1,0	600	10	2 100	5
Cu	324,7	0,4	1 000	10	2 500	5

### 2.3.6. Статистичний аналіз.

Статистичне опрацювання одержаних даних проводили за допомогою пакету програм SPSS (версія 17.0, США). Безперервні дані у манускрипті представлені у вигляді значень середньої арифметичної (M) та середнього квадратичного відхилення (SD). Перевірку величин на нормальність розподілу виконано із використанням критерію Колмогорова-Смірнова. Однорідність дисперсій оцінювали за допомогою критерію Лівіня. Визначення достовірності відмінностей між двома групами проводили із використанням двостороннього параметричного критерію Стьюдента (t) для незв'язаних вибірок. Значущість різниці при одночасному порівнянні трьох груп визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) із подальшим апостеріорним тестом Бонферроні. Значення  $P < 0,05$  вважали статистично достовірним.

### РОЗДІЛ 3

## ТРИГОЛОВИЙ М'ЯЗ ЛИТКИ В НОРМІ ТА ПІД ЧАС ПОСТТРАВМАТИЧНОГО ВІДНОВЛЕННЯ В ЩУРІВ КОНТРОЛЬНОЇ ГРУПИ

### 3.1 Морфологічна та хімічна характеристика інтактного триголового м'яза литки щурів

Виконання основного завдання роботи полягало у порівнянні структурних проявів посттравматичного відновлення скелетних м'язів тварин без та із хронічною гіперглікемією. На сьогодні існує низка робіт, в яких описано перебіг м'язового відновлення у щурів без метаболічних розладів [92, 93, 103, 114]. Однак, більшість таких досліджень використовували методи ушкодження м'язів, що відрізняються від обраного нами. Тому, у нашій роботі ми також провели ретельний опис ТМЛ інтактних щурів (група IV-A) для того, щоб достовірно оцінити перебіг і, особливо, картину завершення регенераторного процесу в контрольній групі не лише в контексті порівняння із групою ХГ, а також у порівнянні із нетравмованим м'язом.

Неушкоджений триголовий м'яз литки (ТМЛ) щурів без метаболічних розладів із зовнішньої сторони вкритий напівпрозорою щільною оболонкою зі сполучної тканини. М'яз має червоно-багрянний колір, рівну та гладку на дотик поверхню. Не містить місць дефектів та деформацій. Під час поперечного та поздовжнього зрізів на поверхні голівок ТМЛ візуалізується класичного темно-червоного кольору м'язова тканина з місцями незначних точкових крововиливів.

Мікроскопічний аналіз нетравмованого ТМЛ щурів без ХГ показав, що його будова цілком відповідає структурній організації скелетного м'яза (Рис. 3.1.1). Так, досліджений м'яз складається з пучків посмугованих м'язових волокон. Кожне м'язове волокно являє собою багатоядерну клітину – міосимпласт, що зовні оточений сарколемою та базальною мембраною. Ядра

міосимпластів розміщені під сарколемою вздовж пучків міофібрил, якими заповнена саркоплазма. Для ядер здебільшого характерна овальна форма. При цьому їхня довга вісь орієнтована паралельно цитоплазматичній мембрані м'язового волокна.

Як вже зазначалось, зовні ТМЛ вкритий оболонкою, яка складається із щільної сполучної тканини, – епімізієм. Від нього в глибину м'яза відходять сполучнотканинні перетинки, що оточують пучки м'язових волокон, – перимізій. Кожне м'язове волокно оточене ендомізієм. У товщі сполучнотканинних прошарків розміщуються окремі фібробласти, колагенові волокна, комплекси судин мікроциркуляторного русла та нерви.

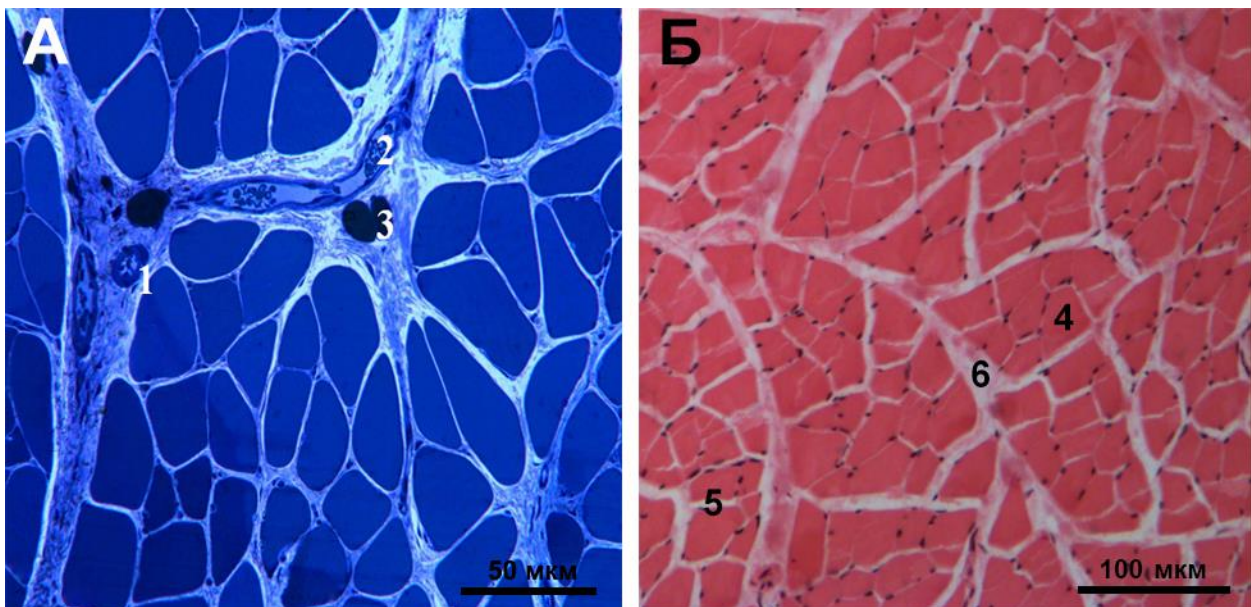


Рисунок 3.1.1 – Триголовий м'яз литки інтактного щура. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – артеріола; 2 – венула; 3 – нерве волокно; 4 – м'язове волокно; 5 – ендомізіій; 6 – перимізій.

Цитоплазма (саркоплазма) кожного м'язового волокна здебільшого заповнена міофібрилами, що складаються з великої кількості саркомерів (рис. 3.1.2). Кожен саркомер представлений актиновими та міозиновими міофіламентами, які, упорядковано розміщуючись, утворюють поперечну

посмугованість м'язового волокна. Візуально саркомери відділені один від одного Z-лініями. Уздовж міофібрил розміщені мітохондрії, трубочки та цистерни саркоплазматичного ретикулуму. Для мітохондрій характерна циліндрична форма. Структурні елементи саркоплазматичного ретикулуму навколо міофібрил формують «манжети», що мають сполучення із порожнинами «манжет» навколо розташованих поруч міофібрил.

У саркоплазмі також розташовуються ядра, поодинокі везикули, електронно-прозорі міхурці та нечисленні лізосоми. Ядра міосимпластів частіше за все мають одне ядерце і, як вже зазначалось, розміщені по периферії зовнішнього краю сарколеми. У деяких м'язових волокнах також між базальною мембраною та сарколемою містяться камбіальні клітини – міосателітоцити (Рис. 3.1.2Б). Останні на електронних мікрофотографіях достатньо схожі на ядра м'язових волокон, проте однією із найбільш характерних морфологічних ознак міосателітоцита є наявність клітинної мембрани, що відділяє його ядро від цитоплазми міосимпласта.

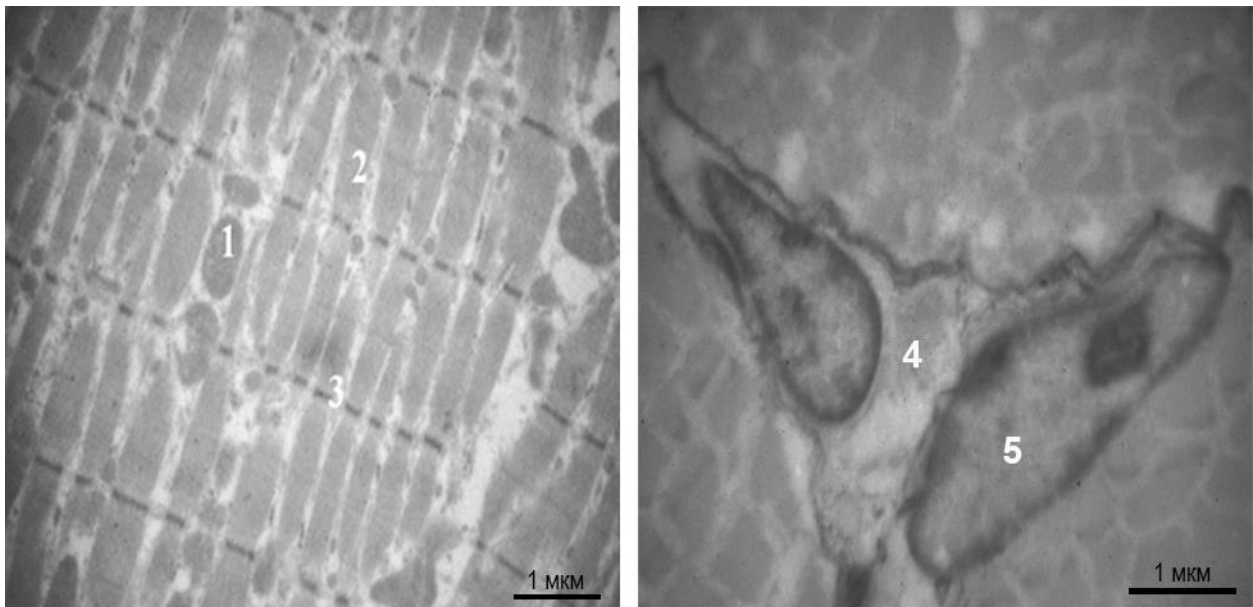


Рисунок 3.1.2 – Ультраструктура триголового м'яза литки інтактного щура. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – мітохондрія; 2 – саркомери; 3 – Z-лінія; 4 – міосателітоцит; 5 – ядро м'язового волокна.

Результати вивчення вмісту хімічних елементів показали, що в інтактному ТМЛ щурів без ХГ вміст калію становить  $(3,51 \pm 0,38)$  мг/г, натрію –  $(0,64 \pm 0,27)$  мг/г, кальцію –  $(0,34 \pm 0,03)$  мг/г, магнію –  $(0,30 \pm 0,09)$  мг/г, заліза –  $(18,30 \pm 2,51)$  мкг/г, цинку –  $(101,31 \pm 23,10)$  мкг/г, міді –  $(0,37 \pm 0,08)$  мкг/г.

### **3.2 Характеристика відновлення триголового м'яза литки після його механічного ураження в щурів контрольної групи**

У щурів групи контролю було відтворено механічну травму ТМЛ та проведено мікроскопічний та хімічний аналіз процесу відновлення цього м'язу на 3-у, 7-у, 14-у та 28-у добу після ушкодження. Окрім цього було проведено визначення ваги тварин і ваги ТМЛ у різні терміни експерименту. Так, на 3-у добу після нанесення травми вага тварин контрольної серії становила  $(268,1 \pm 3,5)$  г, на 7-у добу –  $(269,2 \pm 2,6)$  г, на 14-у добу –  $(278,6 \pm 4,2)$  г, на 28-у добу –  $(296,9 \pm 5,9)$  г.

Зовні м'яз на 3-у добу після травматизації виглядав набряклим, мав темно-червоне забарвлення. У серединній частині розташовувався посттравматичний дефект, що мав нерівний контур, містив запальний інфільтрат та місця крововиливів. Показник ваги ТМЛ у цей термін експерименту склав  $(3,25 \pm 0,33)$  г. На 7-у добу після травми вага м'яза становила  $(3,14 \pm 0,35)$  г. Візуально м'яз був дещо набряклим. У місці ушкодження відзначались незначні ознаки запалення. На 14-у добу показник ваги ТМЛ щурів групи контролю становив  $(2,97 \pm 0,46)$  г. У крайових частинах м'яз мав незмінений вигляд. У серединній частині відзначався посттравматичний дефект, що мав здебільшого рівний контур. Ознаки крововиливів, набряку та запалення не простежувались. На 28-у добу після механічного ушкодження вага ТМЛ у щурів контрольної серії збільшилась до  $(3,01 \pm 0,43)$  г. Візуально у місці нанесення розрізу відзначалось масивне утворення сполучної тканини. Ознак запалення не було.



Гістологічний аналіз посттравматичного дефекту ТМЛ щурів групи контролю на 3-у добу після нанесення травми показав, що у центральній зоні ураження містилась значна кількість зруйнованих м'язових волокон та волокон, що перебували у стадії некрозу (Рис. 3.2.1А). Крім цього спостерігалась інфільтрація еритроцитами, клітинами лейкоцитарного ряду, нитками фібрину та фібробластами різного ступеня диференціювання. У прикрайовій ділянці дефекту кількість фібробластів була вищою, ніж у перичентральній зоні. Клітини мали відносно упорядковане розміщення вздовж пучків молодих колагенових волокон різної щільності. Також у крайовій зоні відзначався масивний набряк сполучнотканинних прошарків, повнокрів'я судин та значна запальна інфільтрація, що поширювалась у бік неураженого м'яза (Рис. 3.2.1Б).

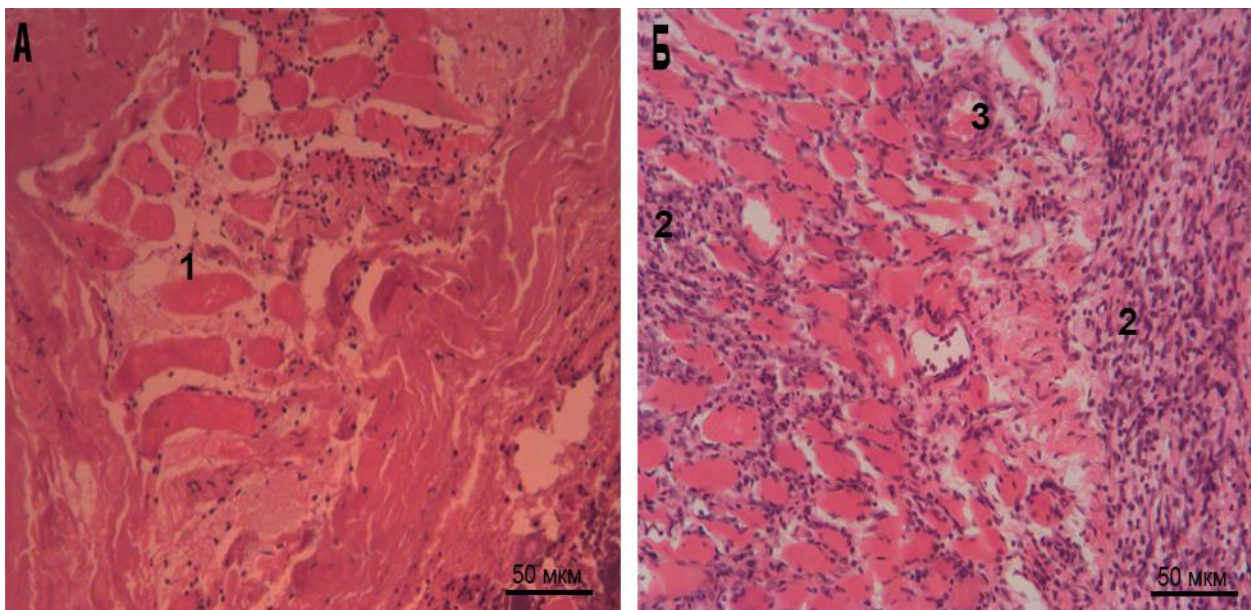


Рисунок 3.2.1 – Перичентральна (А) та крайова (Б) зона дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 3-у добу після нанесення травми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – некротичне м'язове волокно; 2 – лейкоцитарна інфільтрація; 3 – повнокрів'я судин.

Процес міогенезу у контрольних щурів на 3-у добу після травми характеризувався вираженим неоангіогенезом (Рис. 3.2.2А). Новостворені мікросудини мали розширенні просвіти та неправильну форму. Капіляри були



представлені соматичним та фенестрованим типом. Цитоплазма ендотеліоцитів містила добре розвинуті органели, псевдоподії, піноцитозні міхурці та багато вакуоль. Цитоплазматична мембрана ендотеліальних клітин була чітких контурів, без вогнищ лізису. Характерною структурною ознакою капілярів на ранніх стадіях м'язової посттравматичної регенерації було відсутність безперервної базальної мембрани та наявність мультивезикулярних тілець.

Окрім вищезазначеного, ультраструктурний аналіз м'язового дефекту щурів контрольної серії на 3-у добу після ушкодження також показав наявність великої кількості нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів та тканинних базофілів. Макрофаги характеризувалися вираженою фагоцитарною активністю з переважанням у цитоплазмі фагосом і лізосом (Рис. 3.2.2Б). Еритроцити знаходилися на різних стадіях руйнування.

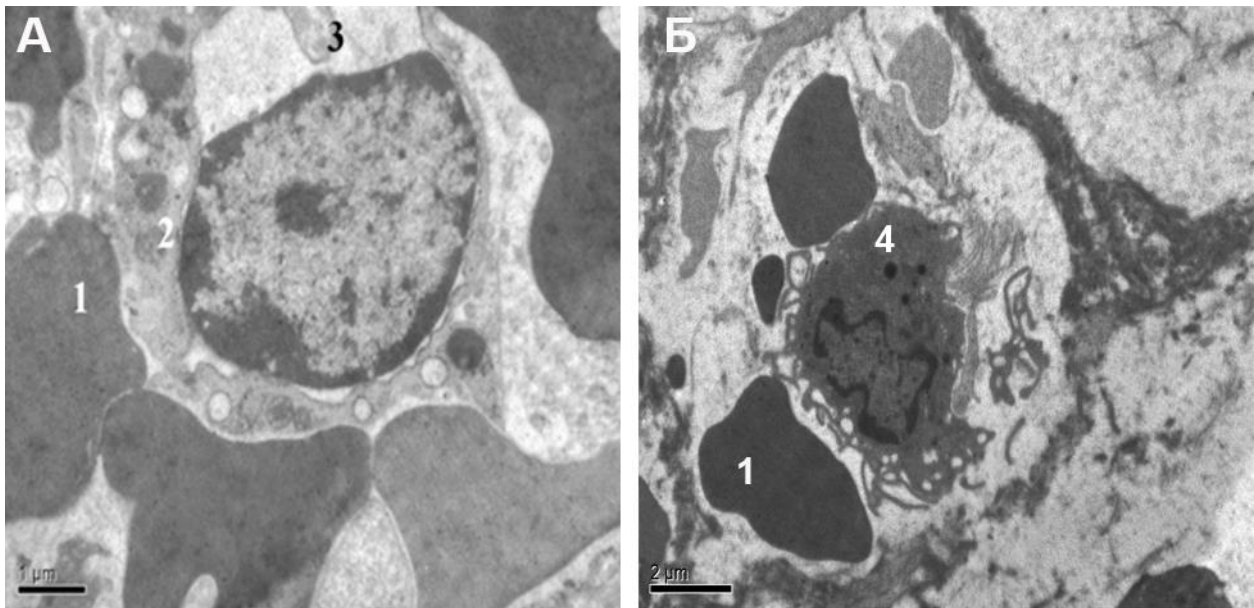


Рисунок 3.2.2 – Ультраструктура ділянки дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 3-у добу після нанесення травми. А – формування капіляру. Б – макрофаг у вогнищі ураження. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – еритроцити в центральній зоні дефекту; 2 – мультивезикулярне тільце; 3 – псевдоподія; 4 – макрофаг.

Морфометричний аналіз м'язового відновлення у щурів контрольної серії на 3-у добу після ушкодження показав, що загальна кількість МВ у периферичній зоні дефекту становила  $(273,40 \pm 20,8)$  шт, а у крайовій зоні –  $(482,80 \pm 29,5)$  шт. При цьому кількість НМВ у периферичній зоні склала  $(63,0 \pm 4,8)$  шт, у крайовій –  $(347,6 \pm 21,1)$  шт. ПМВ у периферичній зоні було  $(210,4 \pm 15,9)$ , а у крайовій –  $(135,2 \pm 8,9)$  шт. РМВ у цей термін експерименту не спостерігались.

У рамках морфометричного аналізу також було проведено визначення та розрахунок середньої площі РМВ, ПУ, ПР та ВПСТ. Виявлено, що на 3-у добу після ушкодження ТМЛ у щурів контрольної серії значення ПУ в периферичній зоні становило  $(76,1 \pm 2,1)$  %, а у крайовій –  $(27,2 \pm 2,8)$  %. При цьому показник ВПСТ у периферичній зоні склав  $(64,7 \pm 3,6)$  %, у крайовій –  $(36,9 \pm 4,5)$  %. Новоутворені м'язові волокна були відсутніми.

Підрахунок кількості мікросудин, гранулоцитів та агранулоцитів у посттравматичних дефектах ТМЛ щурів контрольної групи показав наступні результати. Так, на 3-у добу після нанесення травми кількість мікросудин у периферичній зоні склала  $(10,7 \pm 0,8)$  шт/поле зору. Тоді як у крайовій зоні цей показник становив  $(19,3 \pm 1,2)$  шт/поле зору. Кількість лейкоцитарних гранулоцитів у периферичній зоні дефекту ТМЛ щурів контрольної серії на 3-у добу експерименту склала  $(4580,9 \pm 336,1)$  шт/мм<sup>2</sup>, у крайовій зоні –  $(2955,1 \pm 516,2)$  шт/мм<sup>2</sup>. При цьому вміст агранулоцитів у периферичній ділянці виявилось  $(508,8 \pm 37,5)$  шт/мм<sup>2</sup>, у крайовій зоні –  $(328,1 \pm 57,4)$  шт/мм<sup>2</sup>.

Нарешті, результати хіміко-аналітичного дослідження показали, що у ТМЛ щурів контрольної групи на 3-у добу після нанесення механічної травми було  $(4,11 \pm 0,47)$  мг/г калію,  $(0,72 \pm 0,27)$  мг/г натрію,  $(0,39 \pm 0,07)$  мг/г кальцію,  $(0,40 \pm 0,12)$  мг/г магнію,  $(19,56 \pm 2,71)$  мкг/г феруму,  $(101,49 \pm 20,03)$  мкг/г цинку та  $(0,39 \pm 0,07)$  мкг/г міді.

Гістологічний аналіз ТМЛ щурів контрольної серії на 7-у добу після відтворення механічної травми показав, що периферична зона дефекту була заповнена багаточисленними фібробластами та пучками неупорядковано

розміщених колагенових волокон (Рис. 3.2.3А). Поряд із цим зберігався набряк тканин та лейкоцитарна інфільтрація. М'язові волокна, що прилягали до перинекротичної зони, на 7-у добу експерименту були дезорганізованими. У цих ділянках спостерігався перивазальний набряк та повнокрів'я судин (Рис. 3.2.3Б).

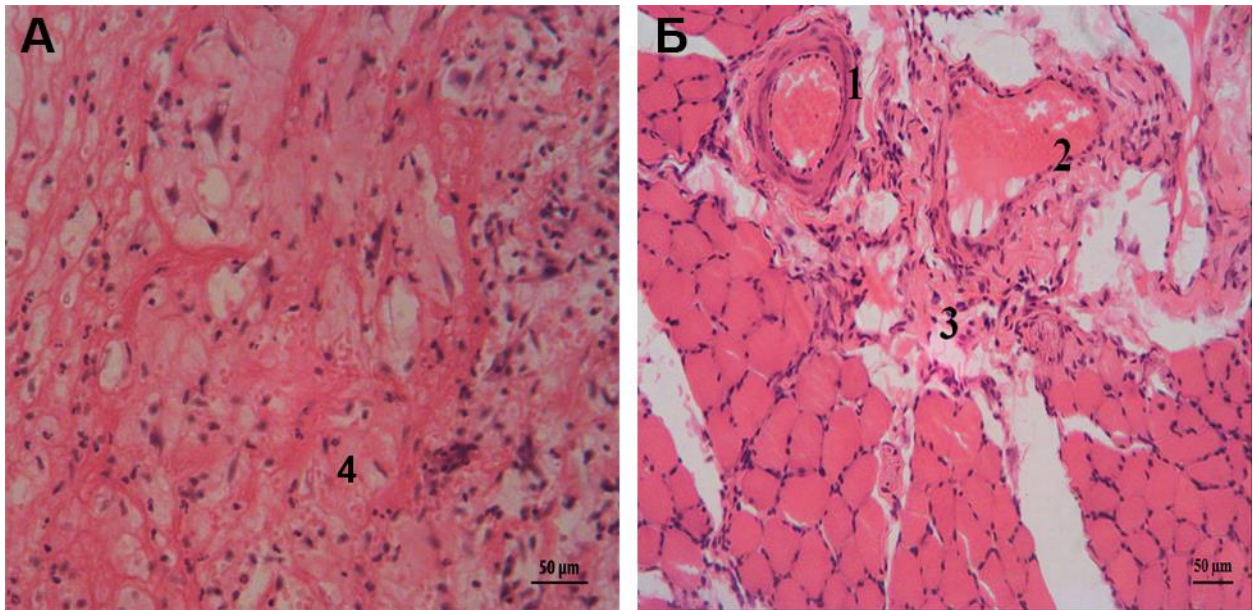


Рисунок 3.2.3 – Перицентрально (А) та крайова (Б) зона дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 7-у добу після нанесення травми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – артеріола; 2 – венула; 3 – перивазальний набряк та лейкоцитарна інфільтрація; 4 – новоутворена сполучна тканина.

Дані ультрамікроскопічного аналізу посттравматичного дефекту ТМЛ щурів контрольної групи на 7-у добу після нанесення травми показали, що фібробласти у перицентральної зоні мали велику за площею цитоплазму, багаточисленні органели, які займали значну її частину. Гранулярний ендоплазматичний ретикулум був представлений розвинутими та розширеними цистернами і каналцями, що розміщувалися по всій площі клітини. Мітохондрії характеризувалися гетерогенністю в контексті внутрішньоклітинної локалізації. У перинуклеарній зоні вони мали округлу

форму, невеликі розміри та малу поверхню внутрішньої мембрани. Ближче до периферії клітини мітохондрії збільшувалися у розмірах. Безпосередньо під плазмолемою мали видовжену форму з великою площею мембран та упорядковані, поперечно розміщені довгій вісі кристи. Представлені структурні характеристики свідчать про високе функціональне навантаження молодих фібробластів (Рис. 3.2.4).

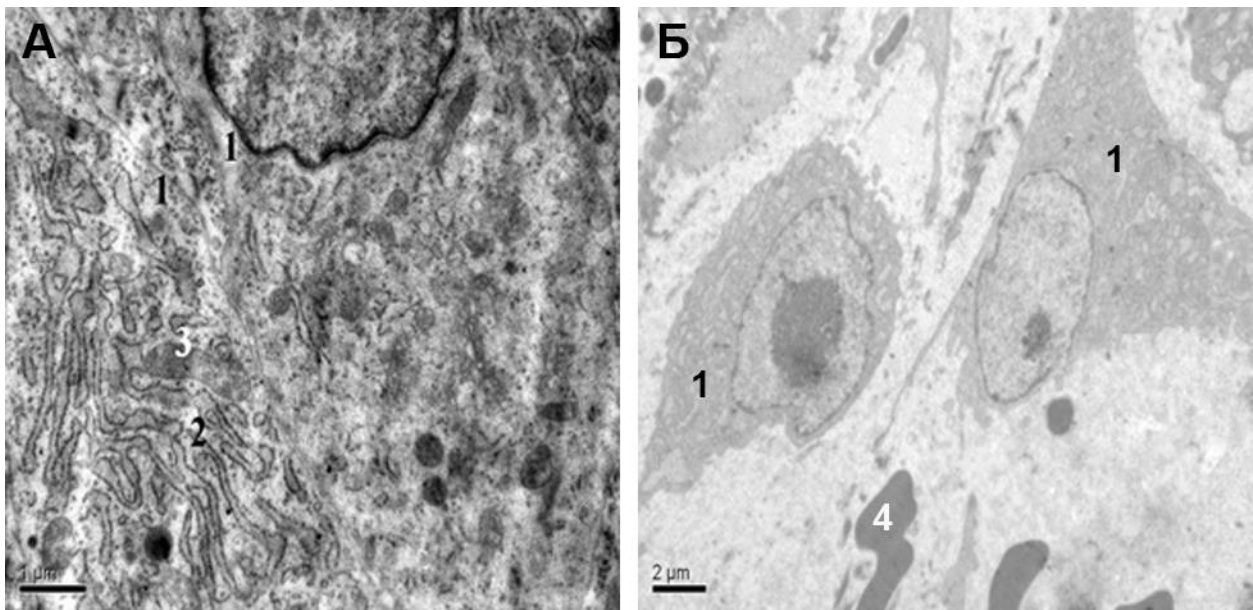


Рисунок 3.2.4 – Ультраструктура дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 7-у добу після нанесення травми. А – внутрішньоклітинна організація фібробласта. Б – фібробласти у перичентральній зоні дефекту. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – фібробласт; 2 – цистерни гЕПР; 3 – мітохондрія; 4 – еритроцит.

Результати морфометричного аналізу процесу регенерації ТМЛ тварин групи контролю на 7-у добу після травми показали, що загальна кількість МВ у перичентральній ділянці м'язового дефекту склала  $(281,6 \pm 32,9)$  шт, у крайовій ділянці –  $(498,1 \pm 31,7)$  шт. Серед них НМВ у перичентральній зоні було  $(56,4 \pm 6,6)$  шт, у крайовій –  $(343,7 \pm 21,8)$  шт. Кількість ПМВ у перичентральній зоні дефекту ТМЛ у цей термін склала  $(202,7 \pm 23,7)$ , а у крайовій –  $(129,5 \pm 8,3)$  шт. На 7-у добу після завдання механічної травми у дефектах ТМЛ щурів

контрольної групи вже відзначались РМВ. Так, їхня кількість у перичентральній зоні становила  $(211,5 \pm 14,1)$  шт РМВ, а у крайовій зоні –  $(100,1 \pm 6,3)$  шт.

Показники виміру та розрахунку площ різних структурних компонентів посттравматичного дефекту ТМЛ щурів групи контролю на 7-у добу експерименту були наступними. Показник ПУ у перичентральній ділянці склав  $(75,7 \pm 2,0)$  %, а у крайовій –  $(26,6 \pm 1,7)$  %. Значення ВПСТ у перичентральній ділянці становило  $(67,1 \pm 5,9)$  %, а у крайовій ділянці –  $(37,3 \pm 4,8)$  %. У цей термін експерименту вже також були отримані значення площі регенерації та середньої площі регенеруючих м'язових волокон. Так, у перичентральній зоні м'язового дефекту ПР становила  $(1,5 \pm 0,3)$  %, а у крайовій зоні –  $(0,8 \pm 0,1)$  %. При цьому ПРМВ склала  $(213,6 \pm 44,4)$  мкм<sup>2</sup> та  $(206,0 \pm 33,8)$  мкм<sup>2</sup> для перичентральної та крайової ділянок відповідно.

Аналіз кількості мікросудин та клітин лейкоцитарного ряду у ТМЛ тварин контрольної серії на 7-у добу після нанесення механічної травми показав такі результати. Загальна кількість мікросудин у перичентральній ділянці становила  $(11,2 \pm 1,5)$  шт/поле зору, а у крайовій ділянці –  $(19,9 \pm 1,2)$  шт/поле зору. Уміст гранулоцитів у перичентральній зоні м'язового дефекту щурів групи контролю на 7-у добу після ушкодження склав  $(4289,0 \pm 295,1)$  шт/мм<sup>2</sup>, а у крайовій зоні –  $(2309,1 \pm 515,2)$  шт/мм<sup>2</sup>. Поряд із цим кількість агранулоцитів у перичентральній зоні становила  $(476,2 \pm 32,9)$  шт/мм<sup>2</sup>, а у крайовій ділянці дефекту –  $(256,2 \pm 27,2)$  шт/мм<sup>2</sup>.

Дослідження вмісту хімічних елементів у ТМЛ щурів контрольної серії на 7-у добу після відтворення механічної травми показало, що концентрація К становила  $(3,96 \pm 0,49)$  мг/г, Na –  $(0,79 \pm 0,21)$  мг/г, Ca –  $(0,39 \pm 0,09)$  мг/г, Mg –  $(0,41 \pm 0,10)$  мг/г, Fe –  $(19,92 \pm 2,37)$  мкг/г, Zn –  $(100,82 \pm 19,63)$  мкг/г, Cu –  $(0,39 \pm 0,06)$  мкг/г.

На 14-у добу після нанесення механічної травми мікроскопічна картина дефекту ТМЛ щурів контрольної групи характеризувалась появою відносно великої кількості м'язових волокон із центрально розташованими ядрами (Рис.



3.2.5). Клітини мали різний розмір і форму та розміщувались між пучками колагенових волокон і фібробластів. Поряд із цим зберігались незначні ознаки лейкоцитарної інфільтрації.

Також у цей термін дослідження спостерігалось більш активне проростання місця дефекту мікросудинами, порівняно із попередніми строками. У частині новостворених судин мікроциркуляторного руслу спостерігалися структурні зміни, що полягали у розширенні їх просвітів, внаслідок чого відбувалося пропотівання формених елементів крові у навколишні тканини (Рис. 3.2.6).

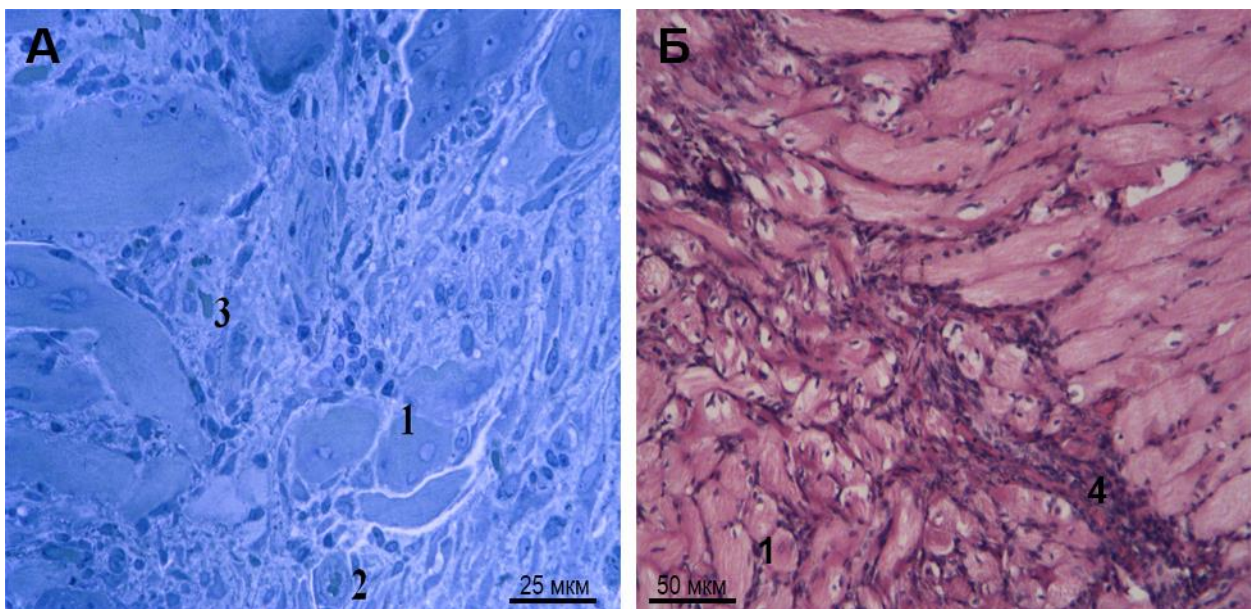


Рисунок 3.2.5 – Перичентральна (А) та крайова (Б) зона дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 14-у добу після нанесення травми. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – регенеруюче м'язове волокно; 2 – артеріола; 3 – капіляр; лейкоцитарна інфільтрація.

Ультрамікроскопічне дослідження м'язового дефекту щурів контрольної серії на 14-у добу після ушкодження показало наявність активованих міосателітоцитів, фібробластів різних ступенів диференціювання, телоцитів та судин мікроциркуляторного руслу. Цитоплазма міосателітоцитів містила одне,

інколи декілька ядер, що розташовувались серед саркоплазми на відносно великій відстані від клітинної мембрани. У ядрі переважав еухроматин. Також у саркоплазмі міогенних клітин відзначались пучки міофібрил, гранулярна ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі та мітохондрії (Рис. 3.2.7). Навколоядерний простір був розширеним. Клітини мали цілісну плазмолему, були щільно оточені колагеновими волокнами та сполучнотканинним матриксом.

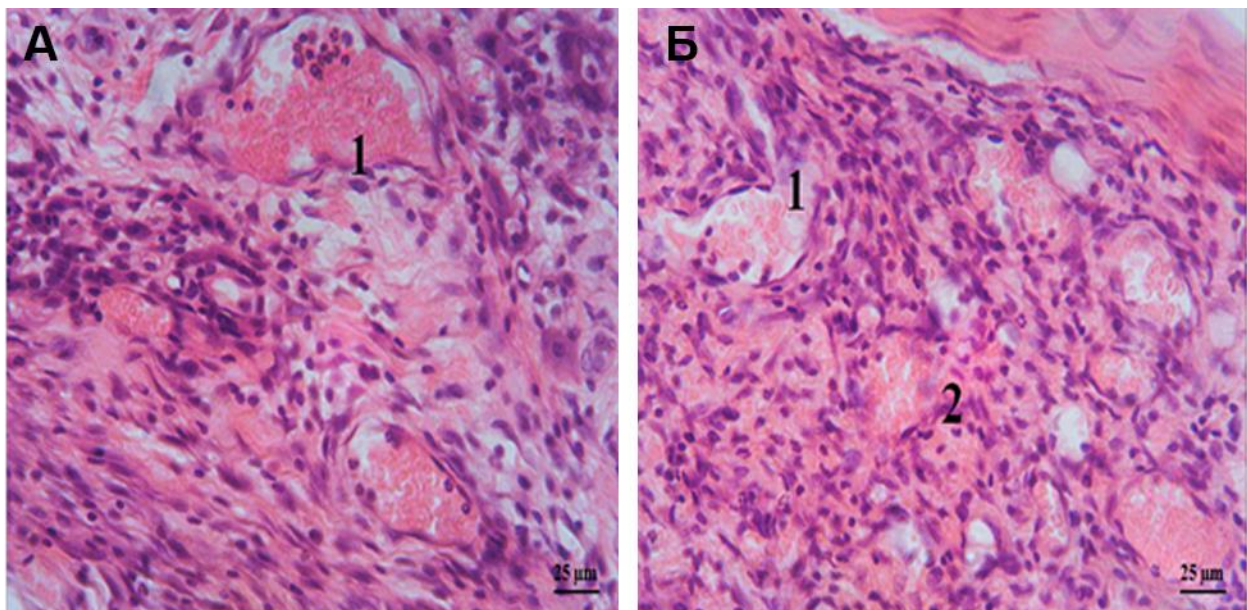


Рисунок 3.2.6 – Перицентрально ділянка дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 14-у добу після нанесення травми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – деструктивно-дегенеративні зміни у судинах; 2 – пропотівання формених елементів крові у навколишні тканини.

Результати визначення вмісту різних м'язових волокон у посттравматичних дефектах ТМЛ щурів контрольної серії на 14-у добу після нанесення механічної травми показали, що, порівняно із попередніми термінами дослідження, загалом МВ стало майже у два рази більше. Так, у периферійній зоні було виявлено  $(481,0 \pm 31,7)$  шт МВ, а у крайовій зоні –  $(499,7 \pm 32,1)$  шт. Кількість НМВ у периферійній ділянці склала  $(72,2 \pm 4,8)$  шт, у крайовій –  $(339,6 \pm 21,7)$  шт. Кількість ПМВ у периферійній зоні

дефекту ТМЛ лишилась практично незмінною і становила ( $197,2 \pm 12,9$ ), тоді як у крайовій зоні вміст ПМВ зменшився до ( $59,9 \pm 3,9$ ) шт. Поряд із цим в обох зонах посттравматичного дефекту ТМЛ значно зросла кількість РМВ. У перичентральній ділянці було знайдено ( $22,5 \pm 2,7$ ), а у крайовій зоні – ( $25,1 \pm 1,7$ ) шт.

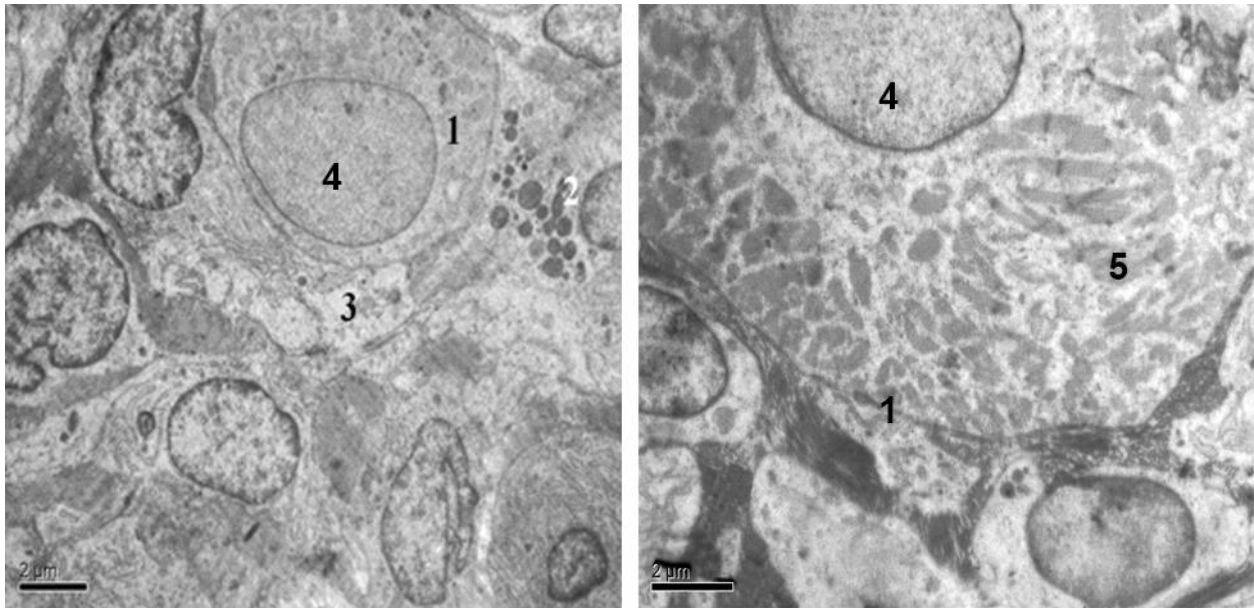


Рисунок 3.2.7 – Ультраструктура ділянки дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 14-у добу після нанесення травми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – міогенна клітина; 2 – гранули; 3 – електронно-прозорі пустоти; 4 – ядро міогенної клітини; 5 – міофіламенти.

Результати аналізу показників площі структурних складових м'язового дефекту ТМЛ тварин контрольної серії на 14-у добу після механічного ушкодження показали зокрема, що ПУ в перичентральній ділянці зменшилась до ( $59,9 \pm 3,7$ ) %, а у крайовій зоні – до ( $13,0 \pm 1,5$ ) %. Дещо меншим став показник ВПСТ в обох ділянках дефекту. Так, у перичентральній зоні сполучна тканина зайняла ( $57,6 \pm 5,0$ ) %, а у крайовій ділянці – ( $45,9 \pm 4,8$ ) %. ПР, навпаки, значно зросла, порівняно із попереднім терміном дослідження, і на 14-у добу в перичентральній ділянці складала ( $18,1 \pm 2,5$ ) %, а у крайовій зоні –



( $6,5 \pm 0,9$ ) %. ПРМВ у перицентральної зоні м'язового дефекту становила ( $360,6 \pm 41,0$ ) мкм<sup>2</sup>, а у крайовій – ( $351,6 \pm 52,3$ ) мкм<sup>2</sup>.

Морфометричний аналіз посттравматичного дефекту ТМЛ щурів групи контролю на 14-у добу після ушкодження показав також, що загальна кількість мікросудин у перицентральної ділянці зросла до ( $19,2 \pm 1,4$ ) шт/поле зору, а у крайовій ділянці цей показник лишився приблизно на тому ж самому рівні і становив ( $19,8 \pm 1,4$ ) шт/поле зору. Результати підрахунку гранулоцитів на 14-у добу після нанесення травми продемонстрували, що у перицентральної зоні дефекту ТМЛ щурів контрольної групи їх кількість зменшилась до ( $845,3 \pm 56,3$ ) шт/мм<sup>2</sup>, а у крайовій зоні – до ( $512,3 \pm 158,7$ ) шт/мм<sup>2</sup>. Меншою в обох досліджуваних зонах дефекту в цей термін експерименту виявився і вміст агранулоцитів. Так, у перицентральної ділянці цих клітин було ( $93,8 \pm 6,4$ ) шт/мм<sup>2</sup>, а у крайовій ділянці – ( $56,8 \pm 17,6$ ) шт/мм<sup>2</sup>.

Результати визначення концентрації хімічних елементів у ТМЛ щурів групи контролю на 14-у добу після ураження показали, що вміст К становив ( $3,88 \pm 0,35$ ) мг/г, Na – ( $0,71 \pm 0,13$ ) мг/г, Ca – ( $0,39 \pm 0,04$ ) мг/г, Mg – ( $0,39 \pm 0,09$ ) мг/г, Fe – ( $20,18 \pm 2,36$ ) мкг/г, Zn – ( $95,60 \pm 14,39$ ) мкг/г, Cu – ( $0,37 \pm 0,06$ ) мкг/г.

Результати гістологічного вивчення ТМЛ тварин групи контролю на 28-у добу після нанесення механічної травми показали, що місце дефекту було заповнено сполучнотканинно-м'язовим регенератом (Рис. 3.2.8). Виявлявся масивний розвиток елементів сполучної тканини, що оточувала новостворені м'язові волокна різної форми та розміру. Частіше за все розвиток м'язових клітин у повноцінні міосимпласти не відбувався через інтенсивний синтез колагенових волокон оточуючими фібробластами. Також у регенераті спостерігалась значна кількість нових судин. Ознаки руйнації клітини, набряку та лейкоцитарної інфільтрації були відсутніми.

Ультраструктурний аналіз регенерату ТМЛ щурів контрольної серії на 28-у добу після відтворення механічного ушкодження також показав значне накопичення колагенових волокон у розширених сполучнотканинних

прошарках. Звертала увагу значна кількість судин мікроциркуляторного русла, що оточувала новостворені м'язові волокна. Усередині останніх іноді відзначалась чітка саркомерна організація, візуалізувались паралельно розташовані Z-лінії, спостерігались різноманітність та злиття мітохондрій (Рис. 3.2.9А).

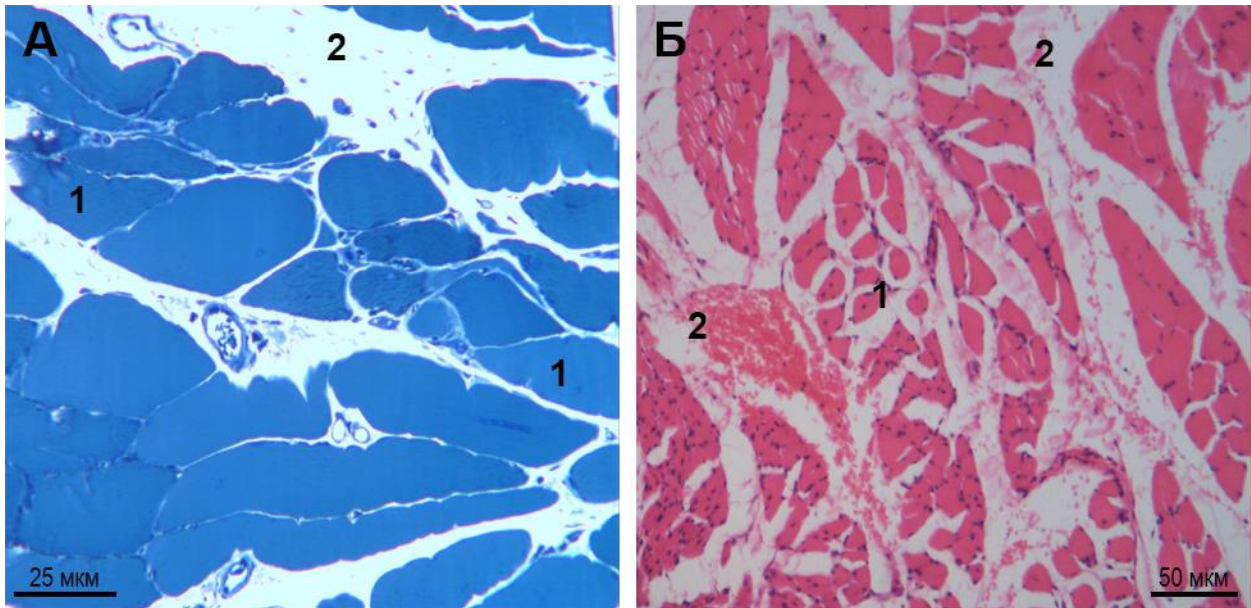


Рисунок 3.2.8 – Перицентральної зони дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 28-у добу після нанесення травми. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – новоутворене м'язове волокно; 2 – масивні прошарки сполучної тканини.

Поряд із цим значна кількість м'язових клітин мали хаотичне розташування міофібрил, у яких спостерігалась дезорганізація саркомерів (Рис. 3.2.9Б). Ядра таких клітин розташовувались як біля сарколеми, так і ближче до геометричного центру. Також відзначались прошарки сполучної тканини, що проникали всередину м'язових волокон та деформували їх.

Підрахунок кількості різних м'язових волокон у посттравматичних регенератах ТМЛ тварин групи контролю на 28-у добу після механічного ураження показав, що, у перичентральній зоні загальний уміст МВ склав ( $674,2 \pm 51,0$ ), а у крайовій зоні – ( $608,8 \pm 33,8$ ) шт. Серед них НМВ у перичентральній

зоні було ( $114,6 \pm 8,5$ ) шт, у крайовій – ( $401,8 \pm 22,4$ ) шт. Кількість ПМВ у периферичній ділянці зменшилась до ( $47,4 \pm 3,5$ ), а у крайовій ділянці – до ( $18,3 \pm 1,1$ ) шт. Уміст РМВ, порівняно із попереднім терміном, значно виріс і склав ( $512,3 \pm 38,7$ ) шт у периферичній ділянці та ( $188,8 \pm 10,4$ ) шт – у крайовій ділянці.

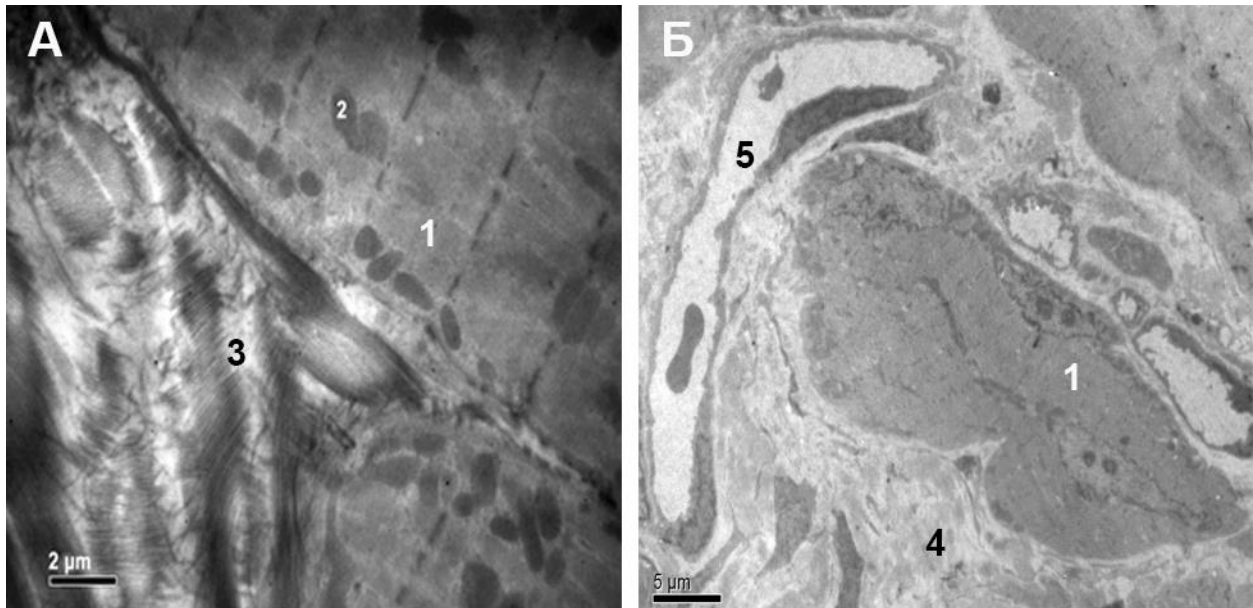


Рисунок 3.2.9 – (А) ультраструктура м'язового волокна та (Б) деяких тканинних компонентів у ділянці дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 28-у добу після нанесення травми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – саркомер; 2 – мітохондрія; 3 – колагенові волокна; 4 – масивний прошарок сполучної тканини; 5 – просвіт венули.

Результати морфометричного аналізу площ деяких структурних компонентів посттравматичного регенерату ТМЛ щурів контролю на 28-у добу після механічної травми показали, що показник ПУ в периферичній ділянці зменшився до ( $9,6 \pm 1,4$ ) %, а у крайовій ділянці – до ( $3,2 \pm 0,3$ ) %. Значно меншим в обох зонах м'язового регенерату виявився і показник ВПСТ. У периферичній ділянці площа сполучної тканини становила ( $39,1 \pm 3,0$ ) %, а у крайовій зоні – ( $32,6 \pm 5,0$ ) %.

У цей термін дослідження максимальних значень досяг показник ПР, який у периферичній зоні становив  $(66,6 \pm 2,8)$  %, а у крайовій –  $(22,7 \pm 1,6)$  %. На 28-у добу дослідження також значно збільшився і показник площі регенеруючих м'язових волокон. Так, у периферичній зоні ПРМВ склала  $(796,1 \pm 89,8)$  мкм<sup>2</sup>, а у крайовій зоні –  $(810,9 \pm 87,9)$  мкм<sup>2</sup>.

Підрахунок кількості судин у посттравматичному регенераті ТМЛ контрольних тварин на 28-у добу після нанесення травми показав, що загальний вміст мікросудин у периферичній зоні становив  $(27,0 \pm 2,1)$  шт/поле зору, а у крайовій зоні судин було  $(24,3 \pm 1,5)$  шт/поле зору.

Результати визначення кількості лейкоцитів у м'язових регенератах щурів контрольної серії на 28-у добу після ушкодження показали, що ці клітини були або зовсім відсутніми, або виявлялись у критично малій кількості. Так, у периферичній ділянці вміст гранулоцитів зменшився до  $(88,9 \pm 12,0)$  шт/мм<sup>2</sup>, а у крайовій ділянці регенерату ТМЛ таких клітин виявлено не було.

Щодо агранулоцитів, то у периферичній ділянці посттравматичного регенерату ТМЛ на 28-у добу їх кількість склала  $(9,9 \pm 1,4)$  шт/мм<sup>2</sup>. Тоді як у крайовій ділянці агранулоцити практично не детектувались.

Результати спектрофотометричного визначення вмісту різних хімічних елементів у ТМЛ щурів контрольної групи на 28-у добу після нанесення механічної травми показали, що концентрація К склала  $(3,86 \pm 0,30)$  мг/г, Na –  $(0,75 \pm 0,14)$  мг/г, Ca –  $(0,38 \pm 0,03)$  мг/г, Mg –  $(0,39 \pm 0,09)$  мг/г, Fe –  $(20,31 \pm 2,09)$  мкг/г, Zn –  $(92,49 \pm 10,22)$  мкг/г, Cu –  $(0,36 \pm 0,05)$  мкг/г. Значення наведених показників у більшій мірі відповідали одержаним у попередній термін дослідження.

Отже, одержані в цьому розділі результати показали, що у щурів без метаболічних розладів регенераторний процес ТМЛ після його механічного ушкодження завершується утворенням сполучнотканинно-м'язового регенерату. Так, зокрема у посттравматичних м'язових дефектах поряд із наростанням кількості регенеруючих м'язових волокон та новоутворених судин спостерігався масивний розвиток елементів сполучної тканини. Слід також

відмітити, що в посттравматичних дефектах ТМЛ майже упродовж всього експерименту виявлялись клітини лейкоцитарного ряду, що були практично відсутніми лише на 28-у добу після нанесення травми.

Отримані органометричні, мікроскопічні, морфометричні та хіміко-аналітичні характеристики м'язової регенерації тварин контрольної групи будуть використані для коректного порівняльного аналізу під час вивчення процесу відновного міогістогенезу за умов впливу на організм тварин хронічної гіперглікемії.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [4–8, 11, 163, 165].

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ ПОСТТРАВМАТИЧНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ ТРИГОЛОВОГО М'ЯЗА ЛИТКИ ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ХРОНІЧНОЮ ГІПЕРГЛІКЕМІЄЮ

З метою верифікації ефективності обраної для дослідження експериментальної моделі ХГ була окремо створена група IV, до складу якої увійшло 10 тварин, яким було одноразово введено цитратний буфер (група IV-A), та 10 щурів, які підлягали одноразовій ін'єкції стрептозотоцину та нікотинової кислоти (група IV-Б).

У таблиці 4.1 показані результати біохімічного аналізу крові щурів груп IV-A і IV-Б через 60 діб після моделювання ХГ. Показано, що у тварин групи IV-Б була значно вищою концентрація глюкози натще ( $P < 0,001$ ) та зменшений вміст інсуліну ( $P = 0,005$ ). Концентрація С-пептиду між групами статистично не відрізнялась ( $P = 0,267$ ).

Також у крові щурів із ХГ спостерігався підвищений уміст загального холестеролу ( $P < 0,001$ ), тригліцеридів ( $P < 0,001$ ), ЛПНЩ ( $P < 0,001$ ) та зменшена концентрація ЛПВЩ ( $P = 0,004$ ). Таким чином, виявлені зміни достовірно вказують на ефективність обраної нами моделі ХГ.

Перед проведенням мікроскопічного та хіміко-аналітичного вивчення процесу відновлення ТМЛ щурів із ХГ було досліджено вагометричні показники та проведений їх порівняльний аналіз із контрольною групою (рис. 4.1). Було встановлено, що вага тварин із ХГ на 3-у добу після травми була на 9,6 % ( $P < 0,001$ ), на 7-у добу – на 8,4 % ( $P < 0,001$ ), на 14-у добу – на 7,7 % ( $P < 0,001$ ), на 28-у добу – на 5,2 % ( $P < 0,001$ ) більшою, ніж у щурів контрольної серії. При цьому вага ТМЛ у щурів із ХГ було меншою, ніж у контрольних тварин (на 7-у добу – на 12,1 % ( $P = 0,023$ ); на 28-у добу – на 11,9 % ( $P = 0,045$ )).

Таблиця 4.1 – Показники біохімічного аналізу крові щурів без та із хронічною гіперглікемією

Показник	Група IV-A (n = 10)	Група IV-B (n = 10)	P
Глюкоза натще, ммоль/л	4,97 ± 0,73	14,76 ± 1,87	< 0,001
Холестерол, ммоль/л	1,89 ± 0,21	3,26 ± 0,36	< 0,001
Тригліцериди, ммоль/л	0,54 ± 0,11	1,03 ± 0,16	< 0,001
ЛПНЩ, ммоль/л	0,59 ± 0,08	0,93 ± 0,12	< 0,001
ЛПВЩ, ммоль/л	1,92 ± 0,20	1,48 ± 0,21	0,004
Інсулін, мкМО/мл	16,01 ± 1,81	12,35 ± 1,77	0,005
С-пептид, нг/мл	3,47 ± 0,79	3,96 ± 0,64	0,267

Примітка: Група IV-A – тварини без хронічної гіперглікемії, Група IV-B – тварини зі змодельованою хронічною гіперглікемією; ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності; ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності; n – кількість тварин.

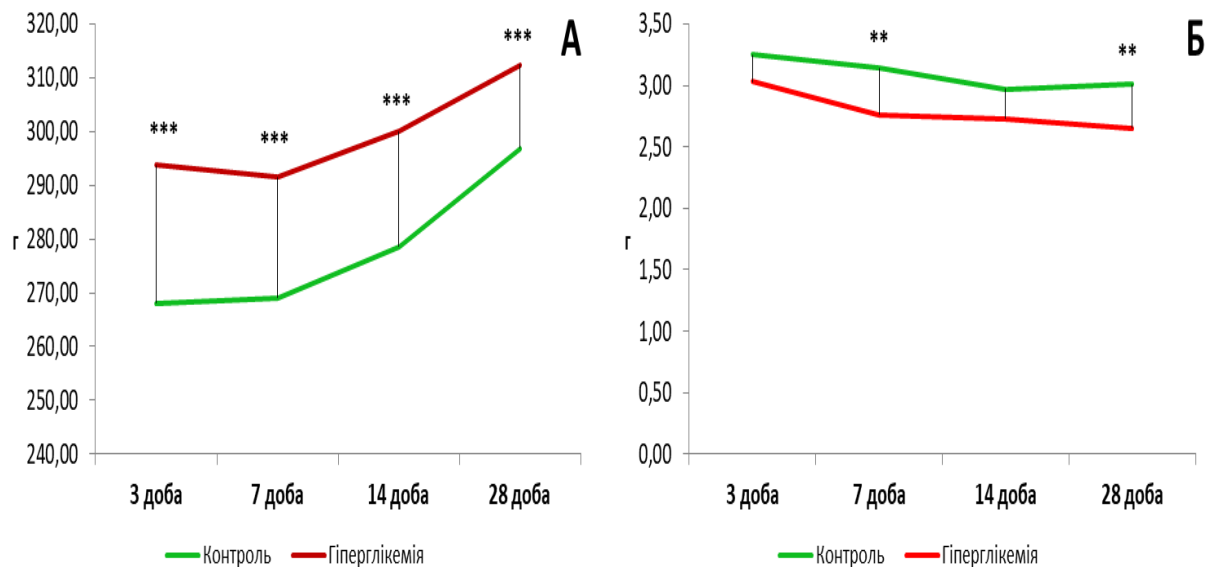


Рисунок 4.1 – Показники абсолютної ваги тварин (А) та абсолютної ваги триголового м'яза литки (Б) у контрольній та дослідній групах. \*\* – P < 0,05; \*\*\* – P < 0,001.

На 3-у добу після відтворення механічної травми ТМЛ у тварин із ХГ у периферичній зоні дефекту м'яза спостерігались зруйновані м'язові волокна, масивні ділянки крововиливів, інфільтрація клітинами лейкоцитарного ряду та набряк тканин (Рис. 4.2А). При цьому також привертало увагу значне скупчення жирових клітин. У крайовій зоні дефекту скелетного м'яза тварин із



ХГ відзначався набряк елементів сполучної тканини, велика кількість некротизованих м'язових волокон та виражена запальна інфільтрація, що поширювалась у бік неушкодженої частини м'яза (Рис. 4.2Б). Утворення нових судин практично не відбувалося. Капіляри мали дуже розширені просвіти, неправильну форму та неповноцінні деструктуризовані стінки.

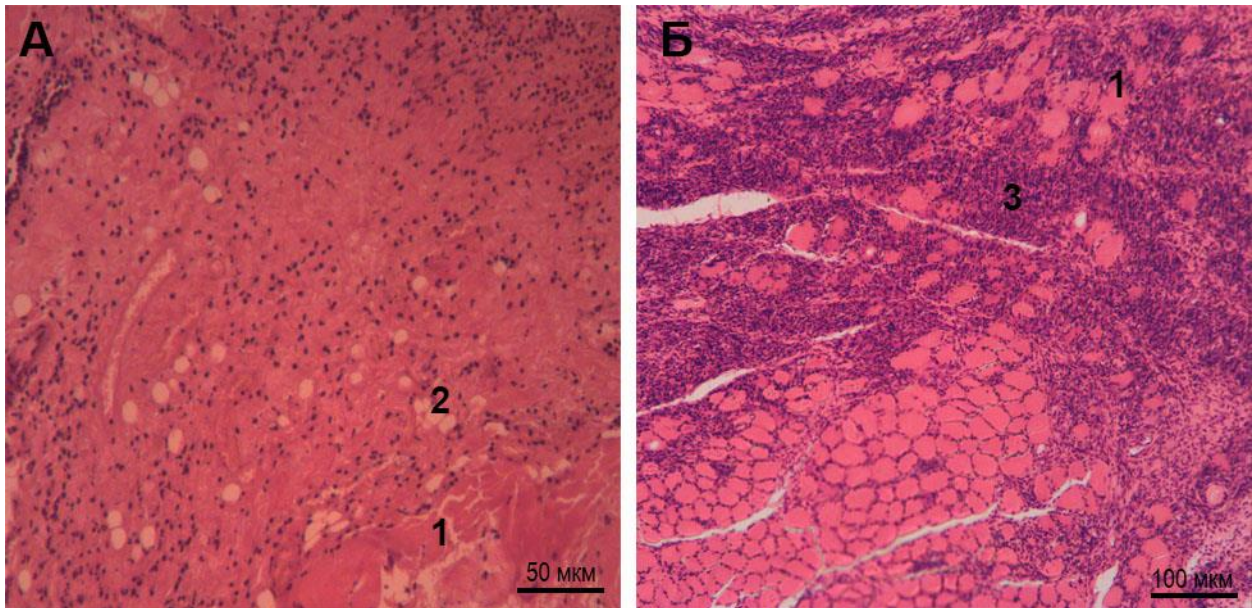


Рисунок 4.2 – Перичентральна (А) та крайова (Б) зона дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 3-у добу після нанесення травми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – некротичні м'язові волокна; 2 – ліпоцити; 3 – лейкоцитарна інфільтрація.

Ультраструктурний аналіз посттравматичного дефекту ТМЛ щурів із ХГ на 3-у добу після ушкодження виявив значну кількість м'язових волокон, що зазнавали некрозу (Рис. 4.3Б). Спостерігалась повна дезорганізація саркомерної структури та руйнації міофібрил. Цитоплазма була заповнена вакуолями різного розміру. Сарколема мала хвилястий контур і містила місця розриву. Також у місці дефекту спостерігалась значна кількість гранулоцитарних лейкоцитів. Сегментоядерні нейтрофіли мали велику кількість електронно-щільних аутофаголізосом та електронно-прозорих вакуоль (Рис. 4.3А). Плазмолема еозинофільних гранулоцитів утворювала багаточисленні



псевдоподії, а їх цитоплазма містила азурофільні та еозинофільні гранули з кристалоїдами.

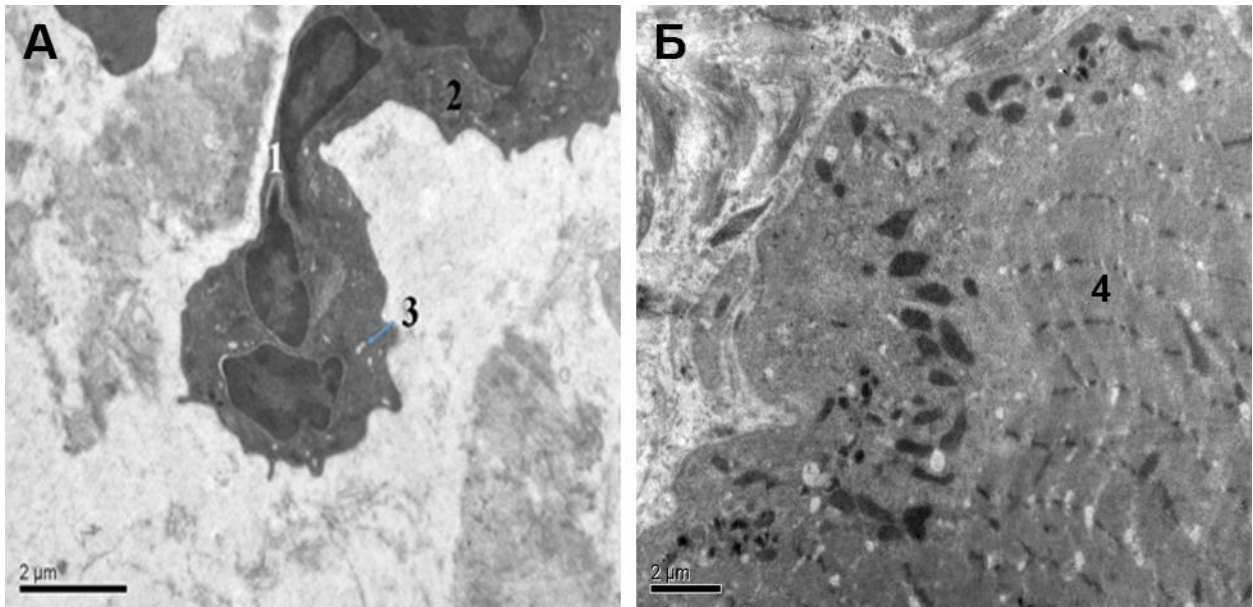


Рисунок 3.2.3 – Ультраструктура (А) нейтрофільного гранулоциту та (Б) некротичного м'язового волокна у ділянці дефекту триголового м'яза литки щура дослідної групи на 3-у добу після нанесення травми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – сегментоядерний нейтрофіл; 2 – електронно-щільні аутофаголізосоми; 3 – вакуолі; 4 зруйновані міофіламенти.

У таблиці 4.2 представлені результати порівняльного аналізу кількості м'язових волокон у різних ділянках дефекту триголового м'язу щурів без та із ХГ на 3-у добу після нанесення травми. Показано, що у тварин груп порівняння загальна кількість МВ у периферійній та крайовій зонах була однаковою ( $P = 0,122$  та  $P = 0,074$ , відповідно). Також не було достовірної різниці у кількості НМВ як у периферійній ( $P = 0,185$ ), так і у крайовій ( $P = 0,876$ ) зонах. Поряд із цим у щурів із ХГ кількість ПМВ у периферійній зоні була на 8,1 % ( $P = 0,023$ ), а у крайовій зоні – на 20,2 % ( $P < 0,001$ ) більшою, ніж у контрольних тварин. РМВ на цій стадії не спостерігались.

Морфометричний аналіз також включав розрахування площі регенеруючого м'язового волокна, площі регенерації, площі ураження та відносної площі сполучної тканини (Таблиця 4.3). Встановлено, що на 3-у добу після механічного ураження ТМЛ показник ПУ у тварин із ХГ у периферичній ( $P = 0,019$ ) та у крайовій ( $P = 0,015$ ) зонах був достовірно вищим, ніж у контрольних тварин. Показник ВПСТ в обох ділянках значущо не відрізнявся між групами порівняння ( $P > 0,05$ ).

Таблиця 4.2 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 3-у добу після нанесення травми

Показник	Периферична зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	P	Контроль	ХГ	P
МВ, шт	273,4 ± 20,8	287,7 ± 18,6	0,122	482,8 ± 29,4	508,6 ± 31,3	0,074
НМВ, шт	63,0 ± 4,8	60,3 ± 3,9	0,185	347,6 ± 21,1	346,1 ± 21,2	0,876
ПМВ, шт	210,4 ± 15,9	227,4 ± 14,6	0,023	135,2 ± 8,9	162,5 ± 10,1	< 0,001
РМВ, шт	0	0	–	0	0	–

Примітка: ХГ – тварини із хронічною гіперглікемією; МВ – м'язове волокно; НМВ – нормальне м'язове волокно; ПМВ – пошкоджене м'язове волокно; РМВ – регенеруюче м'язове волокно.

Таблиця 4.3 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 3-у добу після нанесення травми

Показник	Периферична зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	P	Контроль	ХГ	P
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	0	0	–	0	0	–
ПР, %	0	0	–	0	0	–
ПУ, %	76,1 ± 2,1	78,4 ± 1,8	0,019	27,2 ± 2,8	30,4 ± 2,5	0,015
ВПСТ, %	64,7 ± 3,6	64,9 ± 2,7	0,877	36,9 ± 4,5	35,7 ± 4,7	0,562

Примітка: ХГ – тварини із хронічною гіперглікемією; ПРМВ – площа регенеруючого м'язового волокна; ПР – площа регенерації; ПУ – площа ураження; ВПСТ – відносна площа сполучної тканини.

На рисунку 4.4 показано співвідношення середньої кількості судин у посттравматичних дефектах ТМЛ щурів без та із ХГ на 3-у добу після

ушкодження. Показано, що, порівняно із контролем, у дослідних тварин кількість судин у перицентральної зоні була меншою на 29,9 % ( $P < 0,001$ ), а крайовій зоні – на 31,6 % ( $P < 0,001$ ).

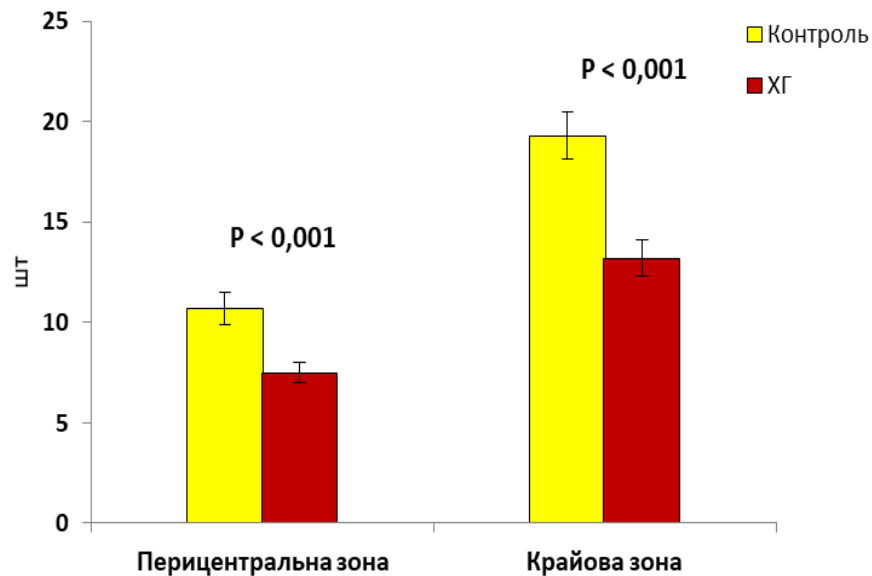


Рисунок 4.4 – Кількість судин у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 3-у добу після нанесення травми.

Співвідношення кількості гранулоцитів та агранулоцитів у регенератах ТМЛ щурів груп порівняння на 3-у добу після травми представлено на рисунку 4.5. Виявилось, що кількість гранулоцитів у тварин із ХГ була значно вищою, ніж у щурів контролю (Рис. 4.5А): у перицентральної зоні – на 13,2 % ( $P = 0,003$ ), у крайовій зоні – на 30,2 % ( $P = 0,001$ ). Разом із цим вміст агранулоцитів, навпаки, у групі із ХГ був меншим, ніж у контрольній групі (Рис. 4.5Б): у перицентральної зоні – на 65,9 % ( $P < 0,001$ ), у крайовій зоні – на 57,2 % ( $P < 0,001$ ).

Результати порівняння вмісту різних хімічних елементів у ТМЛ щурів без та із ХГ на 3-у добі після нанесення травми представлені у таблиці 4.4. Показано, що концентрація К, Na та Mg значущо не відрізнялась між групами порівняння ( $P > 0,05$ ). У той же час у регенератах скелетних м'язів щурів із ХГ спостерігався зменшений вміст Са (на 30,8 %;  $P = 0,011$ ), Fe (на 15,8 %;  $P =$

0,035), Zn (на 83,7 %;  $P < 0,001$ ) та Cu (на 17,9 %;  $P = 0,028$ ), порівняно із контрольними тваринами.

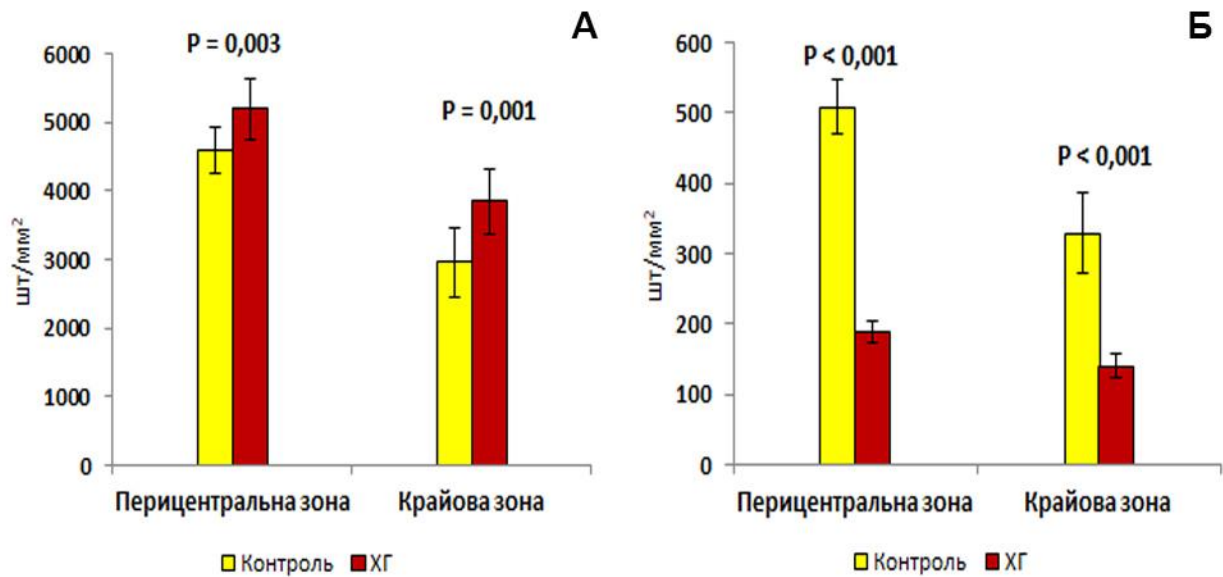


Рисунок 4.5 – Кількість гранулоцитів (А) та агранулоцитів (Б) у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 3-у добу після нанесення травми.

Таблиця 4.4 – Вміст хімічних елементів у триголовому м'язі литки щурів без та з хронічною гіперглікемією на 3-у добу після травми

Група	Елемент						
	К (мг/г)	Na (мг/г)	Ca (мг/г)	Mg (мг/г)	Fe (мкг/г)	Zn (мкг/г)	Cu (мкг/г)
Контроль (n = 10)	4,11 ± 0,47	0,72 ± 0,27	0,39 ± 0,07	0,40 ± 0,12	19,56 ± 2,71	101,49 ± 20,03	0,39 ± 0,07
ХГ (n = 10)	3,77 ± 0,44	0,75 ± 0,26	0,27 ± 0,11	0,41 ± 0,15	16,47 ± 3,31	16,56 ± 5,81	0,32 ± 0,07
P	0,120	0,793	0,011	0,844	0,035	< 0,001	0,028

Примітка: ХГ – щури із хронічною гіперглікемією. Результати представлені у вигляді  $M \pm SD$ .

На 7-у добу після нанесення механічної травми ТМЛ у тварин із ХГ у перицентральної зоні дефекту серед некротичних та зруйнованих м'язових волокон відзначалась велика кількість фіброblastів та масивне утворення

колагенових волокон (Рис. 4.6А). Разом із цим зберігались жирові клітини, набряк, ділянки еритроцитарної та лейкоцитарної інфільтрації. Щільність капілярів була нижчою, порівняно з контрольною групою. У крайовій ділянці дефекту спостерігався набряк сполучнотканинних прошарків та масивна лейкоцитарна інфільтрація (Рис. 4.6Б). М'язові волокна зазнавали подальшого руйнування, тим самим розширюючи ділянку ушкодження. Мікросудини мали тонкі стінки з деструктивними змінами.

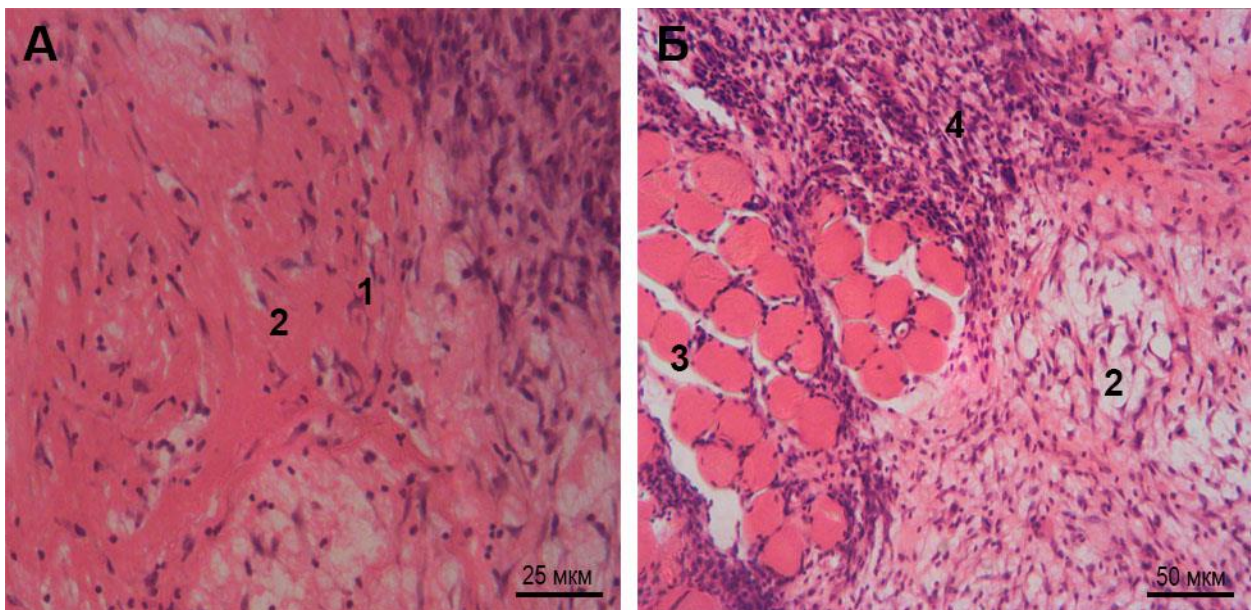


Рисунок 4.6 – Перичентральна (А) та крайова (Б) зона дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 7-у добу після нанесення травми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – фібробласт; 2 – колагенові волокна; 3 – набряк прошарків епімізію; 4 – лейкоцитарна інфільтрація.

Аналіз за допомогою електронного мікроскопа показав, що на 7-у добу після ушкодження місце дефекту ТМЛ у щурів із ХГ містило значну кількість м'язових волокон, які мали пошкоджену сарколему, були оточені запальним інфільтратом та зазнавали подальшого руйнування (Рис. 4.7А) Ядра таких міосимпласнів були пікнотичними. Саркомери мали фрагментовані міофібрили та порушену поперечну посмугованість. Також у зоні ушкодження м'язу відзначалась значна кількість поліморфних фібробластів та еритроцитів (Рис.

4.7Б). Фібробласти мали великі ядра, що здебільшого містили еухроматин. У їхній цитоплазмі спостерігався розвинутий ендоплазматичний ретикулум. Ознак міогенезу в місці м'язового дефекту в цей термін не спостерігалось.

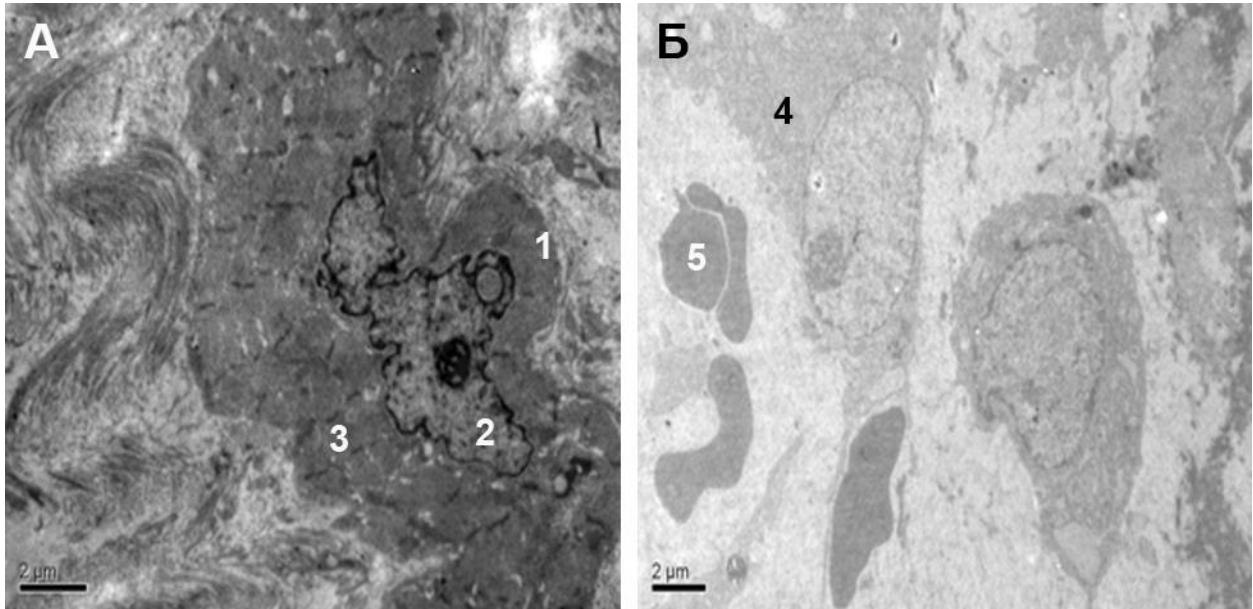


Рисунок 4.7 – Ультраструктура (А) зруйнованого м'язового волокна та (Б) фібробластів у центральній ділянці дефекту триголового м'яза литки щура дослідної групи на 7-у добу після нанесення травми. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – зруйноване м'язове волокно; 2 – пікнотичне ядро міосимпласта; дезорганізовані саркомери; 4 фібробласт; 5 – еритроцит.

Результати порівняльного аналізу кількості м'язових волокон у зонах дефекту ТМЛ тварин без та із ХГ на 7-у добу після травми показані у таблиці 4.5. Загальна кількість МВ у периферичній та крайовій зонах дефекту м'яза тварин обох груп не відрізнялась ( $P = 0,777$  та  $P = 0,452$ , відповідно). Однаковою була також і кількість НМВ у периферичній ділянці ( $P = 0,185$ ). При цьому у крайовій зоні у контрольних щурів кількість НМВ була на 10,1 % вищою, ніж у тварин із ХГ ( $P = 0,002$ ). Навпаки, щури із ХГ мали більше ПМВ: у периферичній зоні – на 11,4 % ( $P = 0,018$ ), у крайовій зоні – на 34,6 % ( $P < 0,001$ ). Щодо РМВ, то у контрольних тварин їх кількість у периферичній зоні



була більшою на 73,7 % ( $P < 0,001$ ), а у крайовій – на 61,8 % ( $P < 0,001$ ), порівняно із щурами дослідної групи.

Таблиця 4.5 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 7-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	Р	Контроль	ХГ	Р
МВ, шт	281,6 ± 32,9	285,0 ± 17,7	0,777	498,1 ± 31,7	488,4 ± 24,1	0,452
НМВ, шт	56,4 ± 6,6	54,0 ± 3,3	0,317	343,7 ± 21,8	312,7 ± 15,3	0,002
ПМВ, шт	202,7 ± 23,7	225,4 ± 14,0	0,018	129,5 ± 8,3	175,7 ± 8,7	< 0,001
РМВ, шт	22,5 ± 2,7	5,9 ± 0,3	< 0,001	25,1 ± 1,7	9,6 ± 0,5	< 0,001

Примітка: див табл. 4.2.

У таблиці 4.6 подано результати порівняння показників площ різних структурних компонентів у дефекті ТМЛ щурів груп порівняння на 7-у добу після травми. Показник ПРМВ достовірно не відрізнявся між групами порівняння ( $P > 0,05$ ). Натомість, ПР у контрольних тварин, порівняно із щурами із ХГ, була більшою ( $P < 0,001$ ). При цьому ПУ, навпаки, була вищою у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ). Середні значення ВПСТ в обох ділянках достовірно не відрізнялися між двома групами щурів ( $P > 0,05$ ).

Співвідношення кількості судин у дефектах ТМЛ щурів груп порівняння на 7-у добу після травми зображено на рисунку 4.8. Виявлено, що, у щурів із ХГ кількість судин у перицентральної ділянці дефекту була меншою на 34,8 % ( $P < 0,001$ ), а у крайовій ділянці – на 36,7 % ( $P < 0,001$ ), якщо порівнювати із групою контролю.

На рисунку 4.9 показано співвідношення кількості клітин лейкоцитарного ряду у регенератах ТМЛ щурів без та із ХГ на 7-у добу після травми. Уміст гранулоцитів у тварин із ХГ був значущо більшим, ніж у тварин контрольної серії: у перицентральної ділянці – на 13,5 % ( $P < 0,001$ ), у крайовій ділянці – на 32,2 % ( $P = 0,003$ ). Уміст агранулоцитів у групі із ХГ був значно меншим, ніж у

контрольних тварин: у перицентральної зоні – на 62,9 % ( $P < 0,001$ ), у крайовій зоні – на 56,6 % ( $P < 0,001$ ).

Таблиця 4.6 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 7-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральної зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	P	Контроль	ХГ	P
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	213,6 ± 44,4	206,9 ± 47,8	0,749	206,0 ± 33,8	180,0 ± 53,6	0,211
ПР, %	1,5 ± 0,3	0,3 ± 0,1	< 0,001	0,8 ± 0,1	0,3 ± 0,1	< 0,001
ПУ, %	75,7 ± 2,0	79,6 ± 1,8	< 0,001	26,6 ± 1,7	33,7 ± 2,1	< 0,001
ВПСТ, %	67,1 ± 5,9	65,5 ± 3,7	0,467	37,3 ± 4,8	38,7 ± 3,5	0,445

Примітка: див табл. 4.3.

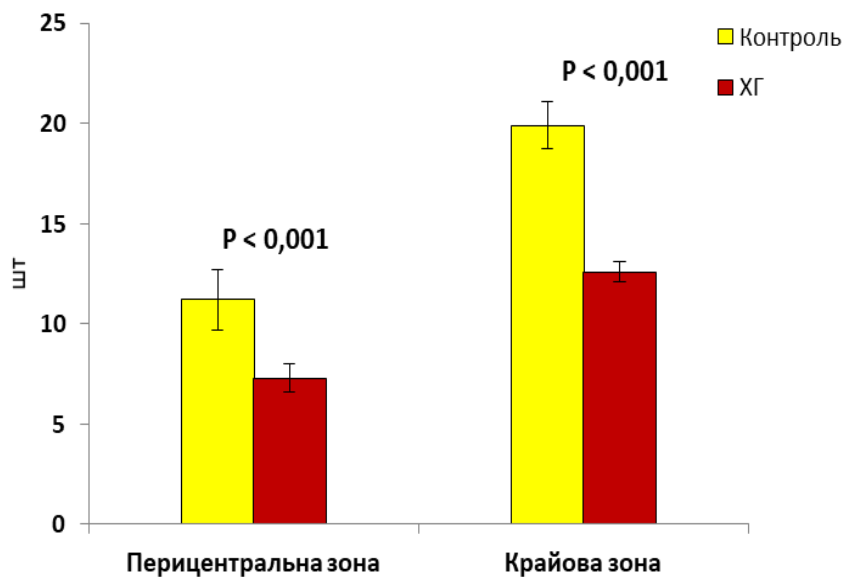


Рисунок 4.8 – Кількість судин у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 7-у добу після нанесення травми.



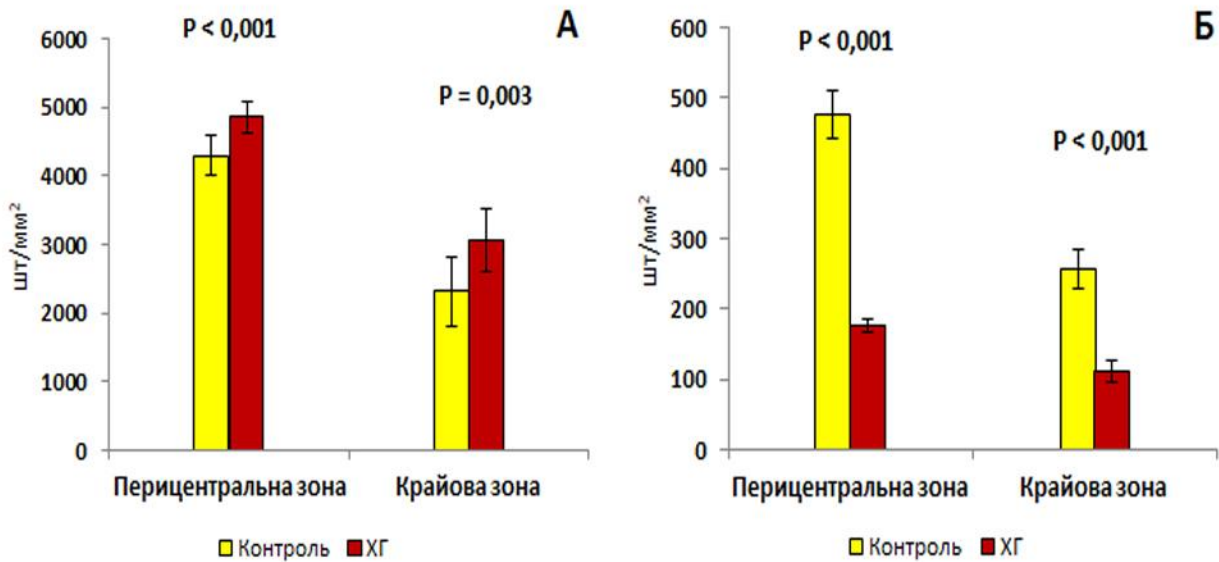


Рисунок 4.9 – Кількість гранулоцитів (А) та агранулоцитів (Б) у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 7-у добу після нанесення травми.

У таблиці 4.7 наведені результати порівняльного аналізу концентрації різних хімічних елементів у ТМЛ щурів груп порівняння на 7-у добу після травми. Показано, що вміст К, Na та Mg, як і у попередній термін, був однаковим у контрольній та дослідній групах ( $P > 0,05$ ). При цьому вміст Cu у ТМЛ щурів обох груп також значущо не відрізнявся ( $P = 0,092$ ). Як і раніше, у м'язах щурів із ХГ, порівняно із контрольною серією, відзначався зменшений вміст Ca (на 28,2 %;  $P = 0,16$ ), Fe (на 10,4 %;  $P = 0,037$ ) та Zn (на 80,3 %;  $P < 0,001$ ).

На 14-у добу після травмування ТМЛ у тварин із експериментальною ХГ у місці дефекту виявлялись ділянки некрозу на фоні незначної кількості міобластів та новоутворених волокон (Рис. 4.10). Разом із цим зберігалась значна лейкоцитарна інфільтрація та повнокрів'я судин. Відзначалось масивне утворення нових колагенових волокон в позаклітинному матриксі. Більш інтенсивно, порівняно з попередніми термінами, відбувалось проростання мікросудин.

Таблиця 4.7 – Вміст хімічних елементів у триголовому м'язі литки щурів без та з хронічною гіперглікемією на 7-у добу після травми

Група	Елемент						
	К (мг/г)	Na (мг/г)	Ca (мг/г)	Mg (мг/г)	Fe (мкг/г)	Zn (мкг/г)	Cu (мкг/г)
Контроль (n = 10)	3,96 ± 0,49	0,79 ± 0,21	0,39 ± 0,09	0,41 ± 0,10	19,92 ± 2,37	100,82 ± 19,63	0,39 ± 0,06
ХГ (n = 10)	3,68 ± 0,32	0,81 ± 0,23	0,28 ± 0,10	0,46 ± 0,13	17,21 ± 2,97	19,88 ± 4,95	0,35 ± 0,06
P	0,159	0,852	0,016	0,368	0,037	< 0,001	0,092

Примітка: див табл. 4.4.

Електронна мікроскопія на 14-у добу після травмування ТМЛ у щурів із ХГ показала значну синтетичну активність фібробластів у місці дефекту. Клітини характеризувалися дуже розвиненою гранулярною ендоплазматичною сіткою з дилатованими цистернами, заповненими електроно-прозорим вмістом, значно гіпертрофованими мітохондріями з розширеними кристами (Рис. 4.11А). Мікросудини мали ознаки ендотеліальної дисфункції. У капілярах відмічались звуженні просвіти, потовщена базальна мембрана, вакуолізована цитоплазма та значні вип'ячування плазмолемі ендотеліоцитів. Перицити не мали щільного прикріплення до базальної мембрани капілярів та були структурно зміненими (рис. 4.11Б)

Кількість м'язових волокон різного типу у ділянках дефекту ТМЛ тварин контролю та щурів із ХГ на 14-у добу після нанесення травми представлені у таблиці 4.8. У тварин контрольної серії в цей термін експерименту загальна кількість МВ у периферичній зоні дефекту посмугованого м'яза була достовірно більшою (на 7,9 %;  $P = 0,012$ ). При цьому в крайовій зоні загальна кількість МВ у групах порівняння була однаковою ( $P = 0,293$ ). Кількість НМВ у скелетних м'язах щурів без ХГ, порівняно із дослідною групою, була вищою, як у периферичній зоні (на 8,1 %;  $P = 0,011$ ), так і у крайовій зоні (на 6,1 %;  $P = 0,034$ ). Натомість, у тварин із ХГ в обох зонах м'язового дефекту спостерігалась більша кількість ПМВ: у периферичній зоні – на 43,8 % ( $P < 0,001$ ), у

крайовій зоні – на 79,9 % ( $P < 0,001$ ). Кількість РМВ у посттравматичних дефектах ТМЛ, як і у попередній термін, у тварин із ХГ була значно нижчою, ніж у щурів контрольної групи: у перицентральної зоні – на 56,1 % ( $P < 0,001$ ), а у крайовій зоні – на 13,5 % ( $P < 0,001$ ).

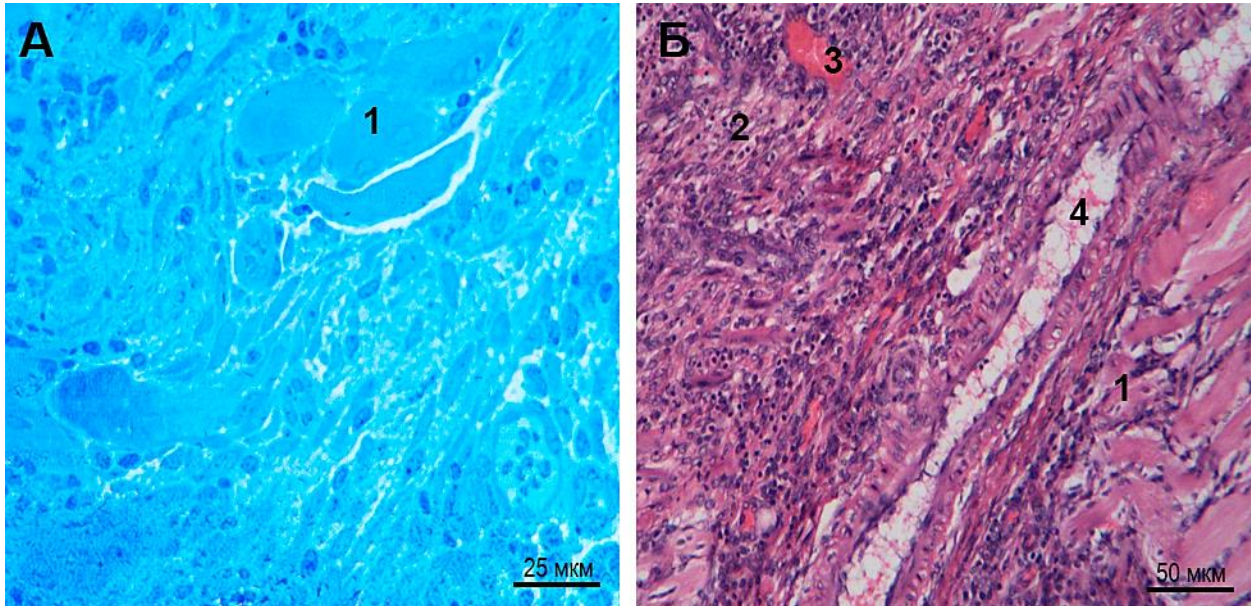


Рисунок 4.10 – Перицентральна (А) та крайова (Б) зона дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 14-у добу після нанесення травми. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – міогенна клітина; 2 – запальний інфільтрат; 3 – повнокрів'я судин; 4 – новоутворена сполучна тканина.

Результати порівняння показників площ різних структурних компонентів у посттравматичних м'язових дефектах щурів контрольної та дослідної серії на 14-у добу після нанесення травми представлені у таблиці 4.9. Як і у попередній термін, показник ПРМВ значущо не відрізнявся між групами порівняння ( $P > 0,05$ ). При цьому, показник ПР у ТМЛ тварин із ХГ, порівняно із контрольними щурами, був достовірно меншим, як у перицентральної зоні дефекту ( $P < 0,001$ ), так і у крайовій ( $P < 0,001$ ). Поряд із цим, ПУ у тварин із ХГ в обох зонах м'язового дефекту була значущо більшою ( $P < 0,001$ ). Показник ВПСТ, як

і у попередні терміни, в обох зонах дефекту ТМЛ достовірно не відрізнявся між групами порівняння ( $P > 0,05$ ).

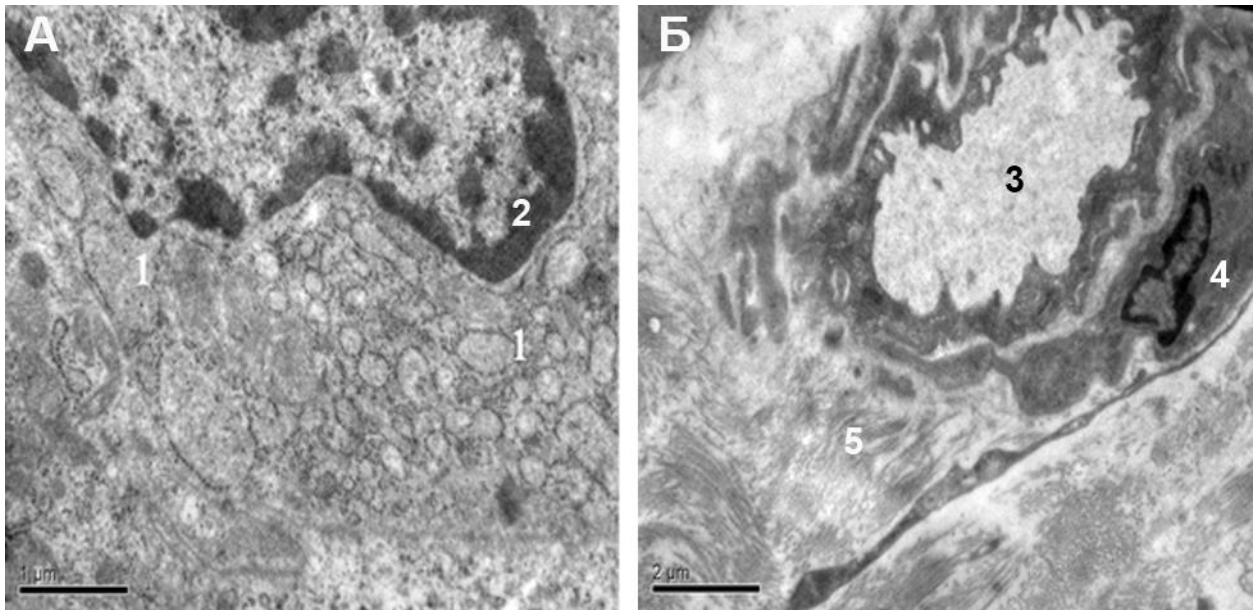


Рисунок 4.11 – Ультраструктура (А) фібробласта та (Б) капіляра в ділянці дефекту триголового м'яза литки щура дослідної групи на 14-у добу після нанесення травми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – розширені цистерни гЕПР фібробласта; 2 – ядро фібробласта; 3 – просвіт капіляра; 4 – перицит; 5 – колагенові волокна.

Таблиця 4.8 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 14-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	Р	Контроль	ХГ	Р
МВ, шт	481,0 ± 31,7	442,8 ± 29,8	0,012	499,7 ± 32,1	514,6 ± 29,3	0,293
НМВ, шт	72,2 ± 4,8	66,4 ± 4,4	0,011	339,6 ± 21,7	319,1 ± 18,1	0,034
ПМВ, шт	197,2 ± 12,9	283,3 ± 18,9	< 0,001	59,9 ± 3,9	108,0 ± 6,2	< 0,001
РМВ, шт	211,5 ± 14,1	92,9 ± 6,2	< 0,001	100,1 ± 6,3	87,5 ± 5,1	< 0,001

Примітка: див табл. 4.2.

Таблиця 4.9 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 14-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	Р	Контроль	ХГ	Р
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	360,6 ± 41,0	332,1 ± 43,6	0,149	351,6 ± 52,3	314,6 ± 55,1	0,141
ПР, %	18,1 ± 2,5	7,1 ± 1,1	< 0,001	6,5 ± 0,9	4,9 ± 0,8	0,001
ПУ, %	59,9 ± 3,7	73,4 ± 2,1	< 0,001	13,0 ± 1,5	21,9 ± 1,4	< 0,001
ВПСТ, %	57,6 ± 5,0	56,1 ± 5,6	0,539	45,9 ± 4,8	44,9 ± 3,3	0,582

Примітка: див табл. 4.3.

На рисунку 4.12 відображено співвідношення кількості судин у посттравматичних дефектах посмугованих м'язів щурів без та із ХГ на 14-у добу після відтворення травми. Порівняно із контрольними щурами, кількість судин у перицентральноній зоні м'язового дефекту тварин із ХГ була меншою на 39,6 % ( $P < 0,001$ ), а у крайовій зоні – на 31,8 % ( $P < 0,001$ ).

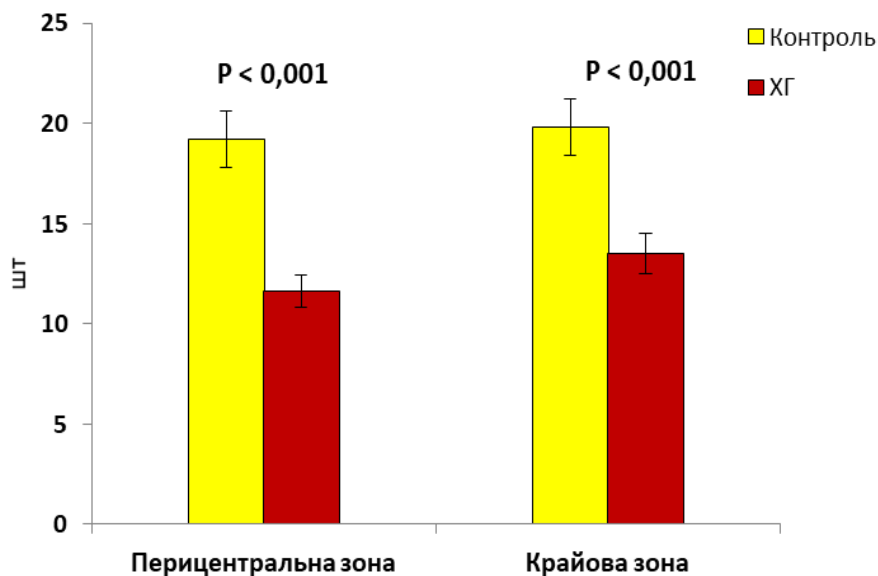


Рисунок 4.12 – Кількість судин у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 14-у добу після нанесення травми.

Співвідношення кількості гранулоцитів та агранулоцитів у м'язових дефектах щурів без та із ХГ на 14-у добу після травми зображено на рисунку

4.13. Показано, що у ТМЛ тварин із ХГ було значно більше гранулоцитів, ніж у щурів контролю: у периферичній зоні – на 41,2 % ( $P < 0,001$ ), у крайовій зоні – на 40,5 % ( $P = 0,006$ ). Навпаки, кількість агранулоцитарних лейкоцитів у м'язових регенератах тварин із ХГ була значно меншою, ніж у контрольній серії: у периферичній зоні – на 53,6 % ( $P < 0,001$ ), у крайовій зоні – на 54,1 % ( $P < 0,001$ ).

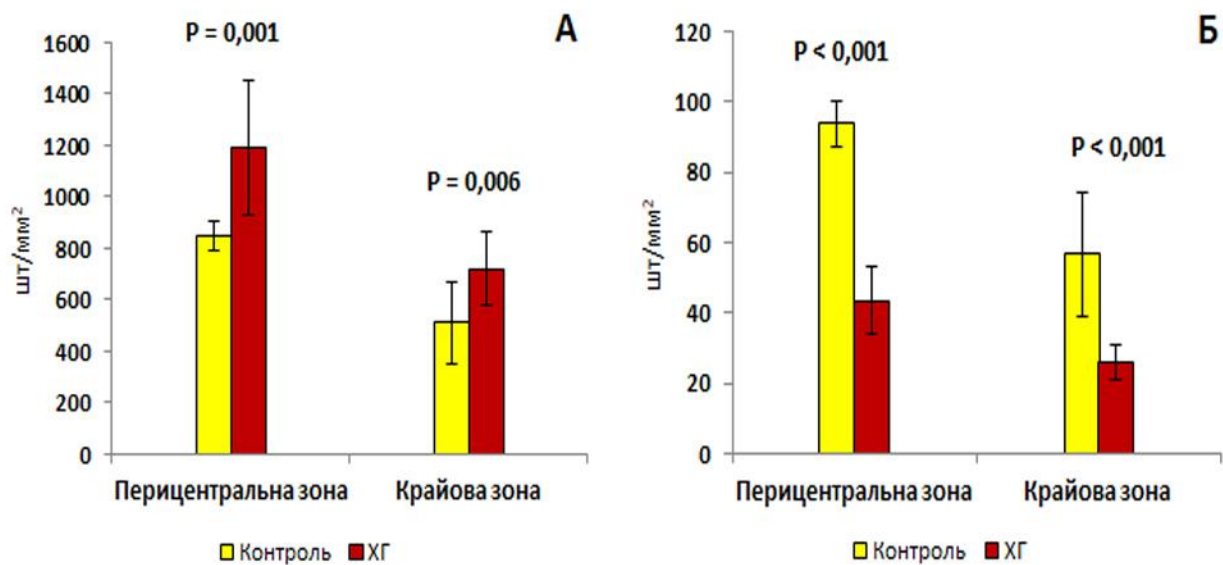


Рисунок 4.13 – Кількість гранулоцитів (А) та агранулоцитів (Б) у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 14-у добу після нанесення травми.

Результати хіміко-аналітичного дослідження посттравматичних регенератів скелетних м'язів щурів контрольної групи та тварин із ХГ показані у таблиці 4.10. Як і раніше, показник умісту К та Mg в обох групах був однаковим ( $P > 0,05$ ). При цьому концентрація Na у ТМЛ щурів із ХГ була достовірно більшою, ніж у тварин без ХГ (на 15,5 %;  $P = 0,045$ ). Стосовно інших елементів, то отримані у цей термін результати цілком відповідали картині загальної динаміки. Так, у м'язових дефектах щурів із ХГ, порівняно із контролем, відзначалась зменшена концентрація Ca (на 15,4 %;  $P = 0,016$ ), Fe (на 11,4 %;  $P = 0,030$ ), Zn (на 79,8 %;  $P < 0,001$ ) і Cu (на 21,6 %;  $P = 0,018$ ).

Таблиця 4.10 – Вміст хімічних елементів у триголовому м'язі литки щурів без та з хронічною гіперглікемією на 14-у добу після травми

Група	Елемент						
	К (мг/г)	Na (мг/г)	Ca (мг/г)	Mg (мг/г)	Fe (мкг/г)	Zn (мкг/г)	Cu (мкг/г)
Контроль (n = 10)	3,88± 0,35	0,71 ± 0,13	0,39 ± 0,04	0,39 ± 0,09	20,18 ± 2,36	95,60 ± 14,39	0,37 ± 0,06
ХГ (n = 10)	3,58 ± 0,39	0,82 ± 0,11	0,33 ± 0,05	0,47 ± 0,10	17,88 ± 1,96	19,29 ± 4,66	0,29 ± 0,06
P	0,089	0,045	0,016	0,081	0,030	< 0,001	0,018

Примітка: див табл. 4.4.

Посттравматичний дефект ТМЛ щурів із ХГ на 28-у добу після нанесення травми гістологічно характеризувався очищенням від некротичних тканин та розвитком сполучнотканинно-м'язового регенерату. Відзначались різної форми та розміру новоутворені м'язові волокна, що були оточені масивними прошарками сполучної тканини (Рис. 4.14А). Поряд із цим здебільшого у прикордонній зоні залишався набряк тканин та незначна лейкоцитарна інфільтрація (Рис. 4.14Б).

Результати ультраструктурного аналізу дефекту ТМЛ щурів із ХГ на 28-у добу після механічного ушкодження показали, що сформовані м'язові волокна були значно зменшеними та деформованими (Рис. 4.15). У саркоплазмі відзначались поліморфні ядра з численними інвагінаціями, дезорганізовані саркомери з розірваними Z-лініями. Крім того, міосимпласти були оточені значним шаром сполучної тканини, що проникала усередину м'язових волокон. У м'язових волокнах крайових ділянок дефекту продовжувався розпад міофібрил на окремі фрагменти.

Крім цього, у посттравматичному регенераті візуалізувались структурно змінені макрофаги, вакуолі та міхурці різного розміру, судини мікроциркуляторного русла, які зберігали свою неповноцінність (Рис. 4.15). Капіляри мали розрихлену базальну мембрану нерівномірної товщини.



Спостерігалися ділянки руйнування та злуцвання ендотеліоцитів, внаслідок чого порушувалось їх щільне безперервне розміщення та втрачались міжклітинні контакти.

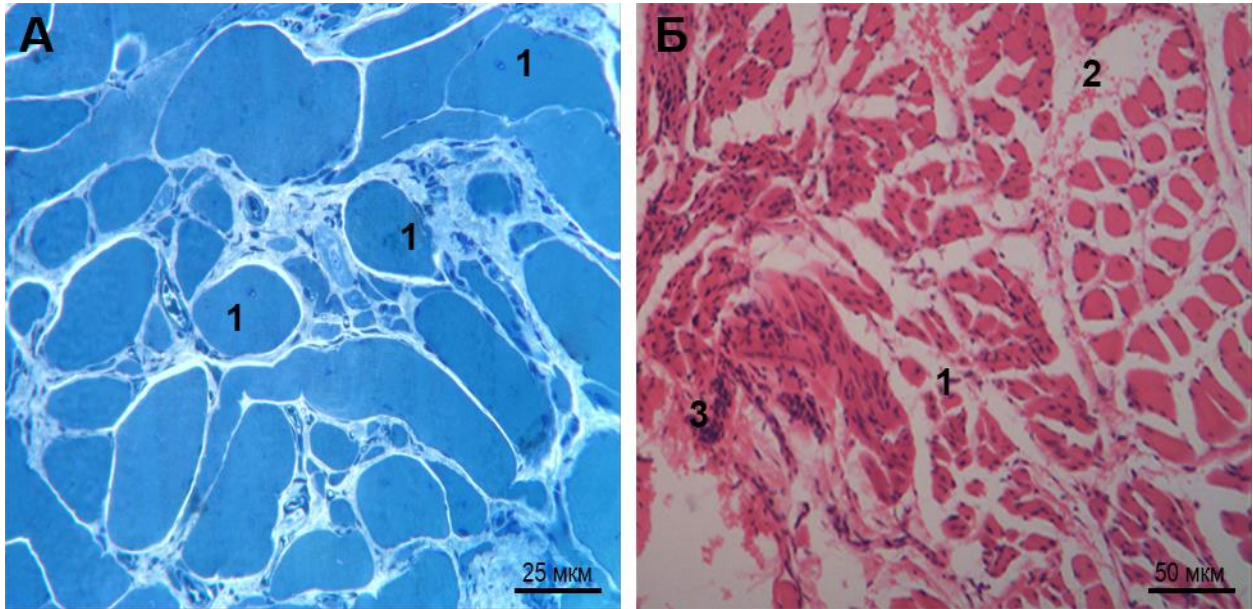


Рисунок 4.14 – Перичентральна зона дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 28-у добу після нанесення травми. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – новоутворені м'язові волокна; 2 – масивні прошарки сполучної тканини.

Також у м'язових волокнах крайових ділянках дефекту у цей термін дослідження відзначалися деструктивно змінені міосателітоцити, навколо яких відмічались залишки органел та пучки міофібрил (Рис. 4.16А). Крім того, міосимпласти містили групи везикул, які розміщувалися більшою мірою під сарколемою. Частина везикул проникала у простір між сарколемою та базальною мембраною. Базальна мембрана над активованими міосателітоцитами була зруйнованою. Значну площі регенерату займали прошарки сполучної тканини, в яких часто зустрічались поліморфні фібробласти, багаточисленні вакуолі та рештки тканинного детриту (Рис. 4.16Б).



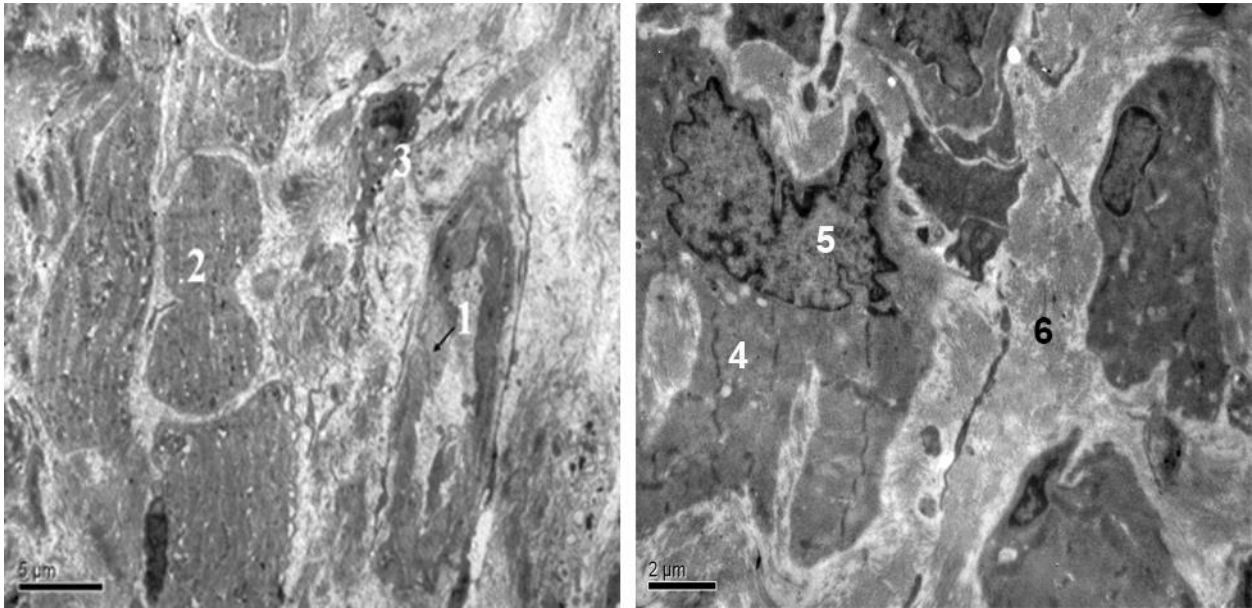


Рисунок 4.15 – Ультраструктура перичентральної ділянки дефекту триголового м'яза литки щура дослідної групи на 28-у добу після нанесення травми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – капіляр, міжсептальні щілини; 2 – фрагментовані м'язові волокна; 3 – макрофаг; 4 – дезорганізовані саркомери; 5 – ядро міосимпласта; 6 – масивний ендомізій.

Результати підрахунку та порівняння кількості різних м'язових волокон у різних зонах дефекту ТМЛ щурів без та із ХГ на 28-у добу після відтворення механічної травми показані у таблиці 4.11. Загальна кількість МВ у перичентральній зоні достовірно не відрізнялась між групами порівняння ( $P = 0,061$ ). Натомість, у крайовій зоні загальна кількість МВ у тварин із ХГ була на 6,2 % меншою ( $P = 0,014$ ), ніж у контрольній групі. Також, порівняно із контролем, у щурів із ХГ була меншою і кількість НМВ: у перичентральній зоні – на 12,7 % ( $P = 0,002$ ), у крайовій зоні – на 9,1 % ( $P = 0,001$ ). Кількість ПМВ у перичентральній зоні м'язових дефектів тварин зі змодельованою ХГ була вищою, ніж у контрольній серії на 216,7 % ( $P < 0,001$ ), у крайовій зоні – на 149,7 % ( $P < 0,001$ ). При цьому показник середньої кількості РМВ у дефектах скелетних м'язів дослідних тварин був значно меншим, ніж у щурів без ХГ: у

перичентральній зоні – на 26,8 % ( $P < 0,001$ ), а у крайовій зоні – на 15,4 % ( $P < 0,001$ ).

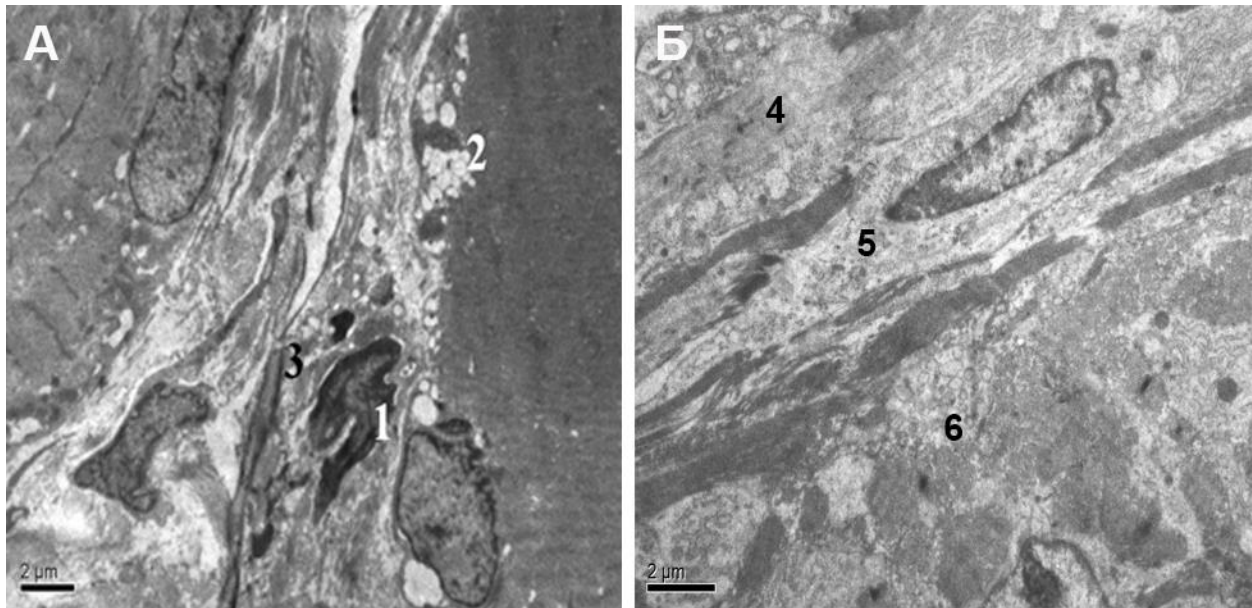


Рисунок 4.16 – Ультраструктура (А) м'язових волокон та (Б) різних тканинних елементів у крайовій ділянці дефекту триголового м'яза литки щура дослідної групи на 28-у добу після нанесення травми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – ядро міосателітоцита; 2 – везикули; 3 – зруйнована базальна мембрана; 4 – м'язовий детри; 5 – фібробласт; 6 – вакуолі та міхурці.

Таблиця 4.11 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 28-у добу після нанесення травми

Показник	Перичентральна зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	P	Контроль	ХГ	P
МВ, шт	674,2 ± 51,0	625,0 ± 58,6	0,061	608,8 ± 33,8	571,1 ± 27,9	0,014
НМВ, шт	114,6 ± 8,5	100,1 ± 9,3	0,002	401,8 ± 22,4	365,6 ± 17,8	0,001
ПМВ, шт	47,4 ± 3,5	150,1 ± 14,0	< 0,001	18,3 ± 1,1	45,7 ± 2,3	< 0,001
РМВ, шт	512,3 ± 38,7	375,0 ± 35,2	< 0,001	188,8 ± 10,4	159,8 ± 7,7	< 0,001

Примітка: див табл. 4.2.

На 28-у добу після нанесення механічної травми ПРМВ у м'язових регенератах тварин із ХГ була значущо меншою, ніж значення відповідного показника у тварин контрольної групи (таблиця 4.12). Так, у перицентральної зоні ПРМВ у тварин із ХГ була меншою на 19,2 % ( $P < 0,001$ ), а у крайовій зоні – на 18,7 % ( $P < 0,001$ ). Меншим у дослідних тварин, порівняно із щурами контролю, був також показник ПР ( $P < 0,001$ ). Навпаки, ПУ у посттравматичних регенератах скелетних м'язів щурів із ХГ була достовірно більшою, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ). Також у тварин із ХГ в обох зонах м'язового дефекту був більшим показник ВПСТ ( $P = 0,006$  – для перицентральної зони;  $P = 0,005$  – для крайової зони).

На 28-у добу після нанесення травми співвідношення кількості судин у посттравматичних дефектах посмугованих м'язів щурів груп порівняння загалом відповідало попереднім термінам (Рис. 4.17). Так, кількість судин у перицентральної ділянці м'язового регенерату щурів із ХГ була меншою, ніж у контрольних тварин на 40,0 % ( $P < 0,001$ ). У крайовій зоні кількість судин у дослідних тварин, порівняно із контролем, була меншою на 38,3 % ( $P < 0,001$ ).

Таблиця 4.12 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів груп порівняння на 28-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентрально зона			Крайова зона		
	Контроль	ХГ	P	Контроль	ХГ	P
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	796,1 ± 89,8	642,9 ± 67,1	< 0,001	810,9 ± 87,9	659,8 ± 70,2	< 0,001
ПР, %	66,6 ± 2,8	44,9 ± 2,6	< 0,001	22,7 ± 1,6	17,4 ± 1,5	< 0,001
ПУ, %	9,6 ± 1,4	32,1 ± 2,6	< 0,001	3,2 ± 0,3	8,2 ± 0,4	< 0,001
ВПСТ, %	39,1 ± 3,0	46,4 ± 6,8	0,006	32,6 ± 5,0	39,4 ± 4,3	0,005

Примітка: див табл. 4.3.

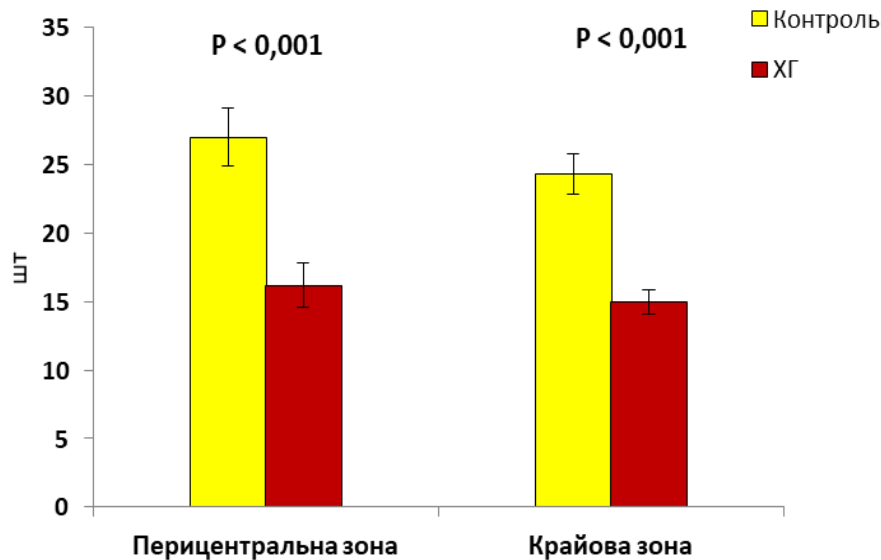


Рисунок 4.17 – Кількість судин у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 28-у добу після нанесення травми.

На рисунку 4.18 показано співвідношення кількості гранулоцитів та агранулоцитів у регенератах м'язів щурів груп порівняння на 28-у добу після нанесення механічної травми. У периферичній зоні дефекту у тварин із ХГ кількість гранулоцитів була значно вищою, ніж у контрольних тварин (на 133,6 %;  $P < 0,001$ ). При цьому у крайовій зоні регенерату у тварин без ХГ гранулоцитарні лейкоцити зовсім не виявлялись, тоді як у дослідних тварин цей показник склав  $(80,2 \pm 22,1)$  шт/мм<sup>2</sup>. Кількість агранулоцитів у центральній зоні м'язових регенератів щурів із ХГ була достовірно меншою, ніж у контрольній групі (на 25,3 %;  $P < 0,001$ ). У крайовій зоні дефекту ТМЛ тварин із ХГ кількість агранулоцитів склала  $(3,0 \pm 0,8)$  шт/мм<sup>2</sup>. У тварин без метаболічних розладів у крайовій зоні посттравматичного м'язового дефекту гранулоцити не визначались.

У таблиці 4.13 представлені результати визначення вмісту хімічних елементів у ТМЛ щурів без та із ХГ на 28-у добу після нанесення травми. Показано, що лише концентрація К значущо не відрізнялась між групами порівняння ( $P = 0,176$ ). Уміст Na у скелетних м'язах щурів із ХГ, порівняно із контролем, був вищим на 17,3 % ( $P = 0,031$ ), а вміст Mg – на 28,2 % ( $P = 0,015$ ).

Концентрація Ca у ТМЛ щурів дослідної групи була меншою на 13,2 % ( $P = 0,008$ ), Fe – на 9,7 % ( $P = 0,025$ ), Zn – на 78,7 % ( $P < 0,001$ ), Cu – на 19,4 % ( $P = 0,033$ ), ніж у контрольній групі.

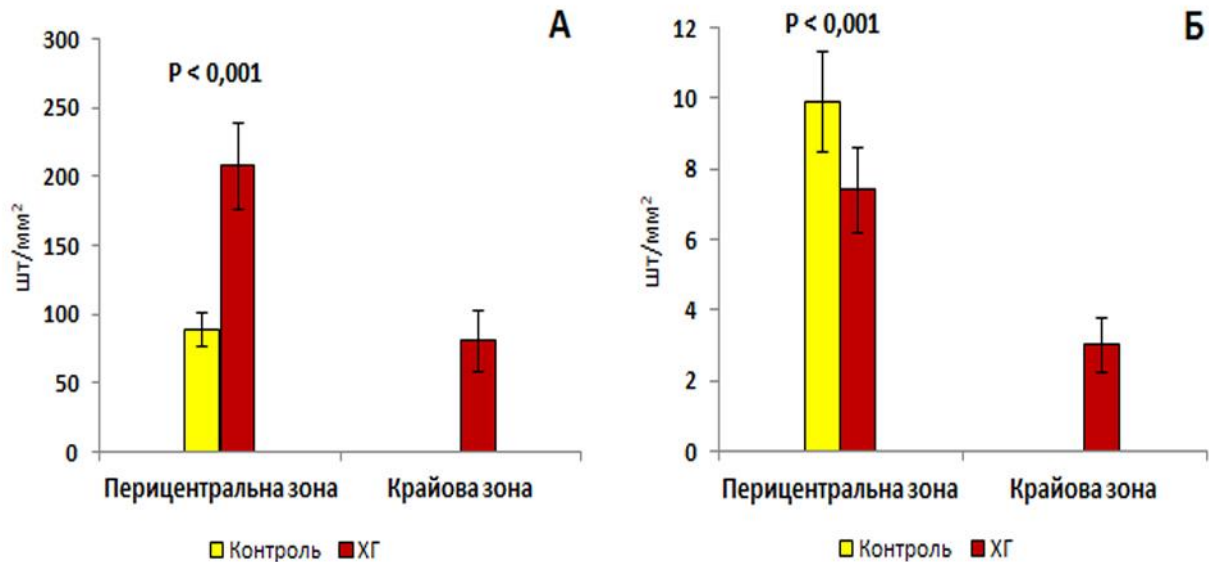


Рисунок 4.18 – Кількість гранулоцитів (А) та агранулоцитів (Б) у дефекті триголового м'язу литки щурів без та із хронічною гіперглікемією на 28-у добу після нанесення травм.

Таблиця 4.13 – Вміст хімічних елементів у триголовому м'язі литки щурів без та з хронічною гіперглікемією на 28-у добу після травми

Група	Елемент						
	К (мг/г)	Na (мг/г)	Ca (мг/г)	Mg (мг/г)	Fe (мкг/г)	Zn (мкг/г)	Cu (мкг/г)
Контроль (n = 10)	3,86 ± 0,30	0,75 ± 0,14	0,38 ± 0,03	0,39 ± 0,08	20,31 ± 2,09	92,49 ± 10,22	0,36 ± 0,05
ХГ (n = 10)	3,66 ± 0,32	0,88 ± 0,10	0,33 ± 0,04	0,50 ± 0,08	18,33 ± 1,48	19,65 ± 2,14	0,29 ± 0,07
P	0,176	0,031	0,008	0,015	0,025	< 0,001	0,033

Примітка: див табл. 4.4

Таким чином, експериментальна стрептозотонін-індукована ХГ чинить негативний вплив на процес посттравматичної регенерації скелетних м'язів

щурів. Структурними проявами цього виступають затримка утворення нових м'язових волокон, недосконалість їх внутрішньоклітинної організації, низька інтенсивність неоангіогенезу, надмірний розвиток елементів сполучної тканини та стійка персистенція клітин лейкоцитарного ряду з переважанням гранулоцитів на тлі дефіциту агранулоцитів. Хіміко-аналітичне дослідження показало, що ХГ призводить до зниження вмісту кальцію, заліза, цинку та міді, а також до незначного накопичення натрію та магнію у скелетних м'язах щурів під час їх посттравматичного відновлення.

Основні результати розділу опубліковані у працях [5, 9-12, 162-165].

## РОЗДІЛ 5

### АНАЛІЗ ПОСТТРАВМАТИЧНОГО ВІДНОВЛЕННЯ ТРИГОЛОВОГО М'ЯЗА ЛИТКИ ЩУРІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ГІПЕРГЛІКЕМІЄЮ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ

Щурам III групи (ХГ+ЗТП) на 60-у добу після моделювання ХГ було виконано механічну травматизацію ТМЛ за описаною методикою. Окрім цього у ділянку м'язового дефекту тваринам цієї групи з метою можливої корекції негативного впливу ХГ на відновний міогістогенез було введено аутологічну збагачену тромбоцитами плазму. Як і в попередніх дослідних групах, процес посттравматичної регенерації у щурів групи ХГ+ЗТП оцінювали на 3-у, 7-у, 14-у та 28-у добу після ушкодження.

На 3-у добу після механічного пошкодження вага тіла щурів у групі ХГ+ЗТП склала ( $291,1 \pm 3,7$ ) г, що достовірно не відрізнялось від тварин із ХГ без уведення ЗТП ( $P = 0,325$ ). При цьому вага тварин групи ХГ+ЗТП у цей термін експерименту була на 8,6 % більшою, ніж у контрольній серії ( $P < 0,001$ ). На 7-у добу після нанесення механічної травми показник маси тіла тварин групи ХГ+ЗТП значуще не відрізнявся від групи щурів із ХГ ( $P = 0,070$ ) і становив ( $288,1 \pm 3,8$ ) г, що було на 7,1 % більше, ніж у тварин контрольної серії ( $P < 0,001$ ).

Середній показник маси тіла щурів групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після ушкодження ТМЛ не відрізнявся від такого у щурів із ХГ ( $(296,7 \pm 4,7)$  г;  $P = 0,356$ ) і був на 6,5 % більше, ніж вага контрольних тварин ( $P < 0,001$ ). Нарешті, на 28-у добу після травми вага тварин серії ХГ+ЗТП склала ( $313,1 \pm 6,9$ ) г, що практично відповідало значенню цього показника у щурів із ХГ ( $P = 0,992$ ) та було на 5,4 % більше, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ).

ТМЛ щурі групи ХГ+ЗТП на 3-у добу механічного ушкодження мав темно-червоне забарвлення та набряклий вигляд. У серединній частині простежувався посттравматичний дефект, навколо якого спостерігались точкові

геморагії та запальна інфільтрація. Вага ТМЛ становила ( $3,07 \pm 0,34$ ) г, що достовірно не відрізнялось ні від тварин із ХГ ( $P = 0,999$ ), ні від контрольної групи ( $P = 0,589$ ). На 7-у добу після відтворення травми ТМЛ виглядав дещо збільшеним у розмірах, набряклим, деформованим у центральній частині. У місці дефекту були присутніми ознаки запального процесу. Вага ушкодженого скелетного м'язу значуще не відрізнялась від контролю ( $P = 0,611$ ) і щурів із ХГ ( $P = 0,689$ ) та становила ( $2,95 \pm 0,32$ ) г.

На 14-у добу експерименту ТМЛ у щурі групи ХГ+ЗТП візуально у дистальній та проксимальній частині мав незмінений вигляд. У ділянці посттравматичного регенерату ознак запалення не спостерігалось. Вага м'язу склала ( $2,81 \pm 0,39$ ) г, що однаково не відрізнялось від цього показника в інших групах ( $P = 0,999$ ). На 28-у добу після ушкодження вага МТЛ тварин ХГ+ЗТП становила ( $2,81 \pm 0,33$ ) г, що статистично не відрізнялось ні від контрольної серії ( $P = 0,655$ ), ні від тварин із ХГ ( $P = 0,997$ ). Макроскопічно у місці нанесення травми відзначалось розростання сполучної тканини. Ознак запалення та крововиливів виявлено не було.

Гістологічна картина місця нанесення механічної травми ТМЛ у щурів групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після ушкодження характеризувалась наявністю некротизованих м'язових волокон, запального детриту, волокнистих мереж ниток фібрину, поодинокими фібробластами, ліпоцитами, тонкими колагеновими фібрилами, великої кількості різноформних еритроцитів (Рис. 5.1А). Центральна зона дефекту також характеризувалась наявністю мікросудин зі значно розширеним просвітом.

У крайовій ділянці м'язового дефекту спостерігались набряк сполучнотканинних прошарків, значна кількість зруйнованих м'язових волокон, повнокрів'я судин та лейкоцитарна інфільтрація, що вздовж незруйнованих міосимпласнів поширювалась у дистальному від місця ушкодження напрямку (Рис. 5.1Б). Ознак утворення нових судин в обох досліджуваних зонах виявлено не було.



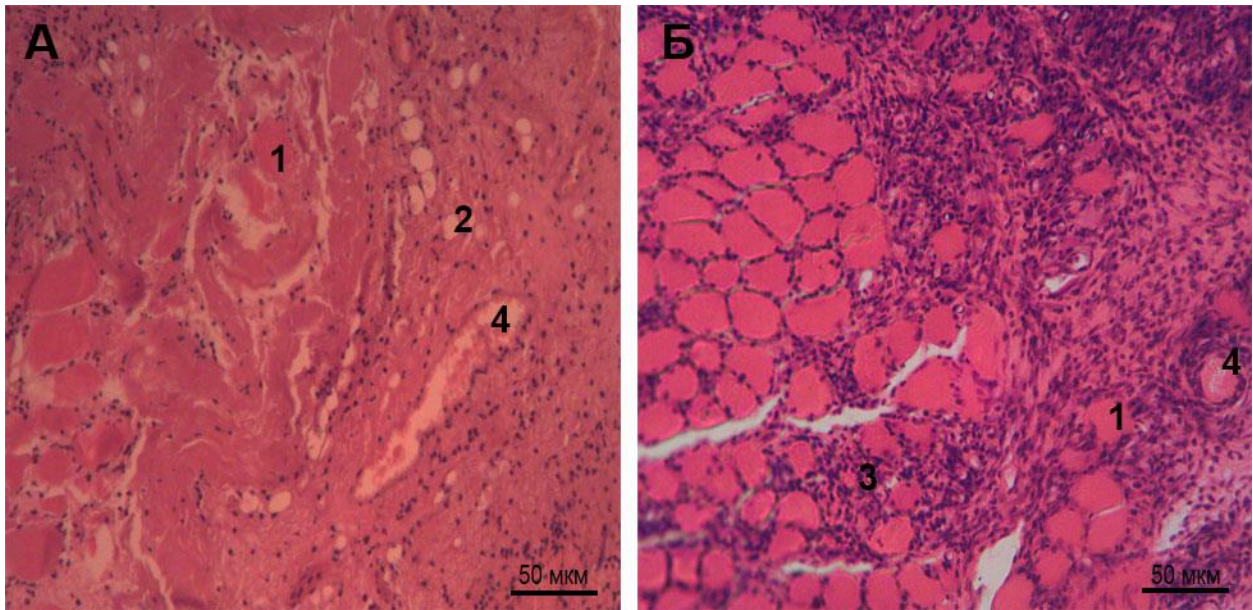


Рисунок 5.1 – Перичентральна (А) та крайова (Б) зона ділянки дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 3-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – некротичні м'язові волокна; 2 – ліпоцити; 3 – лейкоцитарна інфільтрація; 4 – повнокрів'я судин.

Ультрамікроскопічний аналіз м'язового дефекту тварин групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після нанесення травми показав разом із лейкоцитарними гранулоцитами присутність значної кількості як лімфоцитів, так і макрофагів (Рис. 5.2). Також у місці нанесення травми спостерігалось багато міосимпластів у стані некрозу. Характерними ознаками цих клітин були розпад міофібрил, каріорексис, каріолізис, вакуолізація цитоплазми, значна деформація та розрив сарколеми. Окрім цього у центральній зоні ушкодження відзначались тромбоцити та еритроцити із деструктивними змінами різного ступеню (Рис. 5.2). Навколо тромбоцитів спостерігались багаточисленні везикули з дрібнозернистим вмістом (Рис. 5.3).

У таблиці 5.1 наведено результати визначення кількості різних м'язових волокон у зонах посттравматичного дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після нанесення ушкодження, а також результати порівняльного аналізу за вказаними показниками із щурами контрольної групи та тваринами із ХГ.

Показано, що у перичентральній ділянці м'язового дефекту щурів групи ХГ+ЗТП загальна кількість МВ статистично не відрізнялась від цього показника у тварин контролю ( $P = 0,999$ ) та із ХГ ( $P = 0,259$ ). У крайовій зоні у щурів групи ХГ+ЗТП загальна кількість МВ була на 7,3 % меншою, ніж у тварин із ХГ та без уведення ЗТП ( $P = 0,022$ ). При цьому різниці між тваринами ХГ+ЗТП і контролем виявлено не було ( $P = 0,998$ ).

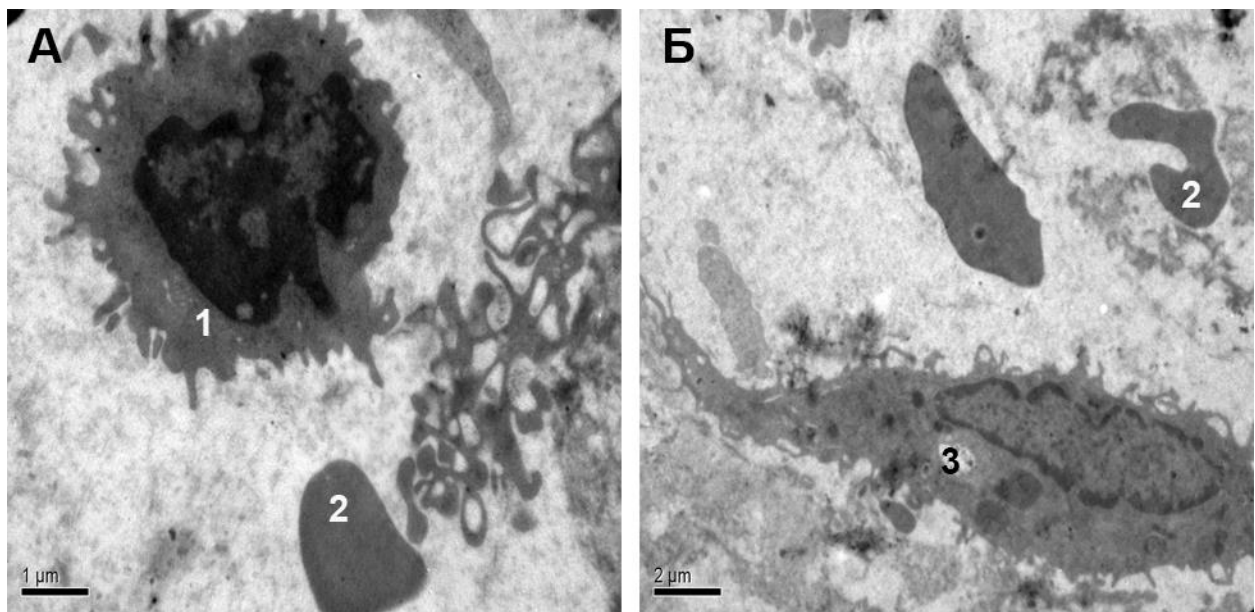


Рисунок 5.2 – Ультраструктура (А) лімфоциту та (Б) макрофагу у перичентральній ділянці дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 3-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – лімфоцит; 2 – еритроцити; 3 – макрофаг.

Кількість НМВ у щурів серії ХГ+ЗТП в обох ділянках дефекту ТМЛ достовірно не відрізнялась від контрольної та основної дослідної групи ( $P > 0,05$ ). Уміст ПМВ у перичентральній зоні щурів із ХГ+ЗТП був схожим, порівняно із контролем ( $P = 0,996$ ) та підгрупою із ХГ ( $P = 0,100$ ). У крайовій зоні щурів групи ХГ+ЗТП кількість ПМВ була на 16,1 % меншою, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ) та не відрізнялась від контролю ( $P = 0,998$ ). РМВ у цей термін були відсутніми в обох ділянках м'язового дефекту тварин групи ХГ+ЗТП.

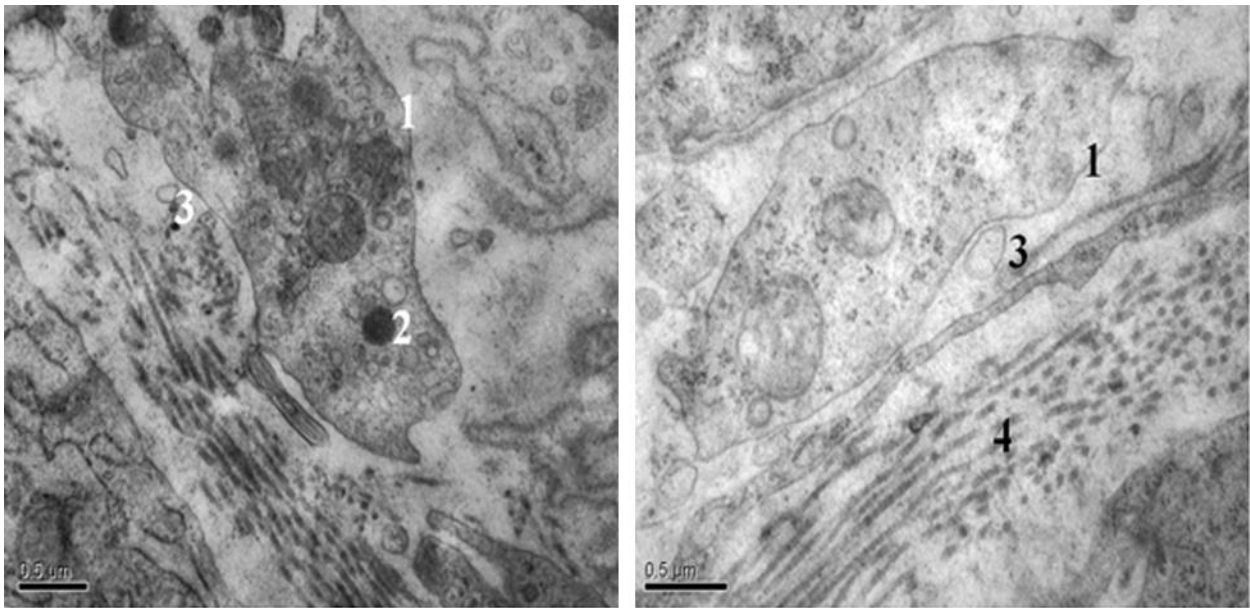


Рисунок 5.3 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 3-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – тромбоцит; 2 – пероксисома; 3 – клатриновий міхурець; 4 – колагенові волокна.

Таблиця 5.1 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'язу литки щурів групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентрально зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
МВ, шт	272,8 ± 16,6	0,151	0,999	0,259	471,0 ± 25,7	0,022	0,998	0,022
НМВ, шт	60,0 ± 3,7	0,227	0,359	0,999	334,5 ± 18,2	0,301	0,478	0,633
ПМВ, шт	212,8 ± 12,9	0,030	0,996	0,100	136,6 ± 7,5	<0,001	0,998	<0,001
РМВ, шт	0	–	–	–	0	–	–	–

Примітка: ХГ+ЗТП – тварини із хронічною гіперглікемією та застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми; МВ – м'язове волокно; НМВ – нормальне м'язове волокно; ПМВ – пошкоджене м'язове волокно; РМВ – регенеруюче м'язове волокно. P<sub>1</sub> – показник статистичної достовірності при одночасному порівнянні між собою контрольної серії, тварин із ХГ та групи ХГ+ЗТП методом ANOVA; P<sub>2</sub> – показник статистичної достовірності при порівнянні контролю із групою ХГ+ЗТП методом Бонферроні; P<sub>3</sub> – показник статистичної достовірності при порівнянні групи ХГ із групою ХГ+ЗТП методом Бонферроні.

У таблиці 5.2 представлено результати оцінки площі різних структурних компонентів посттравматичного дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після механічного ураження, а також результати порівняння цих показників із відповідними показниками у тварин контрольної серії та щурів із ХГ. Так, ПУ у тварин групи ХГ+ЗТП у перицентральної та у крайовій зонах м'язового дефекту не відрізнялась від контрольних і дослідних тварин ( $P > 0,05$ ). Жодних відмінностей між усіма групами порівняння не було виявлено і при аналізі показника ВПСТ в обох ділянках посттравматичного дефекту ТМЛ ( $P > 0,05$ ).

Таблиця 5.2 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	0	–	–	–	0	–	–	–
ПР, %	0	–	–	–	0	–	–	–
ПУ, %	77,2 ± 2,0	0,051	0,613	0,638	28,1 ± 1,5	0,014	0,999	0,104
ВПСТ, %	64,5 ± 3,8	0,959	0,996	0,999	38,2 ± 2,5	0,378	0,997	0,501

Примітка: ХГ+ЗТП – тварини із хронічною гіперглікемією та застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми; ПРМВ – площа регенеруючого м'язового волокна; ПР – площа регенерації; ПУ – площа ураження; ВПСТ – відносна площа сполучної тканини. P<sub>1</sub> – показник статистичної достовірності при одночасному порівнянні між собою контрольної серії, тварин із ХГ та групи ХГ+ЗТП методом ANOVA; P<sub>2</sub> – показник статистичної достовірності при порівнянні контролю із групою ХГ+ЗТП методом Бонферроні; P<sub>3</sub> – показник статистичної достовірності при порівнянні групи ХГ із групою ХГ+ЗТП методом Бонферроні.

Результати визначення кількості мікросудин у посттравматичних дефектах ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після нанесення механічної травми показали, що у перицентральної зоні їх було (9,8 ± 0,6) шт/поле зору, що на 8,4 % менше, ніж у контролі ( $P = 0,017$ ), та на 30,6 % більше, ніж у щурів із ХГ та без уведення ЗТП ( $P < 0,001$ ). У крайовій ділянці м'язового дефекту групи ХГ+ЗТП судин було (17,0 ± 0,9) шт/поле зору, що на 11,4 % менше,

порівняно із контрольною групою ( $P < 0,001$ ), проте, на 28,8 % більше, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ).

Підрахунок вмісту лейкоцитарних гранулоцитів показав, що у периферичній зоні дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після травми їх кількість не відрізнялась від контрольної ( $P = 0,998$ ) і була на 11,1 % меншою ( $(4612,1 \pm 335,9)$  шт/мм<sup>2</sup>), ніж у тварин із ХГ ( $P = 0,006$ ). У крайовій зоні тварин групи ХГ+ЗТП гранулоцитів виявилось на 19,3 % менше ( $(3102,1 \pm 543,2)$  шт/мм<sup>2</sup>), порівняно із тваринами серії ХГ ( $P = 0,009$ ). Різниці із контролем виявлено не було ( $P = 0,999$ ). При цьому вміст агранулоцитів у периферичній зоні щурів групи ХГ+ЗТП становив  $(411,8 \pm 30,0)$  шт/мм<sup>2</sup>, що було на 19,1 % менше, ніж у контролі ( $P < 0,001$ ), та на 117,5 % більше, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій зоні м'язового дефекту групи ХГ+ЗТП було виявлено  $(277,1 \pm 48,5)$  шт/мм<sup>2</sup> агранулоцитів. Вказаний показник був на 15,6 % меншим, ніж у контрольних щурів ( $P = 0,049$ ), і на 93,7 % більшим, ніж у групі із ХГ ( $P < 0,001$ ).

Хіміко-аналітичне вивчення ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 3-у добу після травми показало, що вміст К склав  $(3,84 \pm 0,46)$  мг/г та не відрізнявся між усіма групами порівняння ( $P > 0,05$ ). Концентрація Na у досліджуваній групі становила  $(0,78 \pm 0,25)$  мг/г, що також не відрізнялось від інших груп ( $P > 0,05$ ). Статистично однаковим у групах порівняння також виявився вміст Ca, Mg, Fe і Cu ( $P > 0,05$ ), що у групі ХГ+ЗТП склав  $(0,31 \pm 0,09)$  мг/г,  $(0,43 \pm 0,15)$  мг/г,  $(19,19 \pm 3,01)$  мкг/г і  $(0,32 \pm 0,08)$  мкг/г відповідно. Натомість, концентрація Zn у ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП виявилась на 57,2 % меншою, ніж у контролі ( $P < 0,001$ ) та на 161,4 % більшою, ніж у щурів із ХГ ( $P = 0,005$ ), що становило  $(43,41 \pm 21,00)$  мкг/г.

Гістологічний аналіз посттравматичного дефекту ТМЛ у щурів групи ХГ+ЗТП на 7-у добу після нанесення ушкодження показав, що картина м'язового відновлення здебільшого відповідала такій у групі ХГ. Так, периферична зона ураження була заповнена фібробластами та невпорядкованими пучками колагенових волокон (Рис. 5.4А, Рис. 5.5).



Зустрічались також поодиноків жирові клітини. Проте, на відміну від щурів із ХГ та без уведення ЗТП, набряк сполучнотканинних прошарків та лейкоцитарна інфільтрація у м'язових дефектах тварин групи ХГ+ЗТП були менш помітними, а активність ангиогенезу, навпаки, більш вираженою (Рис. 5.5).

У крайовій зоні дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 7-у добу експерименту відзначались набряк тканин, інфільтрація клітинами лейкоцитарного ряду, що просувались уздовж деформованих та зруйнованих м'язових волокон у бік незміненої частини м'язу (Рис. 5.4Б).

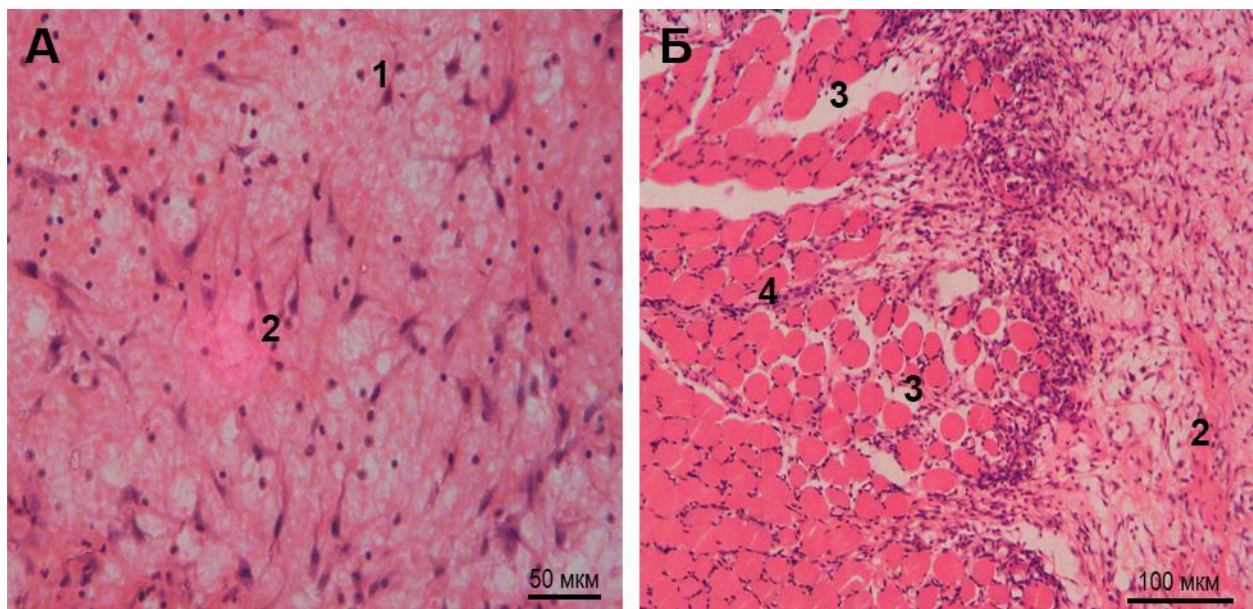


Рисунок 5.4 – Перичентральна (А) та крайова (Б) зона ділянки дефекту триголового м'язу литки щура із хронічною гіперглікемією на 7-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – фібробласт; 2 – колагенові волокна; 3 – набряк прошарків сполучної тканини; 4 – лейкоцитарна інфільтрація.

Ультраструктурний аналіз місця ураження ТМЛ тварин серії ХГ+ЗТП на 7-у добу після відтворення травми дав змогу встановити, що у крайовій зоні дефекту знаходилась значна кількість фрагментованих м'язових волокон з відносно збереженою саркомерною будовою, відсутністю ядер, структурно

зміненими компонентами саркоплазматичного ретикулуму та мітохондріону (Рис. 5.6А). Такі м'язові клітини здебільшого були оточені морфологічно зміненими тромбоцитами та еритроцитами, а також значною кількістю колагенових волокон. Крім того, у регенераті спостерігались сформовані тонкостінні судини з широкими просвітами та активним трансцитозом (рис. 5.6Б).

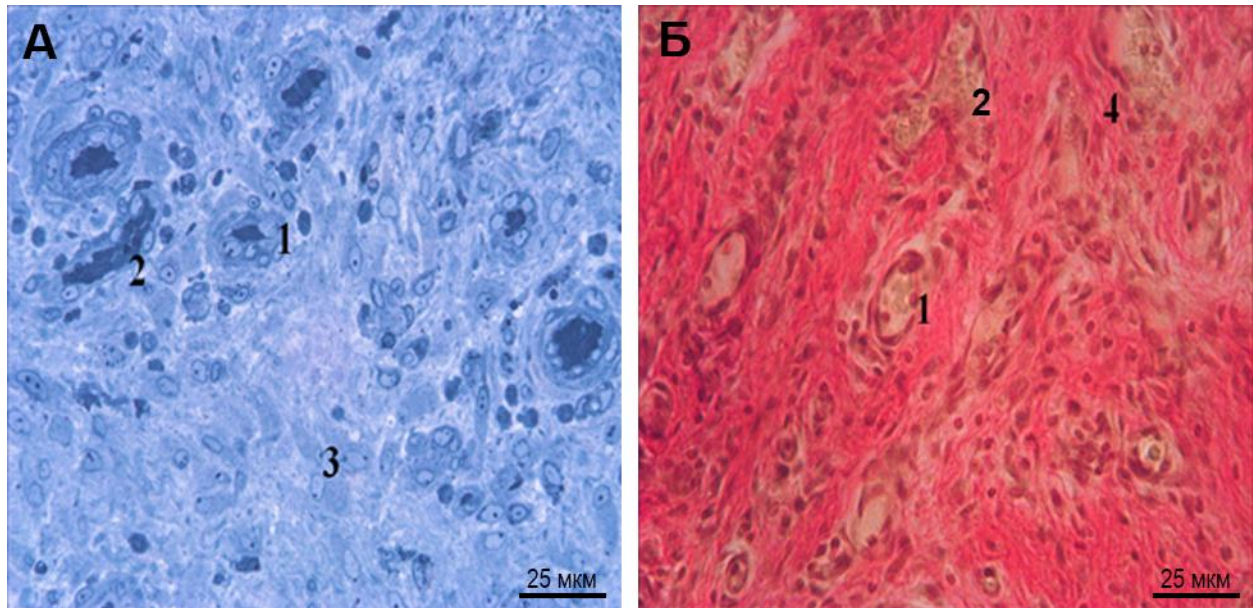


Рисунок 5.5 – Перицентрально ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 7-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення пікосиріусом червоним. 1 – артеріола; 2 – венула; 3 – фібробласти; 4 – колагенові волокна.

Результати підрахунку кількості різних м'язових волокон в обох ділянках посттравматичного дефекту ТМЛ тварин серії ХГ+ЗТП на 7-у добу після механічного пошкодження представлені у таблиці 5.3. Так, загальна кількість МВ у периферійній зоні дефекту ТМЛ щурів ХГ+ЗТП не відрізнялась від цього показника у контрольних тварин ( $P = 0,359$ ) та у щурів із ХГ ( $P = 0,211$ ). Не було виявлено достовірної відмінності за цим показником серед груп порівняння і в крайовій ділянці дефекту ( $P = 0,999$  – для обох підгруп).

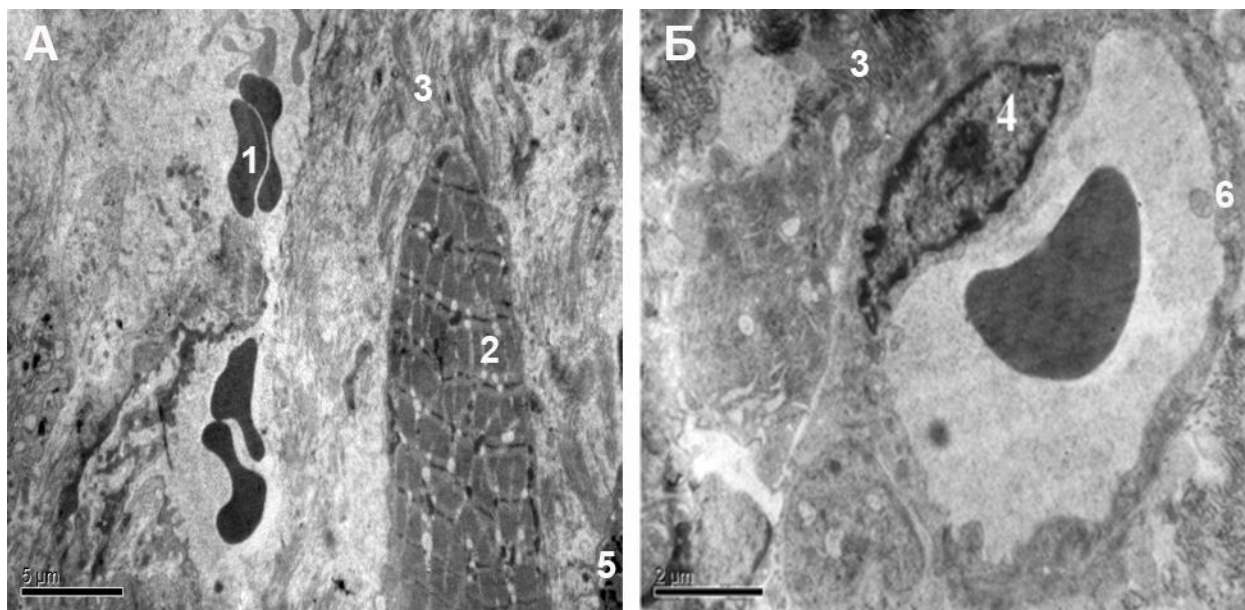


Рисунок 5.6 – Ультраструктура (А) м'язового волокна та (Б) капіляру у ділянці дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 7-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – еритроцит; 2 – фрагментоване м'язове волокно; 3 – колагенові волокна; 4 – ядро ендотеліоцита капіляра; 5 – макрофаг; 6 – мікровезикула.

Математичний аналіз також не встановив значущої різниці в кількості НМВ в обох зонах м'язового дефекту між тваринами групи ХГ+ЗТП та щурами контролю і тваринами із ХГ ( $P > 0,05$ ). При цьому кількість ПМВ у периферичній ділянці дефекту щурів із ХГ+ЗТП була на 13,9 % меншою, ніж у тварин із ХГ ( $P = 0,005$ ), та достовірно не відрізнялась від контролю ( $P = 0,999$ ). У крайовій ділянці тварин групи ХГ+ЗТП уміст ПМВ не відрізнявся від контрольної серії ( $P = 0,998$ ) та був на 18,9 % меншим, ніж у щурів із ХГ ( $P < 0,001$ ). На 7-у добу в обох зонах дефекту ТМЛ вже виявлялись РМВ. Так, у щурів групи ІХ+ЗТП їхня кількість у периферичній зоні була на 30,2% меншою, ніж у контролі ( $P < 0,001$ ), та на 166 % більшою, ніж у групі ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій зоні дефекту кількість РМВ у щурів ХГ+ЗТП була на 22,3 % меншою, порівняно із контрольною групою ( $P < 0,001$ ), та на 103,1 % більшою, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ).



Таблиця 5.3 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'язу литки щурів групи ХГ+ЗТП на 7-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
МВ, шт	261,9 ± 29,2	0,146	0,359	0,211	491,2 ± 25,7	0,696	0,999	0,999
НМВ, шт	52,4 ± 6,1	0,280	0,348	0,999	328,9 ± 13,9	0,002	0,203	0,141
ПМВ, шт	193,8 ± 21,7	0,005	0,999	0,005	142,3 ± 6,1	0,003	0,998	<0,001
РМВ, шт	15,7 ± 1,8	<0,001	<0,001	<0,001	19,5 ± 0,9	<0,001	<0,001	<0,001

Примітка. Див. таблицю 5.1.

Результати визначення площі деяких компонентів дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 7-у добу після ушкодження наведені у таблиці 5.4. Показано, що ПУ у групі ХГ+ЗТП у перицентральноній зоні м'язового дефекту була меншою, ніж у тварин із ХГ ( $P = 0,013$ ), не відрізняючись при цьому від контрольної групи ( $P = 0,631$ ). У крайовій ділянці ПУ у щурів ХГ+ЗТП також значуще не відрізнялась від контролю ( $P = 0,060$ ) та була достовірно меншою, ніж у тварин основної дослідної групи ( $P < 0,001$ ). Стосовно ПР, то у перицентральноній ділянці дефекту її показник у тварин ХГ+ЗТП був значимо меншим, ніж у групі контролю ( $P = 0,001$ ), проте достовірно вищим, ніж у щурів із ХГ ( $P < 0,001$ ).

Відповідна картина спостерігалась і при аналізі крайової зони м'язового дефекту ( $P = 0,010$  – при порівнянні із контролем;  $P < 0,001$  – при порівнянні із групою ХГ). При дослідженні показників ПРМВ та ВПСТ в обох зонах посттравматичного дефекту ТМЛ достовірних відмінностей між усіма групами встановлено не було ( $P > 0,05$ ).

Підрахунок кількості судин в обох зонах дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 7-у добу після механічної ушкодження показав, що у перицентральноній ділянці їх було ( $9,4 \pm 1,1$ ) шт/поле зору, що на 16,1 % менше, ніж у контролі ( $P = 0,005$ ), але на 28,7 % більше, порівняно із щурами групи ХГ ( $P = 0,001$ ). У крайовій зоні м'язового дефекту тварин ХГ+ЗТП кількість судин

склала ( $18,0 \pm 0,8$ ) шт/поле зору, що на 9,5 % менше, якщо порівнювати із контрольними значеннями ( $P < 0,001$ ), та на 42,9 % більше, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ).

Таблиця 5.4 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів групи ХГ+ЗТП на 7-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	214,0 ± 33,4	0,915	0,999	0,999	209,1 ± 30,0	0,229	0,999	0,359
ПР, %	1,1 ± 0,2	<0,001	0,001	<0,001	0,7 ± 0,1	<0,001	0,010	<0,001
ПУ, %	76,8 ± 2,1	<0,001	0,631	0,013	28,7 ± 1,9	<0,001	0,060	<0,001
ВПСТ, %	68,6 ± 4,8	0,381	0,999	0,508	38,9 ± 1,8	0,548	0,979	0,999

Примітка. Див. табл. 5.2.

Результати підрахунку кількості різних форм лейкоцитів у дефекті ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 7-у добу після ушкодження показали, що у перицентральної ділянці дефекту кількість гранулоцитів становила ( $4599,3 \pm 168,9$ ) шт/мм<sup>2</sup>, що було на 7,2 % більше, ніж у контролі ( $P = 0,022$ ), та значуще не відрізнялось від щурів із ХГ ( $P = 0,076$ ). У крайовій зоні м'язового дефекту щурів серії ХГ+ЗТП вміст гранулоцитів склав ( $2355,7 \pm 362,6$ ) шт/мм<sup>2</sup>, що було на 22,9 % менше, ніж у тварин із ХГ ( $P = 0,005$ ), та не відрізнялось від контрольної групи ( $P = 0,999$ ). Кількість агранулоцитів у перицентральної ділянці тварин групи ХГ+ЗТП становила ( $410,9 \pm 15,1$ ) шт/мм<sup>2</sup>, що було на 13,9 % менше, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ), та на 131,9 % більше, ніж у щурів ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій зоні посттравматичного дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП вміст агранулоцитів склав ( $210,6 \pm 32,4$ ) шт/мм<sup>2</sup>. Це значення було на 18,1 % меншим, порівняно із контрольною групою ( $P = 0,044$ ), та на 89,1 % вищим, ніж у щурів із ХГ ( $P < 0,001$ ).

Результати вивчення вмісту деяких хімічних елементів у ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП показали, що на 7-у добу після нанесення механічної травми

концентрація К становила ( $3,77 \pm 0,36$ ) мг/г, Na – ( $0,80 \pm 0,23$ ) мг/г, Ca – ( $0,31 \pm 0,06$ ) мг/г, Mg – ( $0,42 \pm 0,14$ ) мг/г, Fe – ( $18,8 \pm 3,33$ ) мкг/г, Cu – ( $0,32 \pm 0,12$ ) мкг/г. Статистично достовірних відмінностей у значенні наведених вище показників при порівнянні із контролем та групою із ХГ виявлено не було ( $P > 0,05$ ). При цьому вміст Zn у ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 7-у добу експерименту склав ( $34,6 \pm 11,77$ ) мкг/г, що було на 65,7 % менше, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ). Відмінностей, порівняно із щурами групи ХГ, встановлено не було ( $P = 0,067$ ).

Структурний аналіз дефекту ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП за допомогою світлової мікроскопії показав на 14-у добу після нанесення механічної травми показав активне утворення нових м'язових волокон, що були оточені значним масивом сполучної тканини з наявністю в ній сформованих комплексів тонкостінних судин (Рис. 5.7). Самі судини часто були повнокровними, а у перивазальних ділянках спостерігались поодинокі лейкоцитарні агранулоцити. Щільність капілярів була набагато вищою, порівняно із дослідною групою.

Дослідження місця механічного травмування ТМЛ у щурів групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після ураження за допомогою електронної мікроскопії показало наявність в обох зонах дефекту активованих міогенних клітин, що зливалися з утворенням міотуб (Рис 5.8Б). Ядра таких клітин містили значну кількість еухроматину. У цитоплазмі відзначалось утворення нових міофіламентів із чітко диференційованою саркомерною організацією. Разом із цим у м'язових волокнах крайових ділянок дефекту продовжувалися процеси їх фрагментації. Деякі волокна були контракованими. У частині міосимпластів простежувалося утворення ланцюгів везикул. Слід відмітити, що м'язовий регенерат у цей термін характеризувався наявністю телоцитів (Рис. 5.8А). Клітини мали полігональну форму, розвинені органели та довгі, тонкі відростки, якими вони встановлювали контакти з іншими клітинами.

Також на 14-у добу після травмування ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП у м'язовому дефекті відзначались ділянки інфільтровані електронно-щільними гранулами та деформованими тромбоцитами зі збереженою цитоплазматичною

мембраною та великою кількістю мітохондрій (Рис. 5.9). Окрім цього спостерігались поодинокі еозинофіли з кристалоїдними гранулами.

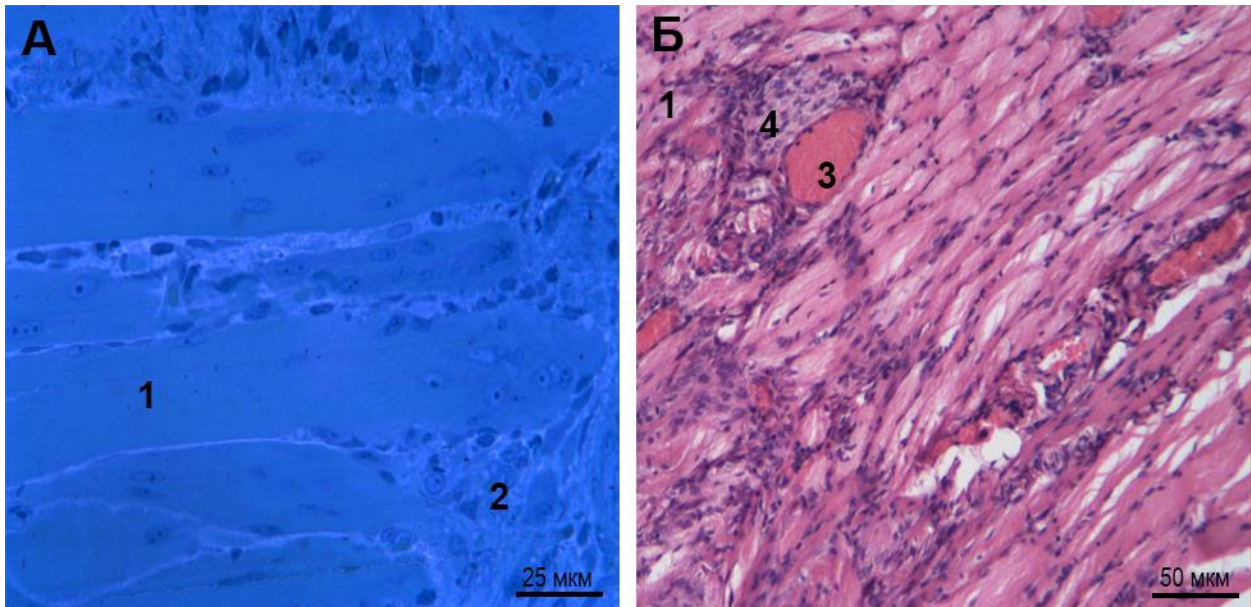


Рисунок 5.7 – Перичентральна ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 14-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами маси. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – міогенні клітини; 2 – прошарок сполучної тканини; 3 – повнокрів'я судин; 4 – перивазальна лейкоцитарна інфільтрація.

У таблиці 5.5 показані результати оцінки кількості різних м'язових волокон у посттравматичному дефекті ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після ушкодження. Встановлено, що загальна кількість МВ в обох ділянках м'язового дефекту щурів групи ХГ+ЗТП достовірно не відрізнялась від контролю та тварин із ХГ ( $P > 0,05$ ). Кількість НМВ у групі ХГ+ЗТП у перичентральній зоні дефекту ТМЛ також значуще не відрізнялась від обох груп порівняння ( $P > 0,05$ ). При цьому у крайовій зоні м'язового дефекту тварин групи ХГ+ЗТП уміст НМВ виявився на 7,2 % більшим, ніж у групі ХГ ( $P = 0,024$ ). Порівняно із контролем, різниці за цим показником не було ( $P = 0,999$ ).

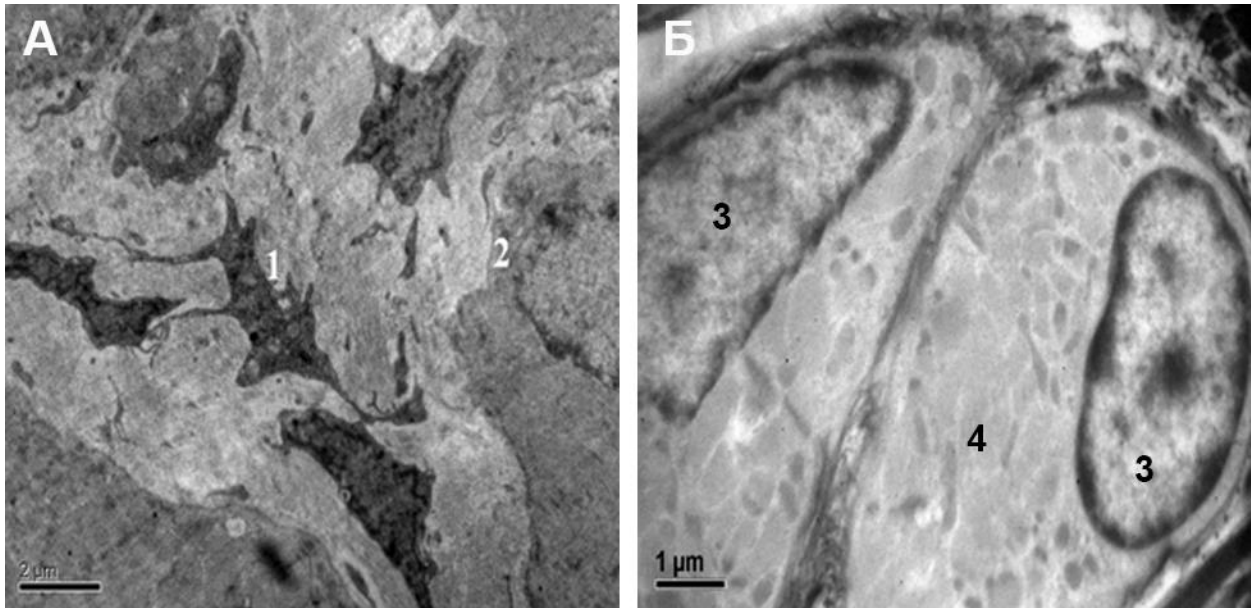


Рисунок 5.8 – Ультраструктура лейкоциту (А) та міогенних клітин (Б) у ділянці дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 14-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Контрастування ураніацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – лейкоцит; 2 – лізис м'язового волокна; 3 – ядро міогенної клітини; 4 – міофіламенти.

Кількість ПМВ у периферійній зоні дефекту тварин із ХГ+ЗТП не відрізнявся від контрольної серії ( $P = 0,999$ ) та був на 27,2 % меншим, ніж у щурів із ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій ділянці тварин групи ХГ+ЗТП ПМВ було на 45,1 % менше, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ), та на 19,5 % більше, ніж у щурів із ХГ ( $P < 0,001$ ). Кількість РМВ у периферійній ділянці дефекту групи ХГ+ЗТП була на 19,4% меншою, ніж у групі контролю ( $P < 0,001$ ), та на 83 % більшою, ніж у щурів із ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій ділянці тварин групи ХГ+ЗТП уміст РМВ був на 18,1 % меншим, ніж у контролі ( $P < 0,001$ ). Разом із цим значущої різниці при порівнянні із основною дослідною групою виявлено не було ( $P = 0,062$ ).

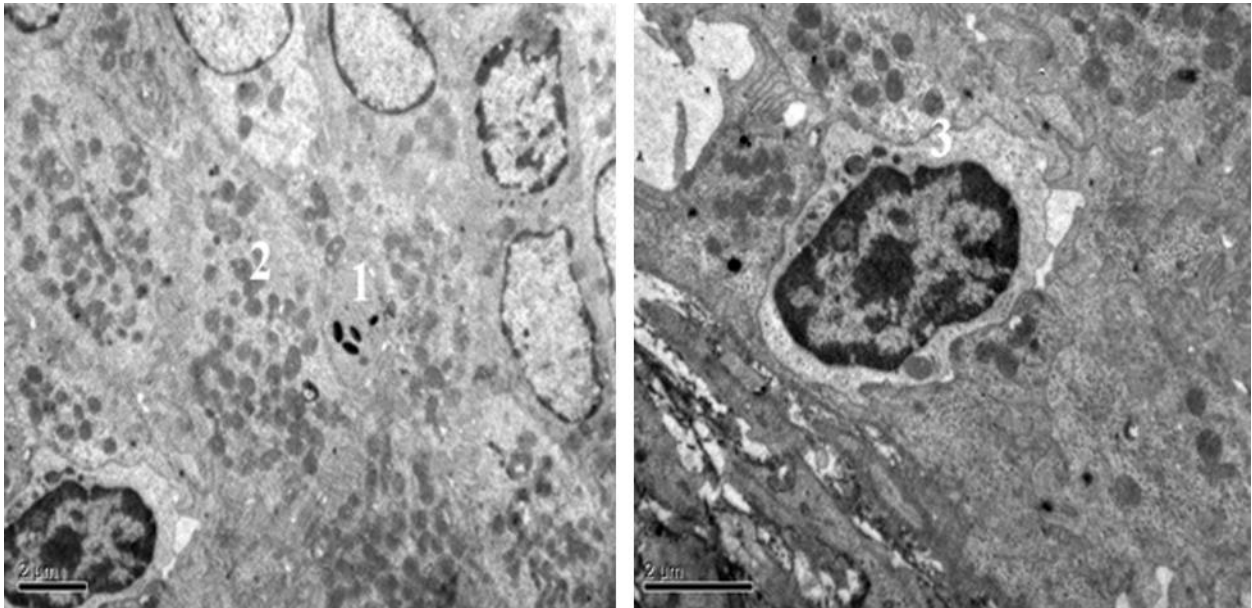


Рисунок 5.9 – Ультраструктура ділянки дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 14-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – еозинофіл; 2 – мітохондрії; 3 – фібробласт.

Таблиця 5.5 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'яза литки щурів групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
МВ, шт	447,9 ± 70,8	0,174	0,403	0,999	511,6 ± 22,0	0,466	0,999	0,999
НМВ, шт	71,8 ± 11,2	0,173	0,999	0,355	342,5 ± 14,5	0,016	0,999	0,024
ПМВ, шт	206,6 ± 32,7	<0,001	0,999	<0,001	86,9 ± 3,6	<0,001	<0,001	<0,001
РМВ, шт	170,2 ± 26,9	<0,001	<0,001	<0,001	81,9 ± 3,6	<0,001	<0,001	0,062

Примітка. Див. таблицю 5.1.

У таблиці 5.6 наведені показники площ різних структур м'язового дефекту ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після нанесення травми. Показано, що ПУ у щурів ХГ+ЗТП у перицентральної ділянці була більшою, ніж у контролі (P = 0,043), та меншою, ніж у групі ХГ (P < 0,001). У крайовій зоні показник ПУ у групі ХГ+ЗТП також був більшим, ніж у контрольній групі

( $P < 0,001$ ), та меншим, порівняно із групою ХГ ( $P < 0,001$ ). Значення ПР у периферичній зоні м'язового дефекту у щурів групи ХГ+ЗТП було достовірно меншим, ніж у контрольних тварин ( $P = 0,001$ ), та значущо більшим, ніж у групі ХГ ( $P < 0,001$ ). При цьому дослідження у крайовій зоні дефекту ТМЛ показало, що ПР у тварин ХГ+ЗТП була меншою, ніж у контрольній групі ( $P < 0,001$ ), і не відрізнялась від щурів із метаболічними розладами ( $P = 0,998$ ). Результати аналізу показників ПРМВ та ВПСТ в обох ділянках м'язового дефекту ТМЛ не продемонстрували значущих відмінностей між усіма групами порівняння ( $P > 0,05$ ).

Таблиця 5.6 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після нанесення травми

Показник	Периферична зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	350,9 ± 45,3	0,341	0,999	0,999	350,2 ± 42,2	0,207	0,999	0,401
ПР, %	14,4 ± 2,2	<0,001	0,001	<0,001	4,9 ± 0,5	<0,001	<0,001	0,998
ПУ, %	63,3 ± 3,3	<0,001	0,043	<0,001	18,7 ± 1,4	<0,001	<0,001	<0,001
ВПСТ, %	58,4 ± 7,1	0,681	0,999	0,999	41,9 ± 2,8	0,063	0,073	0,267

Примітка. Див. табл. 5.2.

Результати підрахунку судин у посттравматичному дефекті ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після ураження показали, що у периферичній зоні їх було (16,3 ± 2,6) шт/поле зору, що на 15,1 % менше, порівняно із контрольною групою ( $P = 0,003$ ), і на 40,5 % більше, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ). Кількість мікросудин у крайовій ділянці дефекту щурів групи ХГ+ЗТП становила (18,8 ± 0,8) шт/поле зору, що достовірно не відрізнялось від контролю ( $P = 0,062$ ), та одночасно було на 39,3 % більше, ніж у групі ХГ ( $P < 0,001$ ).

Визначення вмісту клітин лейкоцитарного ряду у дефект скелетного м'язу щурів групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після травми дало змогу встановити, що у периферичній ділянці дефекту гранулоцитів було (858,0 ± 58,1) шт/мм<sup>2</sup>,

що практично відповідало цьому показнику в контрольній групі ( $P = 0,999$ ), та було на 28,1 % менше, ніж у щурів із ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій ділянці дефекту тварин групи ХГ+ЗТП кількість гранулоцитів становила ( $540,7 \pm 159,6$ ) шт/мм<sup>2</sup>, що також не відрізнялось від контролю ( $P = 0,999$ ), і було на 25,1 % менше, ніж у щурів групи ХГ ( $P = 0,044$ ). Уміст агранулоцитів у периферичній зоні дефекту щурів серії ХГ+ЗТП становив ( $76,7 \pm 5,2$ ) шт/мм<sup>2</sup>, що було на 18,2 % менше, ніж у тварин контролю ( $P < 0,001$ ), та на 76,3 % більше, порівняно із когортою ХГ ( $P < 0,001$ ). Натомість, у крайовій зоні м'язового дефекту тварин групи ХГ+ЗТП агранулоцитів було ( $48,3 \pm 14,1$ ) шт/мм<sup>2</sup>. Такий показник достовірно не відрізнявся від контрольного значення ( $P = 0,496$ ) та був на 193,9 % більшим, ніж у групі тварин із ХГ ( $P = 0,003$ ).

Оцінка концентрації деяких хімічних елементів у скелетних м'язах тварин серії ХГ+ЗТП показала, що на 14-у добу після ушкодження вміст К становив ( $3,67 \pm 0,42$ ) мг/г, Са – ( $0,36 \pm 0,08$ ) мг/г, Mg – ( $0,43 \pm 0,11$ ) мг/г, Fe – ( $18,4 \pm 2,87$ ) мкг/г, Cu – ( $0,32 \pm 0,05$ ) мкг/г. Значущих відмінностей у концентрації цих елементів при порівнянні із групою контролю та тваринами із ХГ встановлено не було ( $P > 0,05$ ). Поряд із цим, вміст Na у ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП склав ( $0,70 \pm 0,10$ ) мг/г, що статистично відповідало контрольним значенням ( $P = 0,999$ ) та було меншим, ніж у тварин із ХГ на 15,9 % ( $P = 0,043$ ). Показник концентрації Zn у ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 14-у добу після травми склав ( $43,1 \pm 23,98$ ) мкг/г, що було на 54,9 % менше, порівняно із контролем ( $P < 0,001$ ), та на 123,5 % більше, ніж у щурів групи ХГ ( $P = 0,009$ ).

Результати мікроскопічного аналізу ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 28-у добу після ушкодження показали, що посттравматичний регенерат містив м'язові волокна різної форми та розміру. Ядра значної кількості м'язових клітин мали центральне розташування. Навколо утворених міосимпластів спостерігались надмірно сформовані прошарки ендомізію та перимізію, що містили значну кількість колагенових волокон (Рис. 5.10).



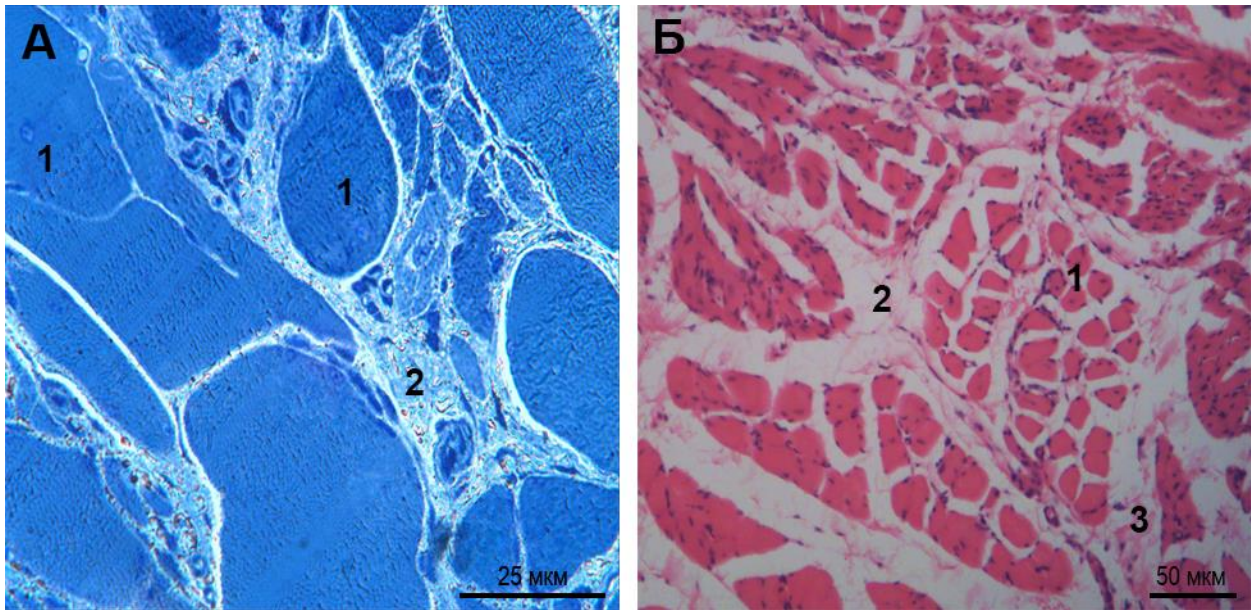


Рисунок 5.10 – Перичентральна ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 28-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. А – напівтонкий зріз, забарвлення метиленовим синім. Б – забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – новоутворені м'язові волокна; 2 – масивні прошакри сполучної тканини; 3 – колагенові волокна.

У м'язовому регенераті також відзначалась велика кількість судин мікроциркуляторного русла різного калібру та діаметру. Артеріоли мали дуже розвинену та потовщену середню оболонку (Рис. 5.11). Ознаки лейкоцитарної інфільтрації та набряку були практично відсутніми.

Дослідження ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 28-у добу після механічного ураження за допомогою електронного мікроскопа показало, що локус регенерації був заповнений масивними тяжами сполучної тканини, великою кількістю судин мікроциркуляторного русла та поліморфними м'язовими волокнами (Рис. 5.12). Цитоплазма м'язових клітин містила здебільшого правильної форми ядра, значну кількість мітохондрії в перинуклеарному просторі та пучки міофібрил із хвилястою і частково розірваною Z-лінією.

Результати визначення кількості різних м'язових волокон в регенератах ТМЛ тварин серії ХГ+ЗТП на 28-у добу після нанесення травми наведені у

таблиці 5.7. Встановлено, що загальна кількість МВ у щурів групи ХГ+ЗТП в обох зонах регенерату була такою ж, як у контрольній групі ( $P = 0,999$ ). При цьому, порівняно із групою ХГ, у перичентральній ділянці м'язового дефекту тварин групи ХГ+ЗТП загалом МВ було більше на 9,3 % ( $P = 0,033$ ), а у крайовій – на 7,7 % ( $P = 0,009$ ).

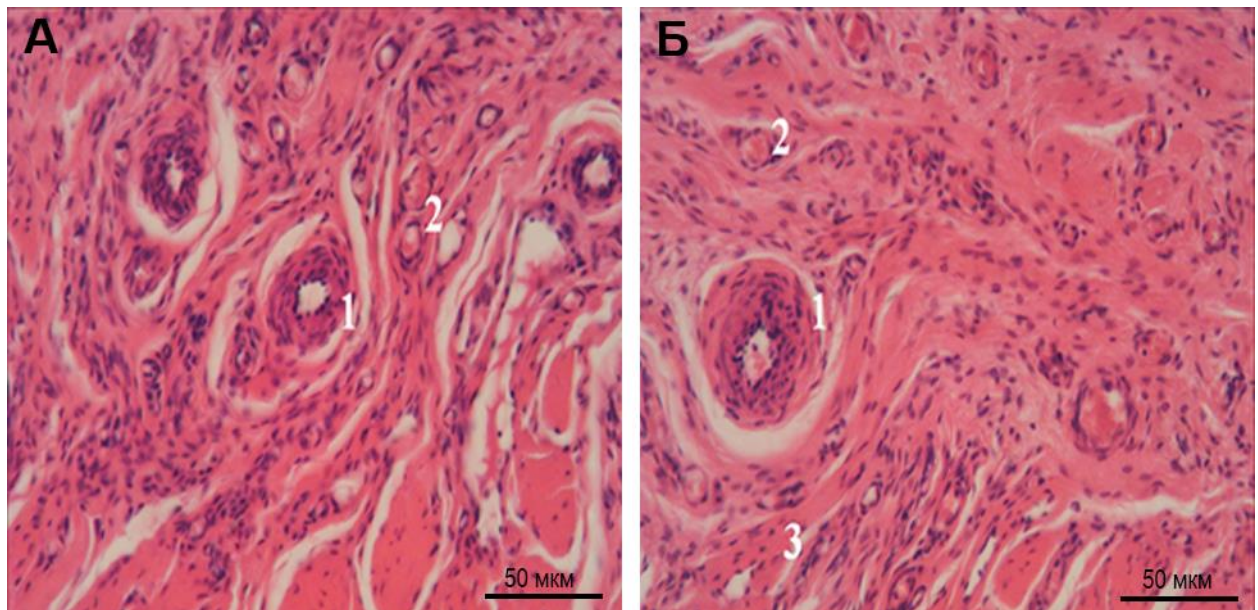


Рисунок 5.11 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 28-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Забарвлення гематоксиліном і еозином. 1 – артеріоли; 2 – капіляри; 3 – м'язові волокна.

Схожими були результати визначення вмісту НМВ. Так, їх кількість між групою контролю та ХГ+ЗТП у цей термін експерименту в обох зонах м'язового регенерату не відрізнялась ( $P = 0,442$  – для перичентральної зони;  $P = 0,999$  – для крайової зони). Поряд із цим, у перичентральній ділянці посттравматичного регенерату щурів серії ХГ+ЗТП НМВ було на 9 % більше ( $P = 0,038$ ), а в крайовій ділянці – на 7,6 % більше ( $P = 0,011$ ), ніж у групі щурів із ХГ. Кількість ПМВ у перичентральній зоні регенерату ТМЛ щурів із ХГ+ЗТП була на 117,1 % більшою, порівняно із контролем ( $P < 0,001$ ), та на 32 % меншою, ніж у підгруп тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій ділянці тварин серії

ХГ+ЗТП ПМВ виявилось на 102,2 % більше, ніж у групі контролю ( $P < 0,001$ ), та на 19,1 % менше, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ).

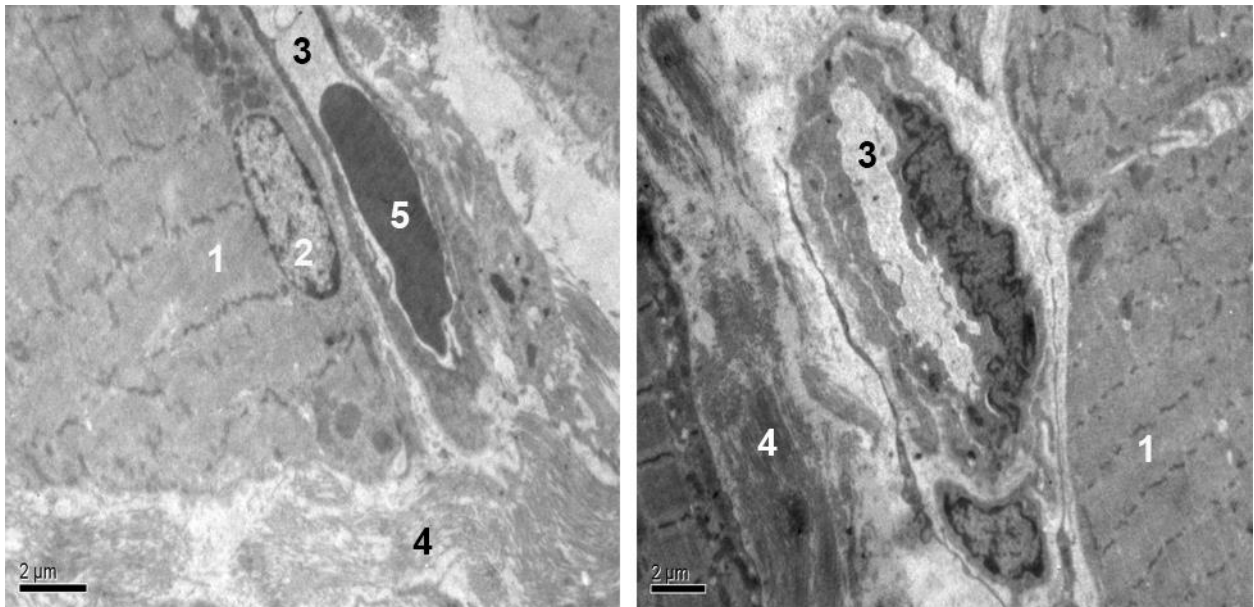


Рисунок 5.12 – Ультраструктура перичентральної ділянки дефекту триголового м'яза литки щура із хронічною гіперглікемією на 28-у добу після нанесення травми та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 1 – міофіламент; 2 – ядро міосимпласта; 3 – просвіт капіляра; 4 – масивний ендомізій; 5 – еритроцит в просвіті капіляру.

Нарешті, кількість РМВ у перичентральній ділянці регенерату ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП була на 8,1 % меншою, ніж у контрольній групі ( $P = 0,030$ ), але на 25,6 % більшою, ніж у щурів групи ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій ділянці вміст РМВ не відрізнявся між групою контролю та групою ХГ+ЗТП ( $P = 0,956$ ). Проте, цей показник в останній групі був на 15,7 % вищим, ніж у групі ХГ ( $P < 0,001$ ).

У таблиці 5.8 показані значення площ структурних складових посттравматичного регенерату ТМЛ тварин серії ХГ+ЗТП на 28-у добу після відтворення механічної травми. Показник ПУ у перичентральній зоні регенерату щурів серії ХГ+ЗТП був достовірно більшим, ніж у контрольній

групі ( $P < 0,001$ ), та меншим, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій зоні ПУ у підгрупі ХГ+ЗТП також була більшою, ніж у контролі ( $P < 0,001$ ), та меншою, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ).

Таблиця 5.7 – Кількість м'язових волокон різного типу у дефекті триголового м'язу литки щурів групи ХГ+ЗТП на 28-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
МВ, шт	683,9 ± 31,0	0,024	0,999	0,033	615,3 ± 28,9	0,006	0,999	0,009
НМВ, шт	109,4 ± 4,9	0,001	0,442	0,038	393,7 ± 18,5	0,001	0,999	0,011
ПМВ, шт	102,6 ± 4,6	<0,001	<0,001	<0,001	37,0 ± 1,9	<0,001	<0,001	<0,001
РМВ, шт	471,9 ± 21,2	<0,001	0,030	<0,001	184,7 ± 8,7	<0,001	0,956	<0,001

Примітка. Див. табл. 5.1.

Показник ПР у перицентральної ділянці регенерату щурів ХГ+ЗТП був меншим, ніж у контрольних тварин ( $P < 0,001$ ), та вищим, ніж у групі ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій зоні м'язового регенерату ПР у тварин ХГ+ЗТП не відрізнялась від контрольних значень ( $P = 0,842$ ) та була більшою, ніж у тварин основної експериментальної групи ( $P < 0,001$ ). Показник ПРМВ в обох досліджуваних зонах регенерату достовірно не відрізнявся між групами контролю та ХГ+ЗТП ( $P = 0,999$ ). Разом із цим, порівняно із групою ХГ, у щурів серії ХГ+ЗТП ПРМВ в обох ділянках була достовірно більшою ( $P = 0,002$  – для перицентральної ділянки;  $P < 0,001$  – для крайової ділянки).

Значення ВПСТ в обох зонах посттравматичного регенерату ТМЛ також значуще не відрізнялось між контрольною групою та щурами серії ХГ+ЗТП ( $P > 0,05$ ). Проте, якщо порівнювати із групою ХГ, то у щурів ХГ+ЗТП цей показник був достовірно меншим в обох ділянках м'язового регенерату ( $P = 0,001$ ).

Аналіз кількості судин мікроциркуляторного русла в регенераті ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП на 28-у добу після нанесення травми виявив, що у перицентральної зоні їх було ( $25,0 \pm 1,3$ ) шт/поле зору, що на 7,4 % менше, ніж

у контрольній групі ( $P = 0,041$ ), проте, на 54,3 % більше, ніж у тварин із ХГ ( $P < 0,001$ ). У крайовій зоні м'язового регенерату щурів групи ХГ+ЗТП кількість судин становила ( $22,6 \pm 1,3$ ) шт/поле зору, що на 6,9 % менше, порівняно із контрольною серією ( $P = 0,013$ ), і на 50,7 % більше, ніж у групі ХГ ( $P < 0,001$ ).

Таблиця 5.8 – Показники площі різних структурних компонентів у дефекті триголового м'язу литки щурів групи ХГ+ЗТП на 28-у добу після нанесення травми

Показник	Перицентральнона зона				Крайова зона			
	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	ХГ+ЗТП	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
ПРМВ, мкм <sup>2</sup>	787,4 ± 89,0	<0,001	0,999	0,002	818,5 ± 76,7	<0,001	0,999	<0,001
ПР, %	58,0 ± 3,2	<0,001	<0,001	<0,001	21,9 ± 1,7	<0,001	0,842	<0,001
ПУ, %	19,8 ± 2,6	<0,001	<0,001	<0,001	6,6 ± 0,5	<0,001	<0,001	<0,001
ВПСТ, %	36,1 ± 5,2	0,001	0,639	0,001	31,0 ± 3,7	0,001	0,999	0,001

Примітка. Див. табл. 5.2.

Визначення вмісту клітин лейкоцитарного ряду у регенераті ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 28-у добу після ураження показало, що у перицентральноній зоні кількість гранулоцитів складала ( $89,5 \pm 9,3$ ) шт/мм<sup>2</sup>. Це повністю відповідало контрольним значенням ( $P = 0,999$ ), і було при цьому на 56,9 % менше, ніж у групі ХГ ( $P < 0,076$ ). У крайовій ділянці м'язового регенерату щурів групи ХГ+ЗТП гранулоцити не визначались. Уміст агранулоцитів у перицентральноній зоні регенерату ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП становив ( $8,0 \pm 0,9$ ) шт/мм<sup>2</sup>, що було на 19,2 % менше, якщо порівнювати із контрольною групою ( $P = 0,005$ ), та не значуще не відрізнялось від групи ХГ ( $P = 0,828$ ). У крайовій ділянці посттравматичного м'язового регенерату тварин групи ХГ+ЗТП детектувати агранулоцити не вдалось.

Хіміко-аналітичне дослідження ТМЛ щурів серії ХГ+ЗТП на 28-у добу після нанесення травми показало, що концентрація К становила ( $3,84 \pm 0,32$ ) мг/г, Са – ( $0,36 \pm 0,05$ ) мг/г, Mg – ( $0,43 \pm 0,06$ ) мг/г, Fe – ( $19,12 \pm 2,31$ ) мкг/г, Cu – ( $0,31 \pm 0,09$ ) мкг/г. Статистично достовірних відмінностей у значеннях вмісту



наведених вище хімічних елементів під час порівняння із контрольною та основною дослідною групою виявлено не було ( $P > 0,05$ ). Концентрація Na у ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП становила ( $0,74 \pm 0,12$ ) мг/г, що не відрізнялось від контрольної серії ( $P = 0,999$ ) і було при цьому на 16,9 % менше, ніж у щурів із ХГ ( $P = 0,038$ ). Уміст Zn у ТМЛ щурів групи ХГ+ЗТП на 28-у добу дослідження становив ( $58,02 \pm 31,31$ ) мкг/г, що одночасно було на 37,3 % менше, ніж у контрольній групі ( $P = 0,001$ ), і на 194,5 % більше, ніж у тварин групи ХГ ( $P < 0,001$ ).

Підсумовуючи можна сказати, що введення аутологічної ЗТП у місце посттравматичного дефекту скелетного м'язу щурів із ХГ сприяє більш ефективному процесу відновлення, зміщуючи його від утворення сполучнотканинного рубця в бік формування повноцінного м'язового органу. Так, було встановлено, що застосування ЗТП після механічного ушкодження ТМЛ тварин із ХГ призводить до збільшення кількості регенеруючих м'язових волокон, активації неоангіогенезу та зменшенню ступеня фіброзу, якщо порівнювати із тваринами із ХГ та без лікування ЗТП. Разом із цим ступінь лейкоцитарної інфільтрації, вираженість набряку тканин, кількість гранулоцитів та агранулоцитів у посттравматичному дефекті ТМЛ тварин групи ХГ+ЗТП значно відрізнялись від щурів із ХГ да здебільшого були схожими із контрольною групою. Крім того, аналіз вмісту хімічних елементів показав, що застосування ЗТП у певній мірі призводить до нормалізації вмісту натрію та цинку у травмованих скелетних м'язах щурів із експериментальною гіперглікемією.

Основні результати цього розділу опубліковані у працях [9, 163].

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Травматичні ушкодження тканин опорно-рухового апарату відносяться до найбільш частих причин уражень скелетних м'язів [156]. Поряд із цим, однією із найпоширеніших патологій на сьогодні є цукровий діабет (ЦД), що виявляє себе ХГ та особливо часто зустрічається в країнах з розвинутою промисловістю [117]. При цьому відомо, що ХГ виступає однією із основних причин обмеження рухливості, особливо у людей похилого віку, та є потенційним фактором ризику втрати працездатності [117]. Разом із цим показано, що ХГ є причиною зниження кількості і міогенної здатності сателітних клітин, що у кінцевому рахунку стає причиною пригнічення посттравматичної регенерації скелетних м'язів [184].

Таким чином, враховуючи високу поширеність ХГ та значну частоту травматичних ушкоджень скелетних м'язів, нашою метою стало вивчення морфо-функціональних та хімічних особливостей регенерації посмугованої мускулатури в щурів із ХГ, а також пошук можливих шляхів корекції відновного міогенезу на тлі ХГ.

У роботі було досліджено структурні особливості посттравматичної регенерації триголового м'яза литки у щурів без метаболічних порушень, у тварин із експериментальною ХГ, а також проведений морфологічний аналіз впливу ЗТП на процес відновлення посмугованих м'язів за умов дії на організм тварин ХГ. Для експерименту була обрана механічна травма шляхом лінійного розрізу. Процес відновлення м'язів після такого ушкодження має деякі відмінності, порівняно із регенерацією після ураження хімічними агентами [93], температурою [93], контузією [141] або перенапруженням [92]. Так, зокрема спостерігається пролонгація фази некрозу і запалення, а також масивний розвиток сполучної тканини під час фази регенерації та ремоделювання, що в кінцевому рахунку призводить до утворення сполучнотканинно-м'язового

регенерату. При цьому після ураження, наприклад, кардіотоксином [92, 93, 103] або перенапруженням [92], відбувається повноцінна регенерація скелетного м'яза, що практично повторює морфологічну картину цього органу до ушкодження.

Основним етапом нашого дослідження було виявлення структурних особливостей перебігу посттравматичного відновлення скелетних м'язів за умов впливу на організм надмірного вмісту глюкози крові. Для цього ми використали групу лабораторних щурів, яким експериментально моделювали ХГ. Суть обраної моделі ХГ полягала в тому, що тварини протягом 2-х тижнів замість звичайної питної води вживали 10 % водний розчин фруктози. Після цього виконувалась одноразова ін'єкція стрептозотоцину та нікотинової кислоти. Ефективність відтворення ХГ у щурів була підтверджена результатами біохімічного аналізу крові, що співпадали із показниками, одержаними іншими дослідниками [19, 181, 221].

Перед проведенням мікроскопічного аналізу нами були вивчені показники загальної маси тіла та досліджуваного скелетного м'яза щурів із ХГ. Було встановлено, що вага тварин із ХГ у всі терміни експерименту була більшою, ніж у щурів контрольної групи. Натомість, вага ТМЛ у дослідних тварин, навпаки, виявилась меншою, ніж у контрольній серії. Групою Suman et al. також було показано збільшення маси тіла щурів після моделювання ХГ за допомогою стрептозотоцину та висококалорійної дієти [181]. Поряд із цим, результати моделювання ХГ, фенотипово схожої на ЦД1, навпаки, продемонстрували зменшення маси експериментальних тварин [79, 110, 221]. Цікаво зазначити, що безпосередньо вага скелетних м'язів виявилась зменшеною в роботах різних дослідників, незалежно від використаної моделі ХГ [61, 79, 110, 221].

Гістоморфометричний аналіз процесу посттравматичної регенерації скелетних м'язів щурів зі ХГ виявив низку ознак, що відрізняє його від контрольних тварин. Так, набряк і лейкоцитарна інфільтрація спостерігались навіть на 28-у добу після ушкодження. При цьому відзначалось переважання



гранулоцитів на тлі зменшеної кількості агранулоцитів. Схожі результати були отримані Krause et al, що продемонстрували зменшення кількості макрофагів у регенеруючих м'язах щурів із ЦД 1-го типу [110]. Разом із цим Nguyen et al. також виявили збільшення нейтрофілів та фоні зменшення вмісту макрофагів у регенератах скелетних м'язів щурів із генетичними моделями ЦД2 [139].

Дослідження останніх років показали, що макрофаги є необхідною умовою успішної регенерації скелетних м'язів [195, 208, 219]. Ці клітини виступають важливим регуляторним чинником у процесі посттравматичної активації камбіальних клітин м'язів [39, 113]. Колективом Walton et al. встановлено виражену позитивну кореляцію між вмістом макрофагів у регенеруючих скелетних м'язах та площею новоутворених волокон, кількістю сателітних клітин та експресією ростових факторів, зокрема IGF-1 та HGF [195]. Групою Xiao et al. показано, що зменшення кількості макрофагів у скелетних м'язах призводить до надмірного розвитку сполучної тканини, зменшення розміру новоутворених м'язових волокон та посиленого утворення прозапальних цитокінів під час посттравматичного відновлення [208].

Результати дослідження Latroche et al. продемонстрували, що макрофаги забезпечують регенерацію скелетних м'язів через контроль в них процесів міо- та ангиогенезу [113]. На додаток до цього, ультраструктурний аналіз, виконаний Seafalan et al., виявив тісні просторові контакти між макрофагами та міогенними клітинами у скелетних м'язах під час їхнього відновлення [39]. Слід також відмітити результати експериментів Shireman et al. [175]. Дослідниками було показано, що пригнічення активності моноцитарного хемоаттрактантного протеїну-1 (MCP-1, Monocyte Chemoattractant Protein-1) у посмугованих м'язах призводить до уповільнення процесу регенерації, зменшення площі новоутворених волокон, надмірного накопичення гранулоцитів, редукції числа макрофагів, а також до появи жирових клітин.

Експериментальні дослідження останніх років показали, що ХГ пригнічує утворення MyoD і міогеніна [20], а також призводить до зменшення МС у скелетних м'язах [61, 79]. У нашій роботі було виявлено зменшення кількості

та загальної площі новоутворених м'язових волокон в обох досліджуваних ділянках регенеруючого триголового м'яза литки щурів із ХГ. Окрім цього на пізніх етапах дослідження у тварин із ХГ також спостерігалось значне зменшення середньої площі окремого регенеруючого м'язового волокна та зменшення загальної кількості м'язових волокон у посттравматичному регенераті.

Результати колективу Jeong et al. показали, що у щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД спостерігається значне зменшення кількості регенеруючих м'язових волокон, а також редукція вмісту ядер у міосимпластах під час м'язової регенерації [102]. Дослідниками також було показано, що після введення інсуліну спостерігалось відновлення кількості новоутворених м'язових волокон та клітинних ядер. У роботі Krause et al. було показано, що процес відновлення скелетних м'язів у щурів лінії Akita (тварини із мутацією в гені інсуліну) характеризується зменшеною кількістю МС та затримкою їхньою активації. [110]. Зменшення вмісту камбіальних м'язових клітин, а також зменшення площі регенеруючих м'язових волокон під час посттравматичної регенерації скелетних м'язів щурів із ХГ були виявлені також в роботах Fujimaki et al. [79] та D'Souza et al. [61].

Крім цього, експериментальне дослідження Nguyen et al. на щурах із генетичними моделями ЦД (тварини, нокаутовані за геном лептину або геном лептинового рецептору) також виявило значне зменшення кількості сателітоцитів, вмісту новоутворених м'язових волокон та загальної площі регенерації під час посттравматичної регенерації скелетних м'язів [139].

Аналіз кількості м'язових волокон різного типу та результати розрахунку площ різних структурних компонентів у регенератах скелетних м'язів щурів із ХГ показали, що практично увесь термін експерименту у крайовій та периферичній зонах дефекту виявлялась значна кількість пошкоджених м'язових волокон та надмірна загальна площа пошкодження. Крім того, некротизовані міосателітоцити у посттравматичних регенератах ТМЛ тварин із експериментальною ХГ були присутніми навіть на 14-у добу після

ушкодження. Натомість, Krause et al. показали, що в щурів із генетичною моделлю ЦД1 площа та вага уражених волокон скелетних м'язів у різні терміни після нанесення хімічного ураження були меншими, ніж у контрольній групі [110]. Проте, некротизовані м'язові волокна у тварин із ХГ виявлялись значно довше, ніж у тварин без порушення вуглеводного обміну. Слід також відмітити результати дослідної групи D'Souza et al., які показали, що кількість пошкоджених м'язових волокон у щурів із цією ж самою моделлю ЦД1 після перенесення різних видів напруження була значно вищою, ніж у контрольній серії тварин [61].

Важливим морфо-функціональним компонентом повноцінної скелетної мускулатури є позаклітинний матрикс. На сьогодні встановлено, що ця структура не лише забезпечує механічну підтримку м'язових клітин, але також відіграє активну роль у розвитку м'язів, їх регенерації та патології [83]. Показано, що сполучна тканина посмугованих м'язів є динамічним резервуаром для стовбурових клітин, багатьох факторів росту та білків, що реалізують ремоделювання тканин [52]. Також повідомляється, що позаклітинний матрикс м'язів забезпечує кілька типів мікросередовищ для найбільш ефективного функціонування занурених у нього клітин [18]. Поряд із цим, часто у відповідь на захворювання чи травми у посмугованих м'язах відбувається надмірне утворення елементів позаклітинного матриксу, що є клінічно важливим та несе функціональні наслідки [91]. Так, у результаті фіброзу в скелетних м'язах поступово виникає підвищена ригідність і контрактури, що обмежують функцію органу та рухливість відповідних частин тіла [17].

Результати нашого дослідження показали, що у тварин із ХГ процес регенерації триголового м'яза литки після нанесення механічної травми завершується утворенням сполучнотканинно-м'язового регенерату. При цьому встановлено, що загальна площа сполучної тканини у цьому регенераті є значно більшою, якщо порівнювати із щурами групи контролю. Крім цього, мікро- та ультрамікроскопічний аналіз відновлення посмугованих м'язів тварин із ХГ виявив підвищену кількість синтетично активних фібробластів та масивне

утворення колагенових волокон у місці дефекту в різні терміни після відтворення травми.

Схожі результати були отримані під час аналізу репаративного міогістогенезу у щурів із ЦД1 [61]. Було з'ясовано, що у пошкоджених скелетних м'язах тварин із надмірним вмістом глюкози крові спостерігається підвищена експресія колагену, якщо порівнювати із тваринами контрольної групи. Особливо вираженими відмінності були через 5 днів після нанесення травми.

Відомо, що вагому роль у розвитку скелетної мускулатури, її функціонуванні та регенерації відіграє ефективне кровопостачання м'язів [36]. Низкою досліджень показаний позитивний зв'язок між рівнем експресії судинного ендотеліального фактору росту (VEGFA) та кількістю міогенних клітин у скелетних м'язах під час їх посттравматичної регенерації [74, 196]. Крім цього, під час вивчення відновлення скелетної мускулатури в щурів із різними генетичними моделями ЦД групою Nguyen et al. було показано значне зменшення кількості CD31+ позитивних клітин у регенератах посмугованих м'язів тварин із порушенням вуглеводного обміну, порівняно із тваринами без цукрового діабету [139].

Отримані у нашому дослідженні результати також показали, що однією із важливих ознак м'язової регенерації у щурів групи ХГ було значно пригнічене утворення нових судин мікроциркуляторного русла. Разом із цим результати електронномікроскопічного аналізу показали, що мікросудини у місці посттравматичного м'язового відновлення здебільшого мали ознаки ендотеліальної дисфункції. У капілярах спостерігались звужені просвіти, потовщена базальна мембрана та значно вакуолізована цитоплазма ендотеліоцитів. На сьогодні не існує єдиного пояснення причини порушення ангиогенезу в скелетних м'язах в умовах ХГ [47, 142], проте досить ймовірно, що недостатнє кровопостачання м'язу внаслідок порушення утворення нових судин виступає важливим чинником його незавершеної посттравматичної регенерації.

Слід також сказати, що структурно процес посттравматичного відновлення скелетних м'язів щурів із ХГ характеризувався накопиченням жирових включень, стійким набряком тканин, а також затримкою і незавершеністю, що здебільшого відповідає результатам, отриманих під час інших подібних досліджень [61, 139].

Таким чином, одержані у нашій роботі результати виявили гістопатологічні ознаки негативного впливу ХГ на посттравматичну регенерацію скелетних м'язів щурів. У даний час описані деякі молекулярні механізми впливу ХГ на відновлення посмугованої мускулатури. Показано, що експериментальний ЦД призводить до надмірної передачі сигналу через систему міостатин/рецептор TGF- $\beta$ , що, у свою чергу, пригнічує активацію міогенних клітин та послаблює регенерацію скелетних м'язів [102]. Також результати експериментальних досліджень продемонстрували, що цукровий діабет призводить до зменшення вмісту та функціональних можливостей камбіальних клітин посмугованих м'язів через гіперактивацію сигнального шляху Notch [61]. Наразі невідомо, що саме є безпосередньою причиною погіршення регенераторної відповіді МС – власне ХГ, порушення інсулінової сигналізації, або обидва вказані стани одночасно.

Відомо, що у хворих на цукровий діабет спостерігається підвищення у плазмі крові концентрації низки прозапальних факторів, зокрема інтерлейкіну 6 та фактору некрозу пухлини- $\alpha$  [60]. З високою ймовірністю, це може бути наслідком надмірного утворення кінцевих продуктів глікування [212]. Більше того, експерименти *in vitro* показали, що гіперглікемічне середовище індукує адипогенну диференціацію похідних від м'язів стовбурових клітин [16]. Передбачається, що активні форми кисню та ефекторні протеїнкінази, такі як, наприклад, РКС- $\beta$  (протеїнкіназа С бета), відіграють головну роль у цьому процесі. Отже, представлені вище дані можуть слугувати спробою теоретично обґрунтувати зменшення кількості новоутворених м'язових волокон, дизкоординацію запальної відповіді та наявність адипоцитів у відновлювальних скелетних м'язах щурів з індукованою стрептозотоцином ХГ.

Окремою частиною виконаної нами роботи стало хіміко-аналітичне дослідження регенератів скелетних м'язів щурів. Відомо, що розлади гомеостазу різних хімічних елементів мають вагомe значення для розвитку як гіперглікемічних станів, так і порушень відновного міогенезу. Так, показано, що дефіцит Ca і Mg може бути причиною гіпоінсулінемії, а у крові пацієнтів із ЦД2 спостерігається зменшення концентрації Fe, Cu, Zn, та Mn [62]. Поряд із цим у роботі Jinno et al. виявлено, що дефіцит цинку призводить до затримки регенерації скелетних м'язів щурів після їх ураження кардіотоксином [103].

У нашому дослідженні було виявлено, що у посмугованій мускулатурі щурів зі змодельованою ХГ спостерігається зменшення концентрації K, Ca, Zn, Fe та Cu, порівняно із інтактними тваринами. Ці дані здебільшого співпадають із результатами Presley et al. [155]. Проте ними було повідомлено також і про збільшення вмісту Na і Mg у скелетних м'язах тварин із надмірним вмістом глюкози крові.

У представленій роботі нами також вперше проведено дослідження вмісту K, Na, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu у локусах посттравматичної регенерації скелетних м'язів щурів із ХГ. На сьогодні роботи подібного напрямлення є відсутніми. Дані хіміко-аналітичного дослідження показали, що загальна картина динаміки змін мікро- та макроелементного складу регенератів скелетних м'язів щурів із ХГ відповідає такій у неушкоджених скелетних м'язах щурів із ХГ. Так, у місцях посттравматичного відновлення посмугованих м'язів тварин із ХГ спостерігається зростання вмісту Na і Mg, що може свідчити про більш виражену та тривалу руйнацію клітинних структур; а також зниження концентрації Ca, Fe, Zn та Cu, що може бути результатом порушення кровопостачання ділянки регенерації та загальнометаболічних змін на фоні ХГ.

Нещодавній огляд Setayesh et al. [173] показав, що ЗТП сприяє регенерації скелетних м'язів за допомогою анаболічних факторів росту, що виділяються з активованих тромбоцитів, і, таким чином, зменшує ознаки запалення та час відновлення. Поряд із цим два мета-аналізи показали, що місцеве застосування ЗТП під час лікування діабетичних виразок пришвидшує загоєння ран та значно

зменшує кількість ускладнень [97, 98]. Враховуючи це ми вирішили дослідити вплив ЗТП на процес регенерації скелетних м'язів у щурів із ХГ.

На сьогодні виявлені деякі клітинні та молекулярні механізми, що обумовлюють сприятливий прорегенеративний та антифібротичний вплив ЗТП на відновлення м'язової тканини [44]. Припускається, що основною мішенню для ЗТП виступають камбіальні клітини м'язів [132]. При цьому серед усіх факторів росту, що містяться в ЗТП, ключовим вважається тромбоцитарний фактор росту (PDGF, Platelet-derived growth factor) [120]. Разом із цим важлива роль у реалізації мітогенного впливу належить таким факторам росту, як VEGF, HGF та IGF-1 [126]. Показано, що застосування ЗТП сприяє активації міогенної програми всередині міобластів, стимулюючи експресію MyoD, міогеніну та альфа-саркомерного актину [105]. Крім цього слід зазначити, що ЗТП здатна впливати на відновлення тканин посмугованих м'язів шляхом модуляції запальної відповіді [173].

Також нещодавно була встановлена здатність ЗТП запобігати переходу фібробластів у міофібробласти, що являють собою клітинну основу фіброзу м'язової тканини [145]. Продемонстровано, що вказаний ефект досягається за допомогою пригнічення сигнального шляху TGF-1/Smad3 [43].

Результати виконаного нами дослідження показали, що після нанесення механічної травми скелетного м'язу в щурів із експериментальною ХГ використання ЗТП призводить до достовірного збільшення кількості регенеруючих м'язових волокон та зростання загальної площі регенерації, що значно відрізняється від тварин із ХГ та без лікування ЗТП. На рисунку 6.1 представлено динаміку змін показників площі посттравматичної регенерації ТМЛ у різних досліджуваних групах.

Ефективність застосування збагаченої тромбоцитами фібринової матриці (ЗТФМ) для корекції відновного процесу скелетних м'язів після їх механічного ушкодження була досліджена колективом Gigante et al. на щурах без метаболічних розладів [82]. Результати гістологічного та імуногістохімічного досліджень показали, що процес м'язової регенерації в умовах використання

ЗТФМ відбувався значно інтенсивніше, порівняно із контрольною групою. У роботі Wright-Carpenter et al. було показано збільшення кількості активованих МС та новоутворених м'язових волокон у травмованих скелетних м'язах щурів після застосування аутологічної кондиціонованої сироватки [206]. Також групою Contreras-Munoz et al. встановлено, що наслідком використання ЗТП є збільшення кількості новоутворених м'язових волокон та середньої площі зрілих м'язових волокон під час відновного міогістогенезу [49]. Крім цього, дослідники також виявили позитивний вплив ЗТП на функціональні показники посмугової мускулатури щурів. Підвищення силових показників скелетних м'язів щурів після застосування ЗТП були виявлені також і в експериментах Tsai et al. [189].

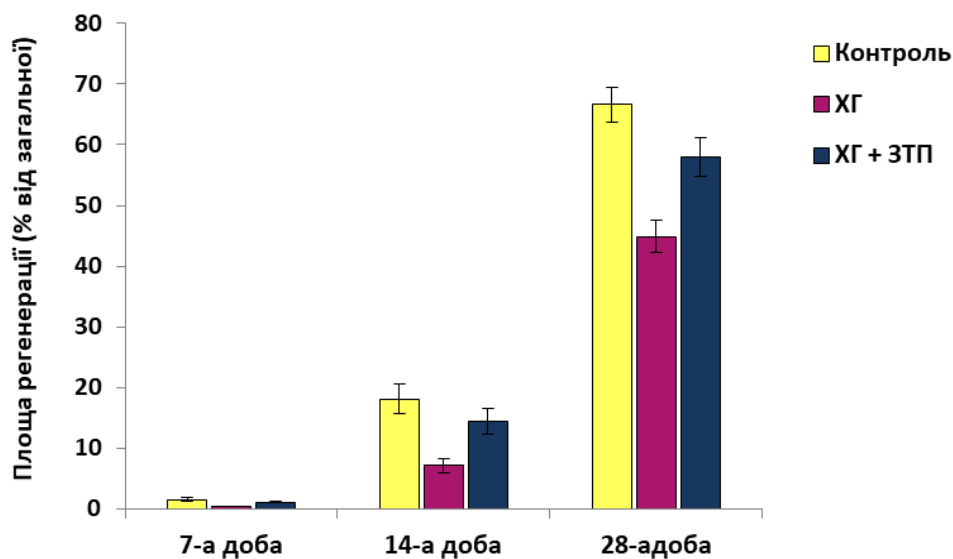


Рисунок 6.1 – Показник площі регенерації у перицентральної зоні дефекту триголового м'язу литки щурів трьох груп порівняння в різні терміни після нанесення механічної травми.

У роботі Borrione et al. було виявлено, що введення ЗТП у посмугований м'яз після його ушкодження призводить до посиленої експресії MyoD та більш раннього завершення процесу відновлення, якщо порівнювати із контролем [35]. У дослідженні Hammond et al. також було застосовано ЗТП з метою



можливого впливу на перебіг репаративного міогенезу щурів [92]. Дослідники показали, що застосована ЗТП містила високу концентрацію ростових факторів PDGF та IGF-1. Результатом уведення такої плазми у посттравматичний м'язовий дефект було достовірне зростання експресії генів таких транскрипційних факторів, як MyoD та міогенін. Крім цього, гістоморфометричний аналіз показав значне зростання кількості регенеруючих м'язових волокон у посмугованих м'язах після застосування ЗТП.

У контексті вказаних вище досліджень також цікаво відмітити результати, повідомлені у роботі Гайович В.В. [1]. Було показано, що застосування ЗТП після невротомії сідничного нерву в щурів призводить до значущого зростання кількості нервових волокон, а також до збільшення вмісту зв'язаних амінокислот у скелетних м'язах нижньої кінцівки.

Результати проведеного нами мікроскопічного аналізу також показали, що вираженість (ступінь лейкоцитарної інфільтрації, наявність набряку) та характер (кількість гранулоцитів та агранулоцитів) запалення у тварин групи ХГ+ЗТП достовірно відрізнялися від щурів із ХГ да здебільшого були схожі із контрольною групою. На рисунках 6.2 та 6.3 представлено динаміку показників вмісту клітин лейкоцитарного ряду в перицентральної зоні м'язового дефекту щурів усіх трьох досліджуваних груп.

Структурний аналіз розвитку запалення після уведення ЗТП в ділянку м'язового ушкодження був виконаний низкою дослідницьких колективів. Результати вивчення гістологічних зразків посмугової мускулатури після її травматизації та наступної ін'єкції ЗТП в роботі Quarteiro et al. виявили більш інтенсивну лейкоцитарну інфільтрацію, порівняно з контрольною серією [157]. Borrione et al. продемонстрували, що застосування ЗТП викликає збільшення кількості лейкоцитів у місці травматичного ушкодження скелетного м'яза [35]. При цьому було з'ясовано, що у відповідь на введення ЗТП відбувається зростання кількості саме агранулоцитів – моноцитів та лімфоцитів. Виражене моноцитарно-лімфоцитарне запалення у скелетних м'язах кролів унаслідок введення ЗТП було виявлено і в дослідженні Harris et al. [95].

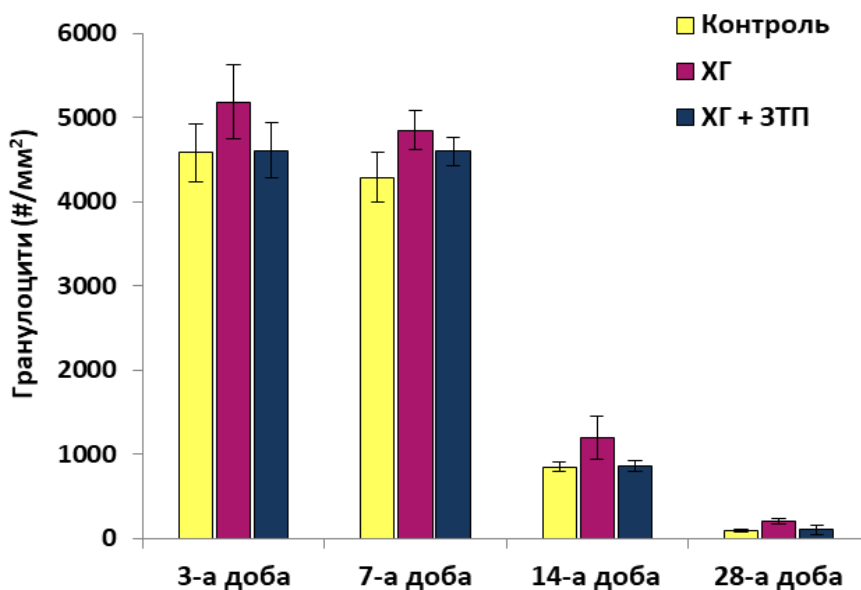


Рисунок 6.2 – Кількість гранулоцитів у перицентральної зоні дефекту триголового м'язу литки щурів трьох груп порівняння в різні терміни після нанесення механічної травми.

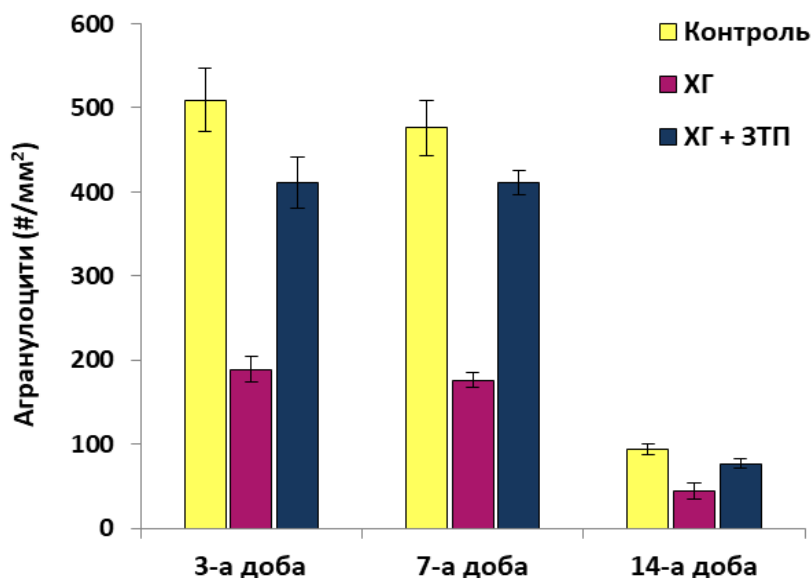


Рисунок 6.3 – Кількість агранулоцитів у перицентральної зоні дефекту триголового м'язу литки щурів трьох груп порівняння в різні терміни після нанесення механічної травми.

Натомість, Tsai et al. продемонстрували, що використання ЗТП призводить до пригнічення запальної відповіді у травмованих скелетних м'язях

щурів [189]. У пошкодженому посмугованому м'язі, що підлягав впливу ЗТП, автори виявили зменшену кількість CD68-позитивних та апоптотичних клітин. Крім того, також у групі тварин із застосуванням ЗТП площа ушкодження м'яза в різні терміни дослідження була значно меншою, ніж у контролі. Разом із цим, Gigante et al. повідомили, що перебіг запалення під час відновлення скелетних м'язів щурів, яким вводили у рану ЗТП, морфологічно не відрізнявся від тварин без використання ЗТП [82].

Застосування ЗТП у щурів із ХГ під час нашого дослідження призвело до активації неоангіогенезу, в результаті чого кількість судин в регенератах м'язів щурів цієї групи була практично такою ж, як і в контрольній групі (рис. 6.4). Посилення неоангіогенезу під час посттравматичного м'язового відновлення після застосування ЗТП було продемонстровано також і колективом Gigante et al. [82]. Крім цього, Borrione et al. виявили зростання щільності та діаметру судин мікроциркуляторного русла в ушкоджених скелетних м'язах щурів після введення в них ЗТП [35].

Важливим аспектом результатів проведеного нами структурного аналізу процесу м'язової регенерації є зменшення фіброзу в регенератах посмугованих м'язів щурів внаслідок використання ЗТП. Так, площа сполучної тканини у щурів групи ХГ+ЗТП наприкінці експерименту була значно меншою, ніж у щурів групи ХГ та, при цьому, практично не відрізнялась від групи контролю (рис. 6.5).

Зменшення кількості активних фібробластів та загальної площі сполучної тканини у регенеруючих посмугованих м'язах щурів після введення ЗТП було виявлено в роботі Gigante et al. [82]. Разом із цим результати імуногістохімічного та мікроскопічного аналізу, виконаного Quarteiro et al., показали значне зменшення площі колагену та кількості колагенових волокон у посттравматичних дефектах скелетних м'язів тварин внаслідок застосування ЗТП [157].

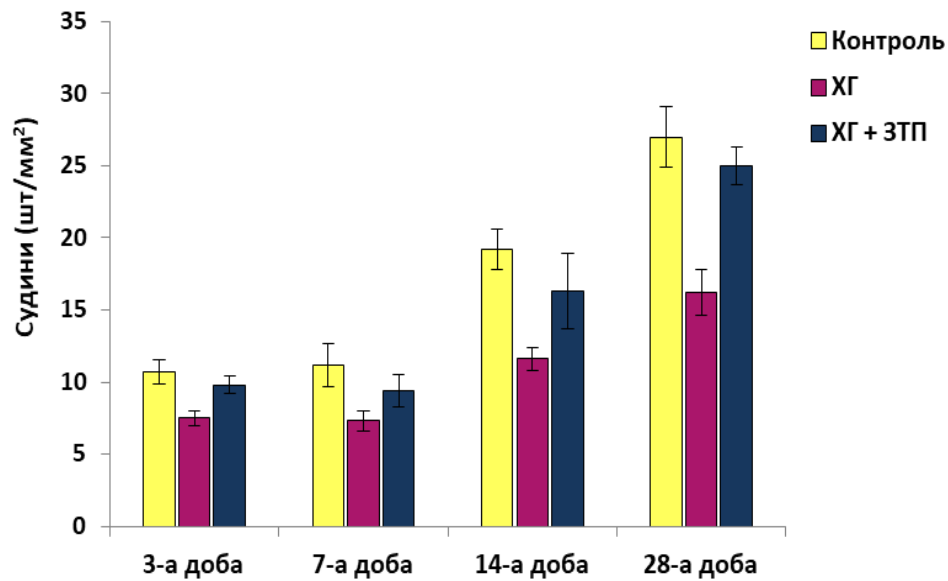


Рисунок 6.4 – Кількість судин у перичентральній зоні дефекту триголового м'язу литки щурів трьох груп порівняння в різні терміни після нанесення механічної травми.

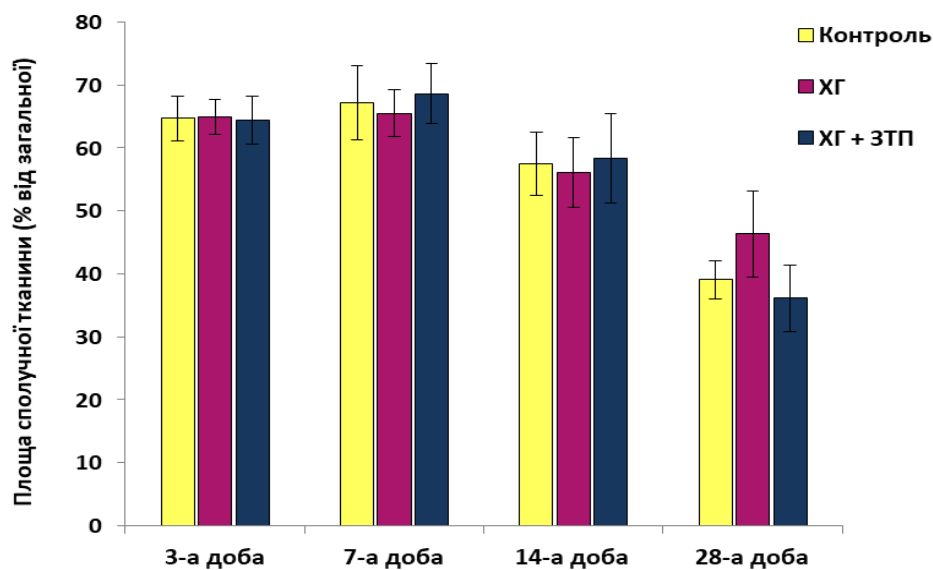


Рисунок 6.5 – Площа сполучної тканини у перичентральній зоні дефекту триголового м'язу литки щурів трьох груп порівняння в різні терміни після нанесення механічної травми.

Нещодавно Hardy et al. був розроблений універсальний підхід для якісної та напів`якісної оцінки структурного аналізу процесу регенерації скелетних

м'язів [93]. Нами була використана ця методика для узагальнення результатів посттравматичного м'язового відновлення у щурів контрольної групи, тварин із ХГ та щурів із ХГ та застосуванням ЗТП. Результати вказаного опрацювання одержаних під час нашого дослідження різномодальних даних наведені у таблиці 6.1.

Таблиця 6.1 – Якісна оцінка результатів структурного аналізу посттравматичного відновлення триголового м'яза литки щурів трьох груп порівняння

Параметр	3-а доба			7-а доба			14-а доба			28-а доба		
	КГ	ХГ	ХГ+ЗТП	КГ	ХГ	ХГ+ЗТП	КГ	ХГ	ХГ+ЗТП	КГ	ХГ	ХГ+ЗТП
Некроз	+++	+++	+++	++	+++	++	–	+	–	–	–	–
Набряк	++	+++	+++	+	+++	+	+	++	+	–	+	–
Запалення	+++	+++	+++	+	+++	++	+	++	+	–	+	–
Ангіогенез	++	+	++	++	+	++	+++	++	++	+++	++	+++
Фіброз	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	+++	++
РМВ	–	–	–	+	–	+	++	+	++	+++	++	+++

Примітка: КГ – контрольна група; ХГ – щури із хронічною гіперглікемією; ХГ+ЗТП – тварини із хронічною гіперглікемією та застосуванням збагаченої тромбоцитами плазми; РМВ – регенеруюче м'язове волокно.

Результати представлені у відсотках від найбільшого значення серед усіх груп.

(–) не виявлено, або менше за 10 %; (+) від 10% до 30 %; (++) від 30% до 60 %; (+++) понад 60 %.

Таким чином, наше морфологічне дослідження є першим щодо аналізу впливу експериментальної ХГ на процес відновлення скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми. Крім цього, нами також уперше проведено вивчення ефективності ЗТП у якості коректора відновного міогістогенезу на фоні впливу на організм ХГ. Одержані результати показали, що стрептозотонин-індукована ХГ чинить негативний вплив на процес посттравматичної регенерації посмугованих м'язів щурів, сприяючи, посиленому розвитку сполучної тканини на фоні пригнічення формування нових м'язових волокон. Також встановлено, що застосування ЗТП має

достовірний позитивний ефект на м'язове відновлення в умовах ХГ, що дозволяє рекомендувати використання цього засобу для посилення процесів регенерації скелетної мускулатури в осіб із надмірним вмістом глюкози крові.

Поряд із цим наше дослідження має низку важливих обмежень, що мають бути взяті до уваги. Нами не були застосовані методи імуногістохімії, що дозволили б значно краще оцінити картину неоангіогенезу, а також клітинний склад регенеруючих м'язів. Не були застосовані молекулярно-генетичні методи, зокрема полімеразна ланцюгова реакції зі зворотною транскрипцією, для оцінки впливу ХГ і ЗТП на експресію м'язових факторів транскрипції. Крім цього, не був виконаний аналіз динамічних та силових показників м'язів щурів груп порівняння, що не дозволило зробити висновок про ступінь функціонального відновлення.

## ВИСНОВКИ

У представленій дисертаційній роботі наведене теоретичне узагальнення та рішення наукового завдання, що полягає у визначенні морфологічних особливостей посттравматичного відновлення посмугованих м'язів щурів за умов дії на організм хронічної гіперглікемії. Також досліджена можливість корекції регенераторного процесу скелетних м'язів в умовах впливу хронічної гіперглікемії за допомогою збагаченої тромбоцитами плазми крові.

1. Морфологічний аналіз інтактного триголового м'яза литки щурів без хронічної гіперглікемії показав, що його будова та хімічний склад цілком відповідає класичній організації скелетного м'яза. Основною структурно-функціональною частиною дослідженого органу є м'язове волокно, що оточене ззовні необхідними структурними компонентами позаклітинного матриксу та містить всередині специфічний для міосимпласту набір внутрішньоклітинних органел.

2. Встановлено, що у щурів без хронічної гіперглікемії посттравматичне відновлення триголового м'яза литки завершується формуванням сполучнотканинно-м'язового регенерату. Протягом відновного міогістогенезу відбувається збільшення кількості регенеруючих м'язових волокон (до  $(512,3 \pm 38,7)$  шт/мм<sup>2</sup>), площі регенерації (до  $(66,6 \pm 2,8)$  %) та новоутворених судин (до  $(27,0 \pm 2,1)$  шт/поле зору). Сполучна тканина найбільшу площу м'яза займає на 14-у добу після травмування (до  $(57,6 \pm 5,0)$  %), поступово зменшуючись до 28-ї доби (до  $(39,1 \pm 3,0)$  %). Ознаки запальної інфільтрації в посттравматичних дефектах триголового м'яза литки щурів без метаболічних розладів не виявлялись лише на 28-у добу після нанесення травми.

3. Виявлено, що експериментальна хронічна гіперглікемія чинить негативний вплив на процес посттравматичного відновлення триголового м'яза литки щурів. Структурними проявами цього виступають зменшення кількості новоутворених м'язових волокон (на 26,8 %;  $p < 0,001$ ), недосконалість їх

внутрішньоклітинної організації, зменшення загальної площі регенерації (на 21,7 %;  $p < 0,001$ ), наявність значної кількості пошкоджених м'язових волокон на 28-у добу після нанесення травми (до  $(150,1 \pm 14,0)$  шт/мм<sup>2</sup>;  $p < 0,001$ ), зменшення інтенсивності неоангіогенезу (на 40,0 %;  $p < 0,001$ ), посилений розвиток сполучної тканини (на 7,3 %;  $p = 0,006$ ) та стійка персистенція клітин лейкоцитарного ряду з переважанням гранулоцитів на фоні дефіциту агранулоцитів.

4. Результати аналізу вмісту різних хімічних елементів у триголовому м'язі литки щурів без хронічної гіперглікемії після нанесення механічної травми показали, що впродовж усього терміну дослідження концентрація кальцію, магнію, заліза, цинку та міді значуще не відрізнялась від інтактного м'яза ( $p > 0,05$ ). При цьому, у відповідь на ушкодження спостерігалось зростання вмісту калію (на 9,9 %;  $p = 0,031$ ) та натрію (на 17,2 %;  $p = 0,028$ ).

5. У роботі вперше проведено дослідження концентрації різних мікро- та макроелементів у травмованих скелетних м'язах тварин із хронічною гіперглікемією. Було виявлено, що за умов впливу хронічної гіперглікемії, у місцях посттравматичного відновлення триголового м'яза литки щурів спостерігається збільшення вмісту натрію (на 17,3 %;  $p = 0,031$ ) і магнію (на 28,2 %;  $p = 0,015$ ), а також зниження концентрації кальцію (на 13,2 %;  $p = 0,008$ ), феруму (на 9,7 %;  $p = 0,025$ ), цинку (78,7 %;  $p < 0,001$ ) та міді (на 19,4 %;  $p = 0,033$ ).

6. Ведення збагаченої тромбоцитами плазми у місце посттравматичного дефекту триголового м'яза литки тварин із хронічною гіперглікемією сприяє більш ефективному процесу регенерації, зміщуючи його від формування сполучнотканинного рубця в бік утворення повноцінного м'язового органу. Було встановлено, що застосування збагаченої тромбоцитами плазми після механічної травми скелетного м'яза щурів із експериментальною хронічною гіперглікемією призводить до зростання площі регенерації (на 13,1 %;  $p < 0,001$ ), посилення неоангіогенезу (на 54,3 %;  $p < 0,001$ ), зменшення ступеню фіброзу (на 8,3 %;  $p = 0,001$ ), а також практичній нормалізації перебігу



запального процесу. Суттєвого впливу збагаченої тромбоцитами плазми на характер накопичення хімічних елементів у триголовому м'язі литки щурів із хронічною гіперглікемією виявлено не було.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Гайович, В. В. (2014). Вплив збагаченої тромбоцитами плазми на відновлення нерва і м'яза після їх травматичного ушкодження. Український нейрохірургічний журнал, 3, 79-83.
2. Гончар М. Г., Дельцова, О. І., & Чурпій, І. К. (2001). Мікроциркуляторні зміни в м'язах нижніх кінцівок в процесі регіонарного лікування діабетичних ангіопатій. Вісник наукових досліджень, 1, 44-46.
3. Левицкий, В. А., & Атаманчук, О. В. (2014). Состояние мышц языка и его периферического нервно-мышечного аппарата при экспериментальном стрептозотоциновом сахарном диабете. Журнал Гродненского государственного медицинского университета, 2, 70-73.
4. Ртайл, Р.А. & Ткач, Г.Ф. (2018). Вивчення особливостей макро- та мікроелементного складу скелетних м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії. Актуальні проблеми сучасної медицини, 3(63), 185-189.
5. Ртайл, Р.А. & Ткач, Г.Ф. (2020). Хіміко-аналітична характеристика різних фаз регенерації посмугованих м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії. Український журнал з проблем медицини праці, 16(1), 70-76.
6. Ртайл, Р.А. (2020). Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 1(23), 79-84.
7. Ртайл, Р.А. Вивчення особливостей регенерації скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми // II Науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», м. Харків, 21 листопада 2019 р. – С. 306.
8. Ртайл, Р.А., & Ткач Г.Ф. Макро- та мікроелементний аналіз скелетних м'язів щурів за умов їх посттравматичної регенерації // Збірник тез доповідей Науково-практичної конференція з міжнародною участю

- “Бабенківські читання”, присвяченої пам’яті академіка Г. О. Бабенка, м. Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2019 р. – С. 33.
9. Ртайл, Р.А., Максимова, О.С., & Ткач, Г.Ф. (2020). Ультраструктурний аналіз регенерації скелетних м’язів щурів за умов хронічної гіперглікемії та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. Вісник проблем біології і медицини, 3(157), 524-529.
  10. Ртайл, Р.А., Максимова, О.С., Берчанов, О.М. & Ткач, Г.Ф. (2019). Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м’язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2(154), 312-316.
  11. Ртайл, Р.А., Муравський, Д.В. & Ткач, Г.Ф. Мікроскопічна характеристика особливостей ранніх стадій регенерації скелетних м’язів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії // Збірник науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології», м. Вінниця, 21-22 вересня 2017 р. – С. 142-144.
  12. Ртайл, Р.А., Ткач, Г.Ф., Дубовик, Є.І. & Максимова, О.С. Моніторинг хімічного складу посмугованих м’язів за умов хронічної гіперглікемії організму // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання», м. Івано-Франківськ, 26-27 жовтня 2017 р. – С. 86.
  13. Aarecco, N., Clarke, C. J., Jones, F. K., Simpson, D. M., Mason, D., Beynon, R. J., & Pisconti, A. (2016). Elastase levels and activity are increased in dystrophic muscle and impair myoblast cell survival, proliferation and differentiation. *Scientific reports*, 6, 24708.
  14. Abou-Khalil, R., Mounier, R., & Chazaud, B. (2010). Regulation of myogenic stem cell behavior by vessel cells: the "ménage à trois" of satellite cells, periendothelial cells and endothelial cells. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 9(5), 892–896.
  15. Agarwal, M., Sharma, A., Kumar, P., Kumar, A., Bharadwaj, A., Saini, M., & Mathew, S. (2020). Myosin heavy chain-embryonic regulates skeletal muscle

- differentiation during mammalian development. *Development*, 147(7), dev184507.
16. Aguiari, P., Leo, S., Zavan, B., Vindigni, V., Rimessi, A., Bianchi, K., Franzin, C. ... & Rizzuto, R. (2008). High glucose induces adipogenic differentiation of muscle-derived stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(4), 1226–1231.
  17. Ahmad, K., Choi, I., & Lee, Y. H. (2020). Implications of Skeletal Muscle Extracellular Matrix Remodeling in Metabolic Disorders: Diabetes Perspective. *International journal of molecular sciences*, 21(11), 3845.
  18. Ahmad, K., Shaikh, S., Ahmad, S. S., Lee, E. J., & Choi, I. (2020). Cross-Talk Between Extracellular Matrix and Skeletal Muscle: Implications for Myopathies. *Frontiers in pharmacology*, 11, 142.
  19. Ali, M. Y., Paul, S., Tanvir, E. M., Hossen, M. S., Rumpa, N. N., Saha, M., Bhoumik, N. C., ... & Khalil, M. I. (2017). Antihyperglycemic, Antidiabetic, and Antioxidant Effects of *Garcinia pedunculata* in Rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2017, 2979760.
  20. Aragno, M., Mastrocola, R., Catalano, M. G., Brignardello, E., Danni, O., & Boccuzzi, G. (2004). Oxidative stress impairs skeletal muscle repair in diabetic rats. *Diabetes*, 53(4), 1082–1088.
  21. Avolio, E., Alvino, V. V., Ghorbel, M. T., & Campagnolo, P. (2017). Perivascular cells and tissue engineering: Current applications and untapped potential. *Pharmacology & therapeutics*, 171, 83–92.
  22. Banerjee, S., Cui, H., & Xie, N. (2013). miR-125a-5p regulates differential activation of macrophages and inflammation. *The Journal of Biological Chemistry*, 288(49), 35428–35463.
  23. Banerjee, S., Xie, N., Cui, H., Tan, Z., Yang, S., Icyuzmicro, M., ... & Liu, G. (2013). RNA let-7c regulates macrophage polarization. *J. Immunol.*, 190(12), 6542-6549.
  24. Barrière, D. A., Noll, C., Roussy, G., Lizotte, F., Kessai, A., Kirby, K., Belleville, K., ... & Sarret, P. (2018). Combination of high-fat/high-fructose diet

- and low-dose streptozotocin to model long-term type-2 diabetes complications. *Scientific reports*, 8(1), 424.
25. Baum, O., & Bigler, M. (2016). Pericapillary basement membrane thickening in human skeletal muscles. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 311(3), H654–H666.
  26. Bei, Y., Wang, F., Yang, C., & Xiao, J. (2015). Telocytes in regenerative medicine. *Journal of cellular and molecular medicine*, 19(7), 1441–1454.
  27. Belizario, J. E., Fontes-Oliveira, C. C., Borges, J. P., Kashiabara, J. A., & Vannier, E. (2016). Skeletal muscle wasting and renewal: a pivotal role of myokine IL-6. *Springerplus*, 5, 619.
  28. Berry, S. E. (2015). Concise Review: Mesoangioblast and Mesenchymal Stem Cell Therapy for Muscular Dystrophy: Progress, Challenges, and Future Directions. *Stem Cells Transl. Med.*, 4(1), 91-98.
  29. Biferali, B., Proietti, D., Mozzetta, C., & Madaro, L. (2019). Fibro-Adipogenic Progenitors Cross-Talk in Skeletal Muscle: The Social Network. *Frontiers in physiology*, 10, 1074.
  30. Birbrair, A., Zhang, T., Wang, Z. M., Messi, M. L., Enikolopov, G. N., Mintz, A., & Delbono, O. (2013). Role of pericytes in skeletal muscle regeneration and fat accumulation. *Stem cells and development*, 22(16), 2298–2314.
  31. Birbrair, A., Zhang, T., Wang, Z. M., Messi, M. L., Mintz, A., & Delbono, O. (2015). Pericytes at the intersection between tissue regeneration and pathology. *Clinical science (London, England: 1979)*, 128(2), 81–93.
  32. Bojin, F. M., Gavriliuc, O. I., Cristea, M. I., Tanasie, G., Tatu, C. S., Panaitescu, C., & Paunescu, V. (2011). Telocytes within human skeletal muscle stem cell niche. *Journal of cellular and molecular medicine*, 15(10), 2269–2272.
  33. Bonfanti, C., Rossi, G., Tedesco, F. S., Giannotta, M., Benedetti, S., Tonlorenzi, R., & Messina, G. (2015). PW1/Peg3 expression regulates key properties that determine mesoangioblast stem cell competence. *Nat. Commun.*, 6, 6364.
  34. Bordon Y. (2013). Macrophages: metabolic master prompts a change of tack. *Nature Reviews Immunology*, 13, 706.

35. Borrione, P., Grasso, L., Chierito, E., Geuna, S., Racca, S., Abbadessa, G., Ronchi, G., ... & Pigozzi, F. (2014). Experimental model for the study of the effects of platelet-rich plasma on the early phases of muscle healing. *Blood transfusion*, 12 Suppl 1(Suppl 1), s221–s228.
36. Buckley, A. F., & Bossen, E. H. (2013). Skeletal muscle microvasculature in the diagnosis of neuromuscular disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 72(10), 906–918.
37. Budai, Z., Balogh, L., & Sarang, Z. (2018). Altered Gene Expression of Muscle Satellite Cells Contributes to Age-related Sarcopenia in Mice. *Curr. Aging. Sci.* 11(3), 165-172.
38. Cao, R. N., Tang, L., Xia, Z. Y., & Xia, R. (2019). Endothelial glycocalyx as a potential therapeutic target in organ injuries. *Chinese medical journal*, 132(8), 963–975.
39. Ceafalan, L. C., Fertig, T. E., Popescu, A. C., Popescu, B. O., Hinescu, M. E., & Gherghiceanu, M. (2018). Skeletal muscle regeneration involves macrophage-myoblast bonding. *Cell adhesion & migration*, 12(3), 228–235.
40. Ceafalan, L. C., Popescu, B. O., Hinescu, E. M. (2014). Cellular Players in Skeletal Muscle Regeneration. *BioMed Research International*, 2014, 957014, 21.
41. Cerri, D. G., Rodrigues, L. C., Stowell, S. R., Araujo, D. D., Coelho, M. C., Oliveira, S. R., ... & Costa, M. R. (2008). Degeneration of dystrophic or injured skeletal muscles induces high expression of Galectin-1. *Glycobiology*, 18(11), 842-850.
42. Chazaud, B., Brigitte, M., & Yacoub-Youssef H. (2009). Dual and beneficial roles of macrophages during skeletal muscle regeneration. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 37(1), 18-22.
43. Chellini, F., Tani, A., Vallone, L., Nosi, D., Pavan, P., Bambi, F., ... & Sassoli, C. (2018). Platelet-Rich Plasma Prevents In Vitro Transforming Growth Factor- $\beta$ 1-Induced Fibroblast to Myofibroblast Transition: Involvement of Vascular

- Endothelial Growth Factor (VEGF)-A/VEGF Receptor-1-Mediated Signaling. *Cells*, 7(9), 142.
44. Chellini, F., Tani, A., Zecchi-Orlandini, S., & Sassoli, C. (2019). Influence of Platelet-Rich and Platelet-Poor Plasma on Endogenous Mechanisms of Skeletal Muscle Repair/Regeneration. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 683.
  45. Chen, C. W., Corselli, M., Péault, B., & Huard, J. (2012). Human blood-vessel-derived stem cells for tissue repair and regeneration. *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2012, 597439.
  46. Chen, Z., Lu, H., Jin, X., Feng, W., Yang, X., Qi, Z. (2020). Skeletal muscle-derived cells repair peripheral nerve defects in mice. *Neural. Regen. Res.*, 15(1), 152-161.
  47. Cheng, R., & Ma, J. X. (2015). Angiogenesis in diabetes and obesity. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 16(1), 67–75.
  48. Cholok, D., Lee, E., Lisiecki, J., Agarwal, S., Loder, S., Ranganathan, K., & Levi, B. (2017). Traumatic muscle fibrosis: From pathway to prevention. *J. Trauma Acute Care Surg.*, 82(1), 174-184.
  49. Contreras-Muñoz, P., Torrella, J. R., Serres, X., Rizo-Roca, D., De la Varga, M., Viscor, G., Martínez-Ibáñez, V., ... & Marotta, M. (2017). Postinjury Exercise and Platelet-Rich Plasma Therapies Improve Skeletal Muscle Healing in Rats But Are Not Synergistic When Combined. *The American journal of sports medicine*, 45(9), 2131–2141.
  50. Cottle, B. J., Lewis, F. S., Shone, V., & Ellison-Hughes, G. M. (2017). Skeletal muscle-derived interstitial progenitor cells (PICs) display stem cell properties, being clonogenic, self-renewing, and multi-potent in vitro and in vivo. *Stem Cell Res. Ther.*, 8, 158.
  51. Csapo, R., Folie, R., Hosp, S., Hasler, M., & Nachbauer, W. (2017). Why do we suffer more ACL injuries in the cold? A pilot study into potential risk factors. *Physical therapy in sport : official journal of the Association of Chartered Physiotherapists in Sports Medicine*, 23, 14–21.

52. Csapo, R., Gumpenberger, M., & Wessner, B. (2020). Skeletal Muscle Extracellular Matrix - What Do We Know About Its Composition, Regulation, and Physiological Roles? A Narrative Review. *Frontiers in physiology*, 11, 253.
53. Cui, C., Driscoll, R. K., Piao, Yu., Chia, C. W., Gorospe, M., & Ferrucci, L. (2019). Skewed macrophage polarization in aging skeletal muscle. *Aging Cell*, 18(6), e13032.
54. Dellavalle, A., Maroli, G., Covarello, D., Azzoni, E., Innocenzi, A., Perani, L., ... & Cossu, G. (2011). Pericytes resident in postnatal skeletal muscle differentiate into muscle fibres and generate satellite cells. *Nature communications*, 2, 499.
55. Deng, B., Wehling-Henricks, M., Villalta, S. A., Wang, Y., & Tidball, J. G. (2012). IL-10 triggers changes in macrophage phenotype that promote muscle growth and regeneration. *Journal of Immunology*, 189(7), 3669-3680.
56. Dey, D., Goldhamer, D. J., & Yu, P. B. (2015). Contributions of muscle-resident progenitor cells to homeostasis and disease. *Current molecular biology reports*, 1(4), 175–188.
57. Dhurat, R., & Sukesh, M. (2014). Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*, 7(4), 189–197.
58. Díaz-Flores, L., Gutiérrez, R., García, M. P., Sáez, F. J., Díaz-Flores, L., Jr, Valladares, F., & Madrid, J. F. (2014). CD34+ stromal cells/fibroblasts/fibrocytes/telocytes as a tissue reserve and a principal source of mesenchymal cells. Location, morphology, function and role in pathology. *Histology and histopathology*, 29(7), 831–870.
59. Dort, J., Fabre, P., Molina, T., & Dumont. N. A. (2019). Macrophages Are Key Regulators of Stem Cells during Skeletal Muscle Regeneration and Diseases. *Stem Cells Int.*, 2019, 4761427.
60. D'Souza, D. M., Al-Sajee, D., & Hawke, T. J. (2013). Diabetic myopathy: impact of diabetes mellitus on skeletal muscle progenitor cells. *Frontiers in physiology*, 4, 379.



61. D'Souza, D. M., Zhou, S., Rebalka, I. A., MacDonald, B., Moradi, J., Krause, M. P., ... & Hawke, T. J. (2016). Decreased Satellite Cell Number and Function in Humans and Mice With Type 1 Diabetes Is the Result of Altered Notch Signaling. *Diabetes*, 65(10), 3053–3061.
62. Dubey, P., Thakur, V., & Chattopadhyay, M. (2020). Role of Minerals and Trace Elements in Diabetes and Insulin Resistance. *Nutrients*, 12(6), 1864.
63. Dumont, N. A., Bentzinger, C. F., Sincennes, M. C., & Rudnicki, M. A. (2015). Satellite Cells and Skeletal Muscle Regeneration. *Comprehensive Physiology*, 5(3), 1027–1059.
64. Dumont, N., Bouchard, P., & Frenette, J. (2008). Neutrophil-induced skeletal muscle damage: a calculated and controlled response following hindlimb unloading and reloading. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 295(6), R1831-1838.
65. Etienne, J., Liu, C., Skinner, C., Conboy, M. & Conboy, I. (2020). Skeletal muscle as an experimental model of choice to study tissue aging and rejuvenation. *Skeletal Muscle*, 10, 4.
66. Evano, B., & Tajbakhsh, S. (2018). Skeletal muscle stem cells in comfort and stress. *NPJ Regenerative medicine*, 3, 24.
67. Evans, P., McMillin, S., Weyrauch, L., & Witczak, C. (2019). Regulation of Skeletal Muscle Glucose Transport and Glucose Metabolism by Exercise Training. *Nutrients*, 11(10), 2432.
68. Farup, J., Madaro, L., Puri, P., & Mikkelsen U. (2015). Interactions between muscle stem cells, mesenchymal-derived cells and immune cells in muscle homeostasis, regeneration and disease. *Cell Death Dis.*, 6(7), e1830.
69. Ferrari, G., Angelis, G., & Coletta, M. (1998). Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science*, 279(5356), 1528-1530.
70. Florina, A., Lamberta, C., Sanchez, C., Zappia, J., Durieux, N., Martins, A., ... & Henrotin, Y. (2020). The secretome of skeletal muscle cells: A systematic review. *Osteoarthritis and Cartilage Open*, 2(1), 100019.

71. Forcina, L., Cosentino, M., & Musarò, A. (2020). Mechanisms Regulating Muscle Regeneration: Insights into the Interrelated and Time-Dependent Phases of Tissue Healing. *Cells*, 9(5), 1297.
72. Forcina, L., Miano, C., Pelosi, L., & Musarò, A. (2019). An Overview about the Biology of Skeletal Muscle Satellite Cells. *Curr. Genomics.*, 20(1), 24-37.
73. Forouhi, N. G., & Wareham, N. J. (2014). Epidemiology of diabetes. *Medicine (Abingdon, England : UK ed.)*, 42(12), 698–702.
74. Frey, S. P., Jansen, H., Raschke, M. J., Meffert, R. H., & Ochman, S. (2012). VEGF improves skeletal muscle regeneration after acute trauma and reconstruction of the limb in a rabbit model. *Clinical orthopaedics and related research*, 470(12), 3607–3614.
75. Fu, X., Xiao, J., Wei, Y., Li, S., Liu, Y., Yin, J., ... & Hu, P. (2015). Combination of inflammation-related cytokines promotes long-term muscle stem cell expansion. *Cell research*, 25(6), 655–673.
76. Fu, X., Zhu, M., Zhang, S., Foretz, M., Viollet, B., & Du, M. (2016). Obesity Impairs Skeletal Muscle Regeneration Through Inhibition of AMPK. *Diabetes*, 65(1), 188–200.
77. Fujimaki S., Hidaka, R., Asashima, M., Takemasa, T., & Kuwabara, T. (2014). Wnt Protein-mediated Satellite Cell Conversion in Adult and Aged Mice Following Voluntary Wheel Running. *J. Biol. Chem.*, 289(11), 7399-7412
78. Fujimaki, S., & Kuwabara, T. (2017). Diabetes-Induced Dysfunction of Mitochondria and Stem Cells in Skeletal Muscle and the Nervous System. *International journal of molecular sciences*, 18(10), 2147.
79. Fujimaki, S., Wakabayashi, T., Asashima, M., Takemasa, T., & Kuwabara, T. (2016). Treadmill running induces satellite cell activation in diabetic mice. *Biochemistry and biophysics reports*, 8, 6–13.
80. Ge, H., Sun, X., Liu, J., & Zhang, C. (2018). The Status of Musculoskeletal Disorders and Its Influence on the Working Ability of Oil Workers in Xinjiang, China. *International journal of environmental research and public health*, 15(5), 842.

81. George, R., Biressi, S., Beres, B., Rogers, E., Mulia, A., Allen, R., & Wilson-Rawls, J. (2013). Numb-deficient satellite cells have regeneration and proliferation defects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(46), 18549-18554.
82. Gigante, A., Del Torto, M., Manzotti, S., Cianforlini, M., Busilacchi, A., Davidson, P. A., Greco, F., & Mattioli-Belmonte, M. (2012). Platelet rich fibrin matrix effects on skeletal muscle lesions: an experimental study. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 26(3), 475–484.
83. Gillies, A. R., Chapman, M. A., Bushong, E. A., Deerinck, T. J., Ellisman, M. H., & Lieber, R. L. (2017). High resolution three-dimensional reconstruction of fibrotic skeletal muscle extracellular matrix. *The Journal of physiology*, 595(4), 1159–1171.
84. Giordani, L., Parisi, A., Grand, F. (2017). Satellite Cell Self-Renewal. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 126, 177-203.
85. Glovaci, D., Fan, W., & Wong, N. D. (2019). Epidemiology of Diabetes Mellitus and Cardiovascular Disease. *Current cardiology reports*, 21(4), 21.
86. Goel, A., Rieder, M., Arnold, H., Radice, G., & Krauss, R. (2017). Niche Cadherins Control the Quiescence-to-Activation Transition in Muscle Stem Cells. *Cell Rep.*, 21(8), 2236-2250.
87. Grassi, A., Quaglia, A., Canata G. L., & Zaffagnini, S. (2016). An update on the grading of muscle injuries: a narrative review from clinical to comprehensive systems. *Joints*, 4(1), 39-46.
88. Green, C. J., Pedersen, M., Pedersen, B. K., & Scheele, C. (2011). Elevated NF- $\kappa$ B activation is conserved in human myocytes cultured from obese type 2 diabetic patients and attenuated by AMP-activated protein kinase. *Diabetes*, 60(11), 2810–2819.
89. Groen, B. B., Hamer, H. M., Snijders, T., van Kranenburg, J., Frijns, D., Vink, H., & van Loon, L. J. (2014). Skeletal muscle capillary density and microvascular function are compromised with aging and type 2 diabetes. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 116(8), 998–1005.

90. Günther, S., Kim, J., Kostin, S., Lepper, C., Fan, C., & Braun, T. (2013). Myf5-Positive Satellite Cells Contribute to Pax7-Dependent Long-Term Maintenance of Adult Muscle Stem Cells. *Cell. Stem. Cell.*, 13(5), 590-601.
91. Guzzoni, V., Ribeiro, M., Lopes, G. N., de Cássia Marqueti, R., de Andrade, R. V., Selistre-de-Araujo, H. S., & Durigan, J. (2018). Effect of Resistance Training on Extracellular Matrix Adaptations in Skeletal Muscle of Older Rats. *Frontiers in physiology*, 9, 374.
92. Hammond, J. W., Hinton, R. Y., Curl, L. A., Muriel, J. M., & Lovering, R. M. (2009). Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. *The American journal of sports medicine*, 37(6), 1135–1142.
93. Hardy, D., Besnard, A., Latil, M., Jouvion, G., Briand, D., Thépenier, ... & Chrétien, F. (2016). Comparative Study of Injury Models for Studying Muscle Regeneration in Mice. *PloS one*, 11(1), e0147198.
94. Harrell, C. R., Simovic Markovic, B., Fellabaum, C., Arsenijevic, A., Djonov, V., & Volarevic, V. (2018). Molecular mechanisms underlying therapeutic potential of pericytes. *Journal of biomedical science*, 25(1), 21
95. Harris, N. L., Huffer, W. E., von Stade, E., Larson, A. I., Phinney, S., & Purnell, M. L. (2012). The effect of platelet-rich plasma on normal soft tissues in the rabbit. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*, 94(9), 786–793.
96. Hernández-Hernández, J., García-González, E., Brun, C., & Rudnicki, M. (2017). The Myogenic Regulatory Factors, Determinants of Muscle Development, Cell Identity and Regeneration. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 72, 10-18.
97. Hirase, T., Ruff, E., Surani, S., & Ratnani, I. (2018). Topical application of platelet-rich plasma for diabetic foot ulcers: A systematic review. *World journal of diabetes*, 9(10), 172–179.
98. Hu, Z., Qu, S., Zhang, J., Cao, X., Wang, P., Huang, S., Shi, F., ... & Zhu, J. (2019). Efficacy and Safety of Platelet-Rich Plasma for Patients with Diabetic

- Ulcers: A Systematic Review and Meta-analysis. *Advances in wound care*, 8(7), 298–308.
99. Hu, Z., Wang, H., Lee, I. H., Modi, S., Wang, X., Du, J., & Mitch, W. E. (2010). PTEN inhibition improves muscle regeneration in mice fed a high-fat diet. *Diabetes*, 59(6), 1312–1320.
  100. Ismaeel A., Kim, J., Kirk, J., Smith, R., Bohannon, W., & Koutakis, P. (2019). Role of Transforming Growth Factor- $\beta$  in Skeletal Muscle Fibrosis: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 20(10), 2446.
  101. Jensen, S., Bechshøft, C. J., Heisterberg, M. F., Schjerling, P., Andersen, J. A., Kjaer, M., & Mackey, A. M. (2020). Macrophage Subpopulations and the Acute Inflammatory Response of Elderly Human Skeletal Muscle to Physiological Resistance Exercise. *Front. Physiol.*, 11, 811.
  102. Jeong, J., Conboy, M. J., & Conboy, I. M. (2013). Pharmacological inhibition of myostatin/TGF- $\beta$  receptor/pSmad3 signaling rescues muscle regenerative responses in mouse model of type 1 diabetes. *Acta pharmacologica Sinica*, 34(8), 1052–1060.
  103. Jinno, N., Nagata, M., & Takahashi, T. (2014). Marginal zinc deficiency negatively affects recovery from muscle injury in mice. *Biological trace element research*, 158(1), 65–72.
  104. Juhas, M., Abutaleb, N., Wang, J. T., Ye, J., Shaikh, Z., Sriworarat, C., & Bursac, N. (2018). Incorporation of macrophages into engineered skeletal muscle enables enhanced muscle regeneration. *Nat. Biomed. Eng.*, 2(12), 942–954.
  105. Kelc, R., Trapecar, M., Gradisnik, L., Rupnik, M. S., & Vogrin, M. (2015). Platelet-rich plasma, especially when combined with a TGF- $\beta$  inhibitor promotes proliferation, viability and myogenic differentiation of myoblasts in vitro. *PloS one*, 10(2), e0117302.
  106. Kharroubi, A. T., & Darwish, H. M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*, 6(6), 850–867.

107. Kim, J., Shon, Yu., Lim, J., Yoo, J., Shin, H., & Kyun, E. (2013). Park MYOD mediates skeletal myogenic differentiation of human amniotic fluid stem cells and regeneration of muscle injury. *Stem Cell. Res. Ther.*, 4(6), 147.
108. Klimczak, A., Kozłowska, U., & Kurpisz, M. (2018). Muscle Stem/Progenitor Cells and Mesenchymal Stem Cells of Bone Marrow Origin for Skeletal Muscle Regeneration in Muscular Dystrophies. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, 66(5), 341-354.
109. Kosmac, K., Peck, B., Walton, R., Mula, J., Kern, P., Bamman, M., ... & Peterson, C. (2018). Immunohistochemical Identification of Human Skeletal Muscle Macrophages. *Bio Protoc.*, 8(12), e2883.
110. Krause, M. P., Al-Sajee, D., D'Souza, D. M., Rebalka, I. A., Moradi, J., Riddell, M. C., & Hawke, T. J. (2013). Impaired macrophage and satellite cell infiltration occurs in a muscle-specific fashion following injury in diabetic skeletal muscle. *PloS one*, 8(8), e70971.
111. Krishnan, V., & Yaden, B. C. (2013). Macrofinancing efficient remodeling of damaged muscle tissue. *Cell Metabolism*, 18(2), 149-151.
112. Kuang, S., Kuroda, K., Grand, F., & Rudnicki, M. A. (2007). Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell*, 129(5), 999-1010.
113. Latroche, C., Weiss-Gayet, M., Muller, L., Gitiaux, C., Leblanc, P., Liot, S., ... & Chazaud, B. (2017). Coupling between Myogenesis and Angiogenesis during Skeletal Muscle Regeneration Is Stimulated by Restorative Macrophages. *Stem cell reports*, 9(6), 2018–2033.
114. Laumonier, T., & Menetrey, J. (2016). Muscle injuries and strategies for improving their repair. *J. Exp. Orthop.*, 3, 15.
115. Lawrence, T. & Natoli, G. (2011). Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity. *Nature Reviews Immunology*, 11(11), 750-761.
116. Lewis, F. C., Cottle, B. J., Shone, V., Marazzi, G., Sassoon, D., Tseng, C., Dankers, ... & Ellison-Hughes, G. M. (2017). Transplantation of Allogeneic

- PW1pos/Pax7neg Interstitial Cells Enhance Endogenous Repair of Injured Porcine Skeletal Muscle. *JACC. Basic to translational science*, 2(6), 717–736.
117. Li, A. K., & Nowrouzi-Kia, B. (2017). Impact of Diabetes Mellitus on Occupational Health Outcomes in Canada. *The international journal of occupational and environmental medicine*, 8(2), 96–108.
118. Li, C., Xu, M., Wang, K., Adler, A., Vella, A., & Zhou, B. (2018). Macrophage polarization and Metainflammation. *Transl. Res.*, 191, 29-44.
119. Li, H., Jiang, T., Li, M., Zheng, X., & Zhao, G. (2018). Transcriptional Regulation of Macrophages Polarization by MicroRNAs. *Front. Immunol.*, 9, 1175.
120. Li, H., Usas, A., Poddar, M., Chen, C. W., Thompson, S., Ahani, B., ... & Huard, J. (2013). Platelet-rich plasma promotes the proliferation of human muscle derived progenitor cells and maintains their stemness. *PloS one*, 8(6), e64923.
121. Lipina, C., & Hundal, H. S. (2017). Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 8(2), 190–201.
122. Lund, J., Ouwens, D. M., Wettergreen, M., Bakke, S. S., Thoresen, G. H., & Aas, V. (2019). Increased Glycolysis and Higher Lactate Production in Hyperglycemic Myotubes. *Cells*, 8(9), 1101.
123. Ma, R., Wu, P., Shi, Q., Song, D., & Fang, H. (2018). Telocytes promote VEGF expression and alleviate ventilator-induced lung injury in mice. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 50(8), 817–825.
124. Mahdy, M. (2019). Biotoxins in muscle regeneration research. *J. Muscle Res. Cell. Motil.*, 40(3-4), 291-297.
125. Manetti, M., Tani, A., Rosa, I., Chellini, F., Squecco, R., Idrizaj, E., Zecchi-Orlandini, S. & Sassoli, C. (2019). Morphological evidence for telocytes as stromal cells supporting satellite cell activation in eccentric contraction-induced skeletal muscle injury. *Scientific reports*, 9(1), 14515.
126. Mariani, E., & Pulsatelli, L. (2020). Platelet Concentrates in Musculoskeletal Medicine. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1328.

127. Marini, M., Manetti, M., Rosa, I., Ibba-Manneschi, L., & Sgambati, E. (2018). Telocytes in human fetal skeletal muscle interstitium during early myogenesis. *Acta histochemica*, 120(5), 397–404.
128. Marinkovic, M., Fuoco, C., Sacco, F., Cerquone Perpetuini, A., Giuliani, G., Micarelli, E. ... & Cesareni, G. (2019). Fibro-adipogenic progenitors of dystrophic mice are insensitive to NOTCH regulation of adipogenesis. *Life science alliance*, 2(3), e201900437.
129. McClung, J. M., Reinardy, J. L., Mueller, S. B., McCord, T. J., Kontos, C. D., Brown, D. A. ... & Green, T. D. (2015). Muscle cell derived angiopoietin-1 contributes to both myogenesis and angiogenesis in the ischemic environment. *Frontiers in physiology*, 6, 161.
130. Melton, D. W., Lei, X., Gelfond, J., & Shireman, P. K. (2016). Dynamic macrophage polarization-specific miRNA patterns reveal increased soluble VEGF receptor 1 by miR-125a-5p inhibition. *Physiol. Genomics.*, 48(5), 345-360.
131. Mendias C. L. (2017). Fibroblasts take the centre stage in human skeletal muscle regeneration. *The Journal of physiology*, 595(15), 5005.
132. Miroshnychenko, O., Chang, W. T., & Dragoo, J. L. (2017). The Use of Platelet-Rich and Platelet-Poor Plasma to Enhance Differentiation of Skeletal Myoblasts: Implications for the Use of Autologous Blood Products for Muscle Regeneration. *The American journal of sports medicine*, 45(4), 945–953.
133. Morales, M. G., Acuña, M. J., Cabrera, D., & Goldschmeding, D. (2017). The pro-fibrotic connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) correlates with the number of necrotic-regenerative foci in dystrophic muscle. *J. Cell Commun. Signal.*, 12(1), 413-421.
134. Motohashi, N., Shimizu-Motohashi, Yu., Roberts, T. R., & Aoki, Yo. (2019). Potential Therapies Using Myogenic Stem Cells Combined with Bio-Engineering Approaches for Treatment of Muscular Dystrophies. *Cells*, 8(9), 1066



135. Mounier, R., Chrétien, F., & Chazaud, B. (2011). Blood vessels and the satellite cell niche. *Current topics in developmental biology*, 96, 121–138.
136. Mounier, R., Theret, M., & Arnold, L. (2013). AMPK $\alpha$ 1 regulates macrophage skewing at the time of resolution of inflammation during skeletal muscle regeneration. *Cell Metabolism*, 18(2), 251-264.
137. Murach, K. A., Fry, C. S., Kirby, T. J., Jackson, J. R., Lee, J. D., White, S. H., ... & Peterson, C. A. (2018). Starring or Supporting Role? Satellite Cells and Skeletal Muscle Fiber Size Regulation. *Physiology (Bethesda, Md.)*, 33(1), 26–38.
138. Musaro, A. (2014). The Basis of Muscle Regeneration. *Advances in Biology*, 2014, 612471.
139. Nguyen, M. H., Cheng, M., & Koh, T. J. (2011). Impaired muscle regeneration in ob/ob and db/db mice. *TheScientificWorldJournal*, 11, 1525–1535.
140. Nitecka-Buchta, A., Walczynska-Dragon, K., Kempa, W. M., & Baron, S. (2019). Platelet-Rich Plasma Intramuscular Injections - Antinociceptive Therapy in Myofascial Pain Within Masseter Muscles in Temporomandibular Disorders Patients: A Pilot Study. *Frontiers in neurology*, 10, 250.
141. Nozaki, M., Li, Y., Zhu, J., Ambrosio, F., Uehara, K., Fu, F. H., & Huard, J. (2008). Improved muscle healing after contusion injury by the inhibitory effect of suramin on myostatin, a negative regulator of muscle growth. *The American journal of sports medicine*, 36(12), 2354–2362.
142. Nwadozi, E., Roudier, E., Rullman, E., Tharmalingam, S., Liu, H. Y., Gustafsson, T., & Haas, T. L. (2016). Endothelial FoxO proteins impair insulin sensitivity and restrain muscle angiogenesis in response to a high-fat diet. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 30(9), 3039–3052.
143. Ono, Y., Esaki, K., Takahashi, Y., Nakabayashi, M., Ichinose, M., & Lee, K. (2018). Muscular blood flow responses as an early predictor of the severity of diabetic neuropathy at a later stage in streptozotocin-induced type I diabetic rats:

- a diffuse correlation spectroscopy study. *Biomedical optics express*, 9(9), 4539–4551.
144. Pacak, C. A., & Cowan, D. B. (2014). Growth of bone marrow and skeletal muscle side population stem cells in suspension culture. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), 1210, 51–61.
  145. Pakshir, P., & Hinz, B. (2018). The big five in fibrosis: Macrophages, myofibroblasts, matrix, mechanics, and miscommunication. *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology*, 68-69, 81–93.
  146. Palma, A., Jarrah, A. S., Tieri, P., Cesareni, G., & Castiglione F. (2018). Gene Regulatory Network Modeling of Macrophage Differentiation Corroborates the Continuum Hypothesis of Polarization States. *Front. Physiol*, 9,1659.
  147. Parasoglou, P., Rao, S., & Slade, J. M. (2017). Declining Skeletal Muscle Function in Diabetic Peripheral Neuropathy. *Clinical therapeutics*, 39(6), 1085–1103.
  148. Patel, D. R., Yamasaki, A., & Brown, K. (2017). Epidemiology of sports-related musculoskeletal injuries in young athletes in United States. *Translational pediatrics*, 6(3), 160–166.
  149. Patsalos, A., Pap, A., Varga, T., Trencsenyi, G., Contreras, G. A., & Nagy, L. (2017). In situ macrophage phenotypic transition is affected by altered cellular composition prior to acute sterile muscle injury. *J. Physiol.*, 595(17), 5815-5842.
  150. Penton, C. M., Thomas-Ahner, J. M., Johnson, E. K., McAllister, C., & Montanaro, F. (2013). Muscle Side Population Cells from Dystrophic or Injured Muscle Adopt a Fibro-Adipogenic Fate. *PLoS One*, 8(1), e54553.
  151. Peterson, J. M., Bryner, R. W., & Alway, S. E. (2008). Satellite cell proliferation is reduced in muscles of obese Zucker rats but restored with loading. *American journal of physiology. Cell physiology*, 295(2), C521–C528.
  152. Pietrosevoli, N., Mella, S., Yennek, S., Baghdadi, S., Sakai, H., Sambasivan, R., & Tajbaksch, S. (2017). Comparison of multiple transcriptomes exposes unified and divergent features of quiescent and activated skeletal muscle stem cells. *Skeletal Muscle*, 7, 28.

153. Pisconti, A., Banks, G., Babaeijandaghi, F., Betta, N., Rossi, F., Chamberlain, J., & Olwin, B. (2016). Loss of niche-satellite cell interactions in syndecan-3 null mice alters muscle progenitor cell homeostasis improving muscle regeneration. *Skeletal Muscle*, 6, 34.
154. Pizza, F. X., Peterson, J. M., Baas, J.H. & Koh, T. J. (2015). Neutrophils contribute to muscle injury and impair its resolution after lengthening contractions in mice. *Journal of Physiology*, 562(3), 899-913.
155. Presley, T. D., Duncan, A. V., Jeffers, A. B., & Fakayode, S. O. (2017). The variation of macro- and micro-minerals of tissues in diabetic and non-diabetic rats. *Journal of trace elements in medicine and biology : organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 39, 108–115.
156. Qahtani, S. M., Alzahrani, M. M., & Harvey, E. J. (2016). Prevalence of musculoskeletal disorders among orthopedic trauma surgeons: an OTA survey. *Canadian journal of surgery. Journal canadien de chirurgie*, 59(1), 42–47.
157. Quarteiro, M. L., Tognini, J. R., de Oliveira, E. L., & Silveira, I. (2015). The effect of platelet-rich plasma on the repair of muscle injuries in rats. *Revista brasileira de ortopedia*, 50(5), 586–595.
158. Reggio, A., Rosina, M., Krahmer, N., Palma, A., Petrilli, L. L., Maiolatesi, G. ... & Sacco, F. (2020). Metabolic reprogramming of fibro/adipogenic progenitors facilitates muscle regeneration. *Life science alliance*, 3(3), e202000646.
159. Relaix, F., & Zammit, P. (2012). Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. *Development*, 139(16), 2845-2856.
160. Rigamonti, E., Zordan, P., Sciorati, C., Rovere-Querini, P., & Brunelli, S. (2014). Macrophage Plasticity in Skeletal Muscle Repair. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 560629.
161. Roszer, T. (2015). Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. *Mediators Inflamm.*, 2015, 816460.

162. Rtail, R., Maksimova, O., Kiryan, V., Mchedlishvili, N., & Udovenko V. Morphological features of skeletal muscle regeneration under the influence of chronic hyperglycemia // «International Scientific and Practical Conference of Student, Postgraduates and Young Scientists «Biomedical Perspectives», Sumy, October 16-18, 2019. – P. 28.
163. Rtail, R., Maksymova, O., Illiashenko, V., Gortynska, O., Korenkov, O., Moskalenko, P., Nasser, M. & Tkach G. (2020). Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. *BioMed Research International*, 2020, ID 6980607.
164. Rtail, R., Tkach, G., & Tymoshenko, A. Electron microscopic examination of skeletal muscle regeneration in rats with chronic hyperglycemia // 78th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia, Vol. 56, Supp. 1, 2020.
165. Rtail, R., Tkach, G., Maksymova, O., Dubovyk, Ye., & Muravskyi D. Structure characteristics of the early stages of skeletal muscles regeneration under chronic hyperglycemia conditions // XXVI International Symposium on Morphological Sciences, Prague – 2018. – P. 73.
166. Rudnicki, M., & Williams, B. (2015). Wnt Signaling in Bone and Muscle. *Bone*, 80, 60-66.
167. Saclier, M., Cuvellier, S., Magnan, M., Mounier, R., & Chazaud, B. (2013). Monocyte/macrophage interactions with myogenic precursor cells during skeletal muscle regeneration. *The FEBS Journal*, 280(17), 4118-4130.
168. Saito, Y., Chikenji, T. S., Matsumura, T., Nakano, M., & Fujimiya, M. (2020). Exercise enhances skeletal muscle regeneration by promoting senescence in fibro-adipogenic progenitors. *Nature communications*, 11(1), 889.
169. Salem, M. E., Ismael, A. A., Salem, A. & Salem, T. (2017). Ultrastructural changes in peripheral arteries and nerves in diabetic ischemic lower limbs, by electron microscop. *Alexandria Journal of Medicine*, 53(4), 373-379.

170. Sass, F. A., Fuchs, M., Pumberger, M., Geissler, S., Duda, G. N., Perka, C., & Schmidt-Bleek, K. (2018). Immunology Guides Skeletal Muscle Regeneration. *Int. J. Mol. Sci.*, 19(3), 835.
171. Scharner, J., & Zammit, P. S. (2011). The muscle satellite cell at 50: the formative years. *Skeletal Muscle*, 1(1), 28.
172. Sciorati, C., Rigamonti, E., Manfredi, A. A., & Rovere-Querini, P. (2016). Cell death, clearance and immunity in the skeletal muscle. *Cell Death Differ.*, 23(6), 927-937.
173. Setayesh, K., Villarreal, A., Gottschalk, A., Tokish, J. M., & Choate, W. S. (2018). Treatment of Muscle Injuries with Platelet-Rich Plasma: a Review of the Literature. *Current reviews in musculoskeletal medicine*, 11(4), 635–642.
174. Shelton, M., Ritso, M., Liu, J., O'Neil, D., Kocharyan, A., Rudnicki, M., & Blais, A. (2019). Gene expression profiling of skeletal myogenesis in human embryonic stem cells reveals a potential cascade of transcription factors regulating stages of myogenesis, including quiescent/activated satellite cell-like gene expression. *PLoS One*, 14(9), e0222946.
175. Shireman, P. K., Contreras-Shannon, V., Ochoa, O., Karia, B. P., Michalek, J. E., & McManus, L. M. (2017). MCP-1 deficiency causes altered inflammation with impaired skeletal muscle regeneration. *Journal of leukocyte biology*, 81(3), 775–785.
176. Snijders, T., Nederveen, J., McKay, B., Joannisse, S., Verdijk, L.B., Loon, L., & Parise, G. (2015). Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Front. Physiol.*, 6, 283.
177. Solomon, T. P., Haus, J. M., Li, Y., & Kirwan, J. P. (2011). Progressive hyperglycemia across the glucose tolerance continuum in older obese adults is related to skeletal muscle capillarization and nitric oxide bioavailability. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 96(5), 1377–1384.
178. Spiller, K. L., & Koh, T. J. (2017). Macrophage-based therapeutic strategies in regenerative medicine. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 122, 74-83.

179. Stanford, K. I., & Goodyear, L. J. (2014). Exercise and type 2 diabetes: molecular mechanisms regulating glucose uptake in skeletal muscle. *Advances in physiology education*, 38(4), 308–314.
180. Suci, L. C., Popescu, B. O., Kostin, S., & Popescu, L. M. (2012). Platelet-derived growth factor receptor- $\beta$ -positive telocytes in skeletal muscle interstitium. *Journal of cellular and molecular medicine*, 16(4), 701–707.
181. Suman, R. K., Ray Mohanty, I., Borde, M. K., Maheshwari, U., & Deshmukh, Y. A. (2016). Development of an Experimental Model of Diabetes Co-Existing with Metabolic Syndrome in Rats. *Advances in pharmacological sciences*, 2016, 9463476.
182. Takeuchi, O., & Akira, S. (2011). Epigenetic control of macrophage polarization. *European Journal of Immunology*, 41(9), 2490-2493.
183. Tamilarasan, K. P., Temmel, H., Das, S. K., Al Zoughbi, W., Schauer, S., Vesely, P. W., & Hoefler, G. (2012). Skeletal muscle damage and impaired regeneration due to LPL-mediated lipotoxicity. *Cell death & disease*, 3(7), e354.
184. Teng, S., & Huang, P. (2019). The effect of type 2 diabetes mellitus and obesity on muscle progenitor cell function. *Stem cell research & therapy*, 10(1), 103.
185. Tidball, J. (2017). Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 17(3), 165-178.
186. Tidball, J. G., Dorshkind, K., & Wehling-Henricks, M. (2014). Shared signaling systems in myeloid cell-mediated muscle regeneration. *Development*, 141(6), 1184-1196.
187. Tierney, M., & Sacco, A. (2016). Satellite Cell Heterogeneity in Skeletal Muscle Homeostasis. *Trends. Cell. Biol.*, 26(6), 434-444.
188. Torres-Palsa, M., Koziol, M Goh, Q., Cicinelli, P., Peterson, J., & Pizza, F. (2015). Expression of intercellular adhesion molecule-1 by myofibers in mdx mice. *Muscle Nerve*, 52(5), 795-802.
189. Tsai, W. C., Yu, T. Y., Chang, G. J., Lin, L. P., Lin, M. S., & Pang, J. S. (2018). Platelet-Rich Plasma Releasate Promotes Regeneration and Decreases

- Inflammation and Apoptosis of Injured Skeletal Muscle. *The American journal of sports medicine*, 46(8), 1980–1986.
190. Tsilibary E. C. (2003). Microvascular basement membranes in diabetes mellitus. *The Journal of pathology*, 200(4), 537–546.
191. Uezumi, A., Ito, T., & Morikawa, D. (2011). Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *Journal of Cell Science*, 124(21), 3654-3664.
192. Verma, M., Asakura, Y., Murakonda, B., Pengo, T., Latroche, C., Chazaud, B., McLoon, L. K., & Asakura, A. (2018). Muscle Satellite Cell Cross-Talk with a Vascular Niche Maintains Quiescence via VEGF and Notch Signaling. *Cell stem cell*, 23(4), 530–543.e9.
193. Vesentini, G., Marini, G., Piculo, F., Damasceno, D. C., Matheus, S., Felisbino, S. L., ... & Rudge, M. (2018). Morphological changes in rat rectus abdominis muscle induced by diabetes and pregnancy. *Brazilian journal of medical and biological research*, 51(4), e7035.
194. Vignaud, A., Ramond, F., Hourdé, C., Keller, A., Butler-Browne, G., & Ferry, A. (2007). Diabetes provides an unfavorable environment for muscle mass and function after muscle injury in mice. *Pathobiology: journal of immunopathology, molecular and cellular biology*, 74(5), 291–300.
195. Walton, R. G., Kosmac, K., Mula, J., Fry, C. S., Peck, B. D., Groshong, J. S., Finlin, B. S., Zhu, B., Kern, P. A., & Peterson, C. A. (2019). Human skeletal muscle macrophages increase following cycle training and are associated with adaptations that may facilitate growth. *Scientific reports*, 9(1), 969.
196. Wang, H. D., Guo, Q., Quan, A., Lopez, J., Alonso-Escalante, J. C., Lough, D. M. ... & Kumar, A. R. (2017). Vascular Endothelial Growth Factor Induction of Muscle-Derived Stem Cells Enhances Vascular Phenotype While Preserving Myogenic Potential. *Annals of plastic surgery*, 79(4), 404–409.
197. Wang, X., Zhao, W., Ransohoff, R., & Zhou, L. (2018). Infiltrating macrophages are broadly activated at the early stage to support acute skeletal muscle injury repair. *J. Neuroimmunol.*, 317, 55-66.

198. Wang, Yu., Dumont, N., Rudnicki, M. (2014). Muscle stem cells at a glance. *J. Cell. Sci.*, 127(21), 4543-4548.
199. Webster, M., & Fan, C. (2013). c-MET Regulates Myoblast Motility and Myocyte Fusion during Adult Skeletal Muscle Regeneration. *PLoS One*, 8(11), e81757.
200. Wen, Y., Bi, P., Liu, W., Asakura, A., Keller, C., & Kuang, S. (2012). Constitutive Notch Activation Upregulates Pax7 and promotes the self-renewal of skeletal muscle satellite cells. *Molecular and Cellular Biology*, 32(12), 2300-2311.
201. Westman, J., Grinstein, S., & Marques, P. (2019). Phagocytosis of Necrotic Debris at Sites of Injury and Inflammation. *Front. Immunol.*, 10, 3030.
202. Wilson, R. D., & Islam, M. S. (2012). Fructose-fed streptozotocin-injected rat: an alternative model for type 2 diabetes. *Pharmacological reports : PR*, 64(1), 129–139.
203. Wong, S., Ning, A., Lee, C., & Feeley, B. T. (2015). Return to sport after muscle injury. *Current reviews in musculoskeletal medicine*, 8(2), 168–175.
204. Woo, M., Isganaitis, E., Cerletti, M., Fitzpatrick, C., Wagers, A. J., Jimenez-Chillaron, J., & Patti, M. E. (2011). Early life nutrition modulates muscle stem cell number: implications for muscle mass and repair. *Stem cells and development*, 20(10), 1763–1769.
205. Wosczyzna, M. N., Biswas, A. A., Cogswell, C. A. & Goldhamer, D. J. (2012). Multipotent progenitors resident in the skeletal muscle interstitium exhibit robust BMP-dependent osteogenic activity and mediate heterotopic ossification. *Journal of Bone and Mineral Research*, 27(5), 1004-1017.
206. Wright-Carpenter, T., Opolon, P., Appell, H. J., Meijer, H., Wehling, P., & Mir, L. M. (2004). Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: animal experiments using a muscle contusion model. *International journal of sports medicine*, 25(8), 582–587.
207. Wynn, T. A., & Vannella, K. M. (2016). Macrophages in tissue repair, regeneration, and fibrosis. *Immunity*, 44(3), 450-462.



208. Xiao, W., Liu, Y., & Chen, P. (2016). Macrophage Depletion Impairs Skeletal Muscle Regeneration: the Roles of Pro-fibrotic Factors, Inflammation, and Oxidative Stress. *Inflammation*, 39(6), 2016–2028.
209. Yablonka-Reuveni, Z., Rudnicki, M. A Rivera, A. J., Primig, M., Anderson, J., & Natanson, P. (2016). The Transition from Proliferation to Differentiation Is Delayed in Satellite Cells from Mice Lacking MyoD. *Dev. Biol.*, 210(2), 440-455.
210. Yamaguchi, M., Watanabe, Y., Ohtani, T., Uezumi, A., Mikami, A. & Fukada, S. (2015). Calcitonin Receptor Signaling Inhibits Muscle Stem Cells from Escaping the Quiescent State and the Niche. *Cell Rep.*, 13(2), 302-314.
211. Yamamoto, M., Legendre, N., Biswas, A., Lawton, A., Yamamoto, S., Tajbakhsh, S., & Goldhamer, D. (2018). Loss of MyoD and Myf5 in Skeletal Muscle Stem Cells Results in Altered Myogenic Programming and Failed Regeneration. *Stem Cell Reports*, 10(3), 956-969.
212. Yan, S. F., Ramasamy, R., & Schmidt, A. M. (2008). Mechanisms of disease: advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications. *Nature clinical practice. Endocrinology & metabolism*, 4(5), 285–293.
213. Yang, Q., Yu, J., Yu, B., Huang, B., Zhang., K., Wu, D., & Chen, D. (2016). PAX3 + skeletal muscle satellite cells retain long-term self-renewal and proliferation. *Muscle Nerve*, 54(5), 943-951.
214. Yang, W., & Hu, P. (2018). Skeletal muscle regeneration is modulated by inflammation. *Journal of Orthopaedic Translation*, 13, 25e32.
215. Yin, H., Price, F., & Rudnicki, M. (2013). Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol. Rev.*, 93, 23-67.
216. Yoder M. C. (2018). Endothelial stem and progenitor cells (stem cells): (2017 Grover Conference Series). *Pulmonary circulation*, 8(1), 2045893217743950.
217. Zammit, P. (2017). Function of the myogenic regulatory factors Myf5, MyoD, Myogenin and MRF4 in skeletal muscle, satellite cells and regenerative myogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 72, 19-32.

218. Zhang, C., Li, Yu., Wu, Yi., Wang, L., Wang, X., & Du, J. (2013). Interleukin-6/Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3) Pathway Is Essential for Macrophage Infiltration and Myoblast Proliferation during Muscle Regeneration. *J. Biol. Chem.*, 288(3), 1489-1499.
219. Zhang, C., Wang, C., Li, Y., Miwa, T., Liu, C., Cui, W., Song, W. C., & Du, J. (2017). Complement C3a signaling facilitates skeletal muscle regeneration by regulating monocyte function and trafficking. *Nature communications*, 8(1), 2078.
220. Zheng, B., Li, G., Chen, W. C., Deasy, B. M., Pollett, J. B., Sun, B., Drowley, L., Gharaibeh, B., Usas, A., Péault, B., & Huard, J. (2013). Human myogenic endothelial cells exhibit chondrogenic and osteogenic potentials at the clonal level. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*, 31(7), 1089–1095.
221. Zheng, C., Wang, C., Zhang, T., Li, D., Ni, X. F., Lin, J. H., Sun, L., & Chen, B. (2020). Exploring the Mechanism of Skeletal Muscle in a Tacrolimus-Induced Posttransplantation Diabetes Mellitus Model on Gene Expression Profiles. *Journal of diabetes research*, 2020, 6542346.
222. Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature reviews. Endocrinology*, 14(2), 88–98.
223. Zuo, Q., Wang, S., Yu, X., & Chao, W. (2018). Response of macrophages in rat skeletal muscle after eccentric exercise. *Chin. J. Traumatol.*, 21(2), 88-95.

**ДОДАТОК А**  
**НАУКОВІ ПРАЦІ, ОПУБЛІКОВАНІ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Ртайл, Р.А. & Ткач, Г.Ф. (2018). Вивчення особливостей макро- та мікроелементного складу скелетних м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 3(63), 185-189. (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії, виконав статистичне опрацювання даних, підготував статтю до друку)
2. Ртайл, Р.А., Максимова, О.С., Берчанов, О.М. & Ткач, Г.Ф. (2019). Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*, 2(154), 312-316. (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії та м'язової травми, провів структурний аналіз та статистичне опрацювання, підготував статтю до друку)
3. Rtail, R., Maksymova, O., Illiashenko, V., Gortynska, O., Korenkov, O., Moskalenko, P., Nasser, M. & Tkach G. (2020). Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. *BioMed Research International*, 2020, ID 6980607. (обліковується наукометричними базами Scopus та Web of Science) (здобувач провів моделювання хронічної гіперглікемії, механічної травми, приготування та введення збагаченої тромбоцитами плазми, виконав структурний аналіз, підготував статтю до друку).
4. Ртайл, Р.А. (2020). Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 1(23), 79-84. (здобувач змоделивав механічну м'язову травму, провів структурний та статистичний аналіз, підготував матеріал до друку)
5. Ртайл, Р.А. & Ткач, Г.Ф. (2020). Хіміко-аналітична характеристика різних фаз регенерації посмугованих м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії. *Український журнал з проблем медицини праці*, 16(1), 70-76. (здобувач провів

*модельовання хронічної гіперглікемії та м'язової травми, провів хіміко-аналітичне дослідження, опрацював літературні джерела, підготував статтю до друку)*

6. Ртайл, Р.А., Максимова, О.С., & Ткач, Г.Ф. (2020). Ультраструктурний аналіз регенерації скелетних м'язів щурів за умов хронічної гіперглікемії та застосування збагаченої тромбоцитами плазми. *Вісник проблем біології і медицини*, 3(157), 524-529. (здобувач провів модельовання хронічної гіперглікемії та м'язової травми, провів описовий ультраструктурний аналіз, підготував статтю до друку)

7. Ртайл, Р.А., Муравський, Д.В. & Ткач, Г.Ф. Мікроскопічна характеристика особливостей ранніх стадій регенерації скелетних м'язів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії // Збірник науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології», м. Вінниця, 21-22 вересня 2017 р. – С. 142-144.

8. Ртайл, Р.А., Ткач, Г.Ф., Дубовик, Є.І. & Максимова, О.С. Моніторинг хімічного складу посмугованих м'язів за умов хронічної гіперглікемії організму // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Бабенківські читання», м. Івано-Франківськ, 26-27 жовтня 2017 р. – С. 86.

9. Rtail, R., Tkach, G., Maksymova, O., Dubovyk, Ye., & Muravskiy D. Structure characteristics of the early stages of skeletal muscles regeneration under chronic hyperglycemia conditions // XXVI International Symposium on Morphological Sciences, Prague – 2018. – P. 73.

10. Ртайл, Р.А. Вивчення особливостей регенерації скелетних м'язів щурів після нанесення механічної травми // II Науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», м. Харків, 21 листопада 2019 р. – С. 306.

11. Rtail, R., Maksimova, O., Kiryan, V., Mchedlishvili, N., & Udovenko V. Morphological features of skeletal muscle regeneration under the influence of chronic hyperglycemia // «International Scientific and Practical Conference of Student, Postgraduates and Young Scientists «Biomedical Perspectives»», Sumy, October 16-

18, 2019. – P. 28.

12. Ртайл, Р.А., & Ткач Г.Ф. Макро- та мікроелементний аналіз скелетних м'язів щурів за умов їх посттравматичної регенерації // Збірник тез доповідей Науково-практичної конференція з міжнародною участю “Бабенківські читання”, присвяченої пам'яті академіка Г. О. Бабенка, м. Івано-Франківськ, 24-25 жовтня 2019 р. – С. 33.

13. Rtail, R., Tkach, G., & Tymoshenko, A. Electron microscopic examination of skeletal muscle regeneration in rats with chronic hyperglycemia // 78th International Scientific Conference of the University of Latvia, Riga, Latvia, Vol. 56, Supp. 1, 2020.

## ДОДАТОК Б1

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Буковинського державного  
медичного університету  
доп. І.В. Геруш  
2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**Пропозиція для впровадження:** «Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії».

**Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Ртайл Раед Абдаллах.

**Джерела інформації:**

1. Rtail R., Maksymova O., Illiashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020;2020, ID 6980607.
2. Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.
3. Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.

**Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії Буковинського державного медичного університету.

**Термін впровадження:** листопад-грудень 2020 року.

**Форми впровадження:** введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії. Затверджено на засіданні кафедри (протокол № 7 від 03.11.2020 р.).

**Завідувач кафедри анатомії,  
клінічної анатомії  
та оперативної хірургії  
Буковинського державного  
медичного університету,  
доктор медичних наук, професор**

О.М. Слободян



## ДОДАТОК Б2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з наукової роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова  
проф. О.В. Власенко  
” \_\_\_\_\_ 2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. **Пропозиція для впровадження:** Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Ртайл Расд Абдаллах.
3. **Джерела інформації:**
  - 3.1 Rtail R., Maksymova O., Illiashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020;2020, ID 6980607.
  - 3.2 Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.
  - 3.3 Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра клінічної анатомії та оперативної хірургії.
5. **Результат застосування** пропозиції за період з листопада 2020 року по грудень 2020 року. Матеріали використовуються у науковій та навчальній роботі кафедри клінічної анатомії та оперативної хірургії.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень дозволило розширити знання щодо структурних змін процесу відновлення скелетних м'язів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
8. **Обговорено і затверджено** на засідання кафедри, протокол № 12 від 14 грудня 2020 р.

Відповідальна за впровадження особа:  
завідувач кафедри клінічної анатомії  
та оперативної хірургії  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України,  
доктор медичних наук, професор

В.І. Півторак

## ДОДАТОК БЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

проф. О.О. Гудар'ян

"\_\_\_\_\_"/\_\_\_\_\_ 2020 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

1. **Пропозиція для впровадження:** Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Ртайл Раед Абдаллах.
3. **Джерела інформації:**
  - 3.1 Rtail R., Maksymova O., Illiashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020;2020, ID 6980607.
  - 3.2 Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.
  - 3.3 Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра клінічної анатомії, анатомії та оперативної хірургії ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».
5. **Термін впровадження:** 2020-2021 навчальний рік.
6. **Форми впровадження:** у наукову роботу кафедри, а також у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії, клінічної анатомії та оперативної хірургії.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
8. **Обговорено і затверджено** на засідання кафедри, протокол № 8 від 3.12 2020 р.

Завідувач кафедри клінічної анатомії,  
анатомії та оперативної хірургії  
д.м.н. професор

О.О. Нефьодова

Відповідальна за впровадження особа:  
Професор кафедри клінічної анатомії, анатомії  
та оперативної хірургії д.м.н. професор

В.В. Кошарний



## ДОДАТОК Б4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Професор кафедри науково-педагогічної роботи  
Запорізького державного медичного університету  
д. мед. наук, професор Візир В.А.



*[Signature]*  
2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Ртайл Раед Абдаллах.
3. **Джерело інформації:**
  - 3.1 Rtail R., Maksymova O., Illiashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020;2020, ID 6980607.
  - 3.2 Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.
  - 3.3 Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Запорізький державний медичний університет, кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії.
5. **Термін впровадження:** листопад-грудень 2020 року.
6. **Форма впровадження:** в матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини.
7. **Зауваження та пропозиції:** не поступило.
8. **Протокол засідання кафедри** № 8 від 8.12 2020 р.

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри анатомії людини,  
оперативної хірургії та топографічної анатомії  
д. мед. наук, професор

*[Signature]* Григор'єва О.А.

## ДОДАТОК Б5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
з науково-педагогічної роботи  
Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького  
проф. Гжегоцький М.Р.



2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії.
2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Ртайл Раєд Абдаллах.
3. **Джерела інформації:**
  - 3.1 Rtail R., Maksymova O., Illiashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020;2020, ID 6980607.
  - 3.2 Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.
  - 3.3 Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** ЛНМУ ім. Данила Галицького, кафедра оперативної хірургії з топографічною анатомією.
5. **Термін впровадження:** листопад-грудень 2020 року.
6. **Форма впровадження:** в наукову роботу кафедри, матеріал лекцій та практичних занять.
7. **Зауваження та пропозиції:** не поступило.
8. **Протокол засідання кафедри № 5 від 29 жовтня 2020 р.**

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри,  
оперативної хірургії  
з топографічною анатомією  
д. мед. наук, професор

3.3. Масна





## ДОДАТОК Б7



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о проректора з науково – педагогічної роботи  
Одеського національного  
медичного університету,  
д.мед.н., проф.

Шмакова І. П.

« 14 » 12 2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів, отриманих у дисертаційній роботі, у наукову роботу та навчальний процес

**1. Пропозиція для впровадження:** Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії.

**2. Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), Ртайл Раед Абдаллах.

**3. Джерела інформації:**

3.1 Rtail R., Maksymova O., Illiashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020;2020, ID 6980607.

3.2 Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.

3.3 Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Одеський медичний університет, кафедра нормальної та патологічної клінічної анатомії.

**5. Результат застосування** пропозиції за період з 1 грудня 2020 року по 30 січня 2021 року. Матеріали використовуються у науковій та навчальній роботі кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії.

**6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелах інформації (п. 3):** Використання результатів наукових досліджень дозволило розширити знання щодо структурних змін процесу відновлення скелетних м'язів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

**7. Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

**8. Обговорено і затверджено** на засідання кафедри, протокол № 6 від 10.12. 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

В.о зав. кафедри нормальної  
та патологічної клінічної анатомії  
Одеського національного  
медичного університету,  
д. мед.н., професор

О.Л. Аппельханс

## ДОДАТОК Б8

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор

з науково-педагогічної роботи

Української медичної

стоматологічної академії

проф. В.М. Дворник



2020 р.

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Найменування пропозиції** (метод профілактики, діагностики, лікування, пристрій, форма організаційної роботи та ін.): Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії.

**2. Установа-розробник:** Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології (40018, м. Суми, вул. Санаторна, 31), автор - Ртайл Раед Абдаллах.

**3. Джерела інформації:** Rtail R., Maksymova O., Illiashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020;2020, ID 6980607.

Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.

Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.

**4. Де і коли введено:** кафедра патологічної анатомії з секційним курсом Української медичної стоматологічної академії, травень 2020 р. – листопад 2020 р.

**5. Результати застосування методу.** Отримані результати щодо особливостей регенерації скелетних м'язів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії введено в навчальний процес зі здобувачами вищої освіти, лікарями інтернами (в лекційний курс, практичні заняття) та науково-дослідну роботу кафедри.

**6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3).** Використання результатів роботи в навчальному процесі та науково-дослідній роботі дозволяє поглибити й підвищити знання студентів, лікарів-інтернів, аспірантів щодо морфологічних особливостей репаративних процесів в організмі за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії.

**7. Зауваження, пропозиції:** немає.

Пропозиція обговорена і затверджена на кафедральному засіданні № 6 від 19.11.2020.

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри  
патологічної анатомії з секційним курсом  
д.мед.н., професор

І.І. Старченко



## ДОДАТОК Б9


  
**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
 Проректор з наукової роботи  
 Харківського національного  
 медичного університету  
 проф. В.В. М'ясоєдов  
 « 7 » грудня 2020 р.

## АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Морфологічні особливості регенерації скелетних м'язів за умов експериментальної гіперглікемії».
2. Ким і коли запропонований: Сумський державний університет МОН України, кафедра морфології, здобувач – Ртайл Раед Абдаллах, 2020 р.
3. Джерела інформації: наукові роботи у фахових виданнях України та зарубіжжя:
  - 3.1 Rtail R., Maksymova O., Iliashenko V., Gortynska O., Korenkov O., Moskalenko P., Nasser M., Tkach G. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. BioMed Research International, 2020; ID 6980607.
  - 3.2 Ртайл Р.А. Гістоморфометричний аналіз різних фаз регенерації скелетної мускулатури щурів після нанесення механічної травми. Український журнал медицини, біології та спорту, 2020;1(23):79-84.
  - 3.3 Ртайл Р.А., Максимова О.С., Берчанов О.М., Ткач Г.Ф. Гістоморфометрична характеристика регенерації скелетних м'язів щурів за умов впливу на організм хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини, 2019;2(154):312-316.
4. Де і коли введено: кафедра анатомії людини Харківського національного медичного університету, завідувач кафедри д.мед.н., проф. Вовк О.Ю., вересень – листопад 2020 р.
5. Результати застосування методу в період з 1 вересня 2020 р. по 1 грудня 2020 р.: Впровадження у навчальний процес в лекційному курсі, при проведенні практичних занять зі студентами, аспірантами, а також у наукову роботу кафедри.
6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 3): Поглиблення знань студентів, аспірантів про вплив хронічної гіперглікемії на перебіг посттравматичної регенерації скелетних м'язів.
7. Зауваження, пропозиції – немає.

**Пропозиція для впровадження обговорена та затверджена на кафедральному засіданні №16 від «2» грудня 2020 р.**

**Відповідальний за впровадження**  
 Завідувач кафедри анатомії людини  
 Харківського національного  
 медичного університету,  
 д.мед.н., проф. Вовк О.Ю.

\_\_\_\_\_ (дата)

\_\_\_\_\_ (підпис)