

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

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Понирко Аліна Олексіївна

УДК 611.717/.718:616.379-008.64-092.9(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**РІСТ ТА ФОРМУВАННЯ ДОВГИХ ТРУБЧАСТИХ КІСТОК
СКЕЛЕТА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ У
ВІКОВОМУ АСПЕКТІ**

Спеціальність 091 – біологія

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

А. О. Понирко

Науковий керівник – Бумейстер Валентина Іванівна, доктор біологічних наук,
професор

Суми – 2022

АНОТАЦІЯ

Понирко А. О. Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – біологія. – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2022.

Дисертаційна робота присвячена вивченню впливу дії хронічної гіперглікемії на особливості морфогенезу, хімічного складу та біомеханічних параметрів довгих трубчастих кісток скелета у віковому аспекті.

Гіперглікемія є наслідком гострого дефіциту інсуліну, що призводить до порушення вуглеводного, білкового, жирового і водно-сольового обмінів. Це блокує надходження глюкози в інсулінозалежні тканини, як наслідок, в них виникає жорсткий енергетичний дефіцит. Експериментальні дані про зміну ростових показників, формування біоелементного складу та тривкісних характеристик кісток за умов гіперглікемії дають нове уявлення про реакцію кісткової тканини з урахуванням вікових особливостей організму.

Для комплексного вивчення впливу хронічної гіперглікемії було визначено дизайн експерименту, що передбачав використання 216 білих лабораторних щурів молодого, зрілого і старечого віку. З метою встановлення дії гіперглікемії на довгі трубчасті кістки піддослідних тварин було поділено на дві серії: експериментальну та контрольну, кожна з них була поділена на три групи: молоді, зрілі, старечі – залежно від віку, кожна з яких була поділена на шість підгруп залежно від терміну експериментального дослідження. До експериментальної серії входили щури, введені в стан гіперглікемії за допомогою одноразової інтраперитонеальної ін'єкції розчину дигідрату алоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла на 0,9 % розчині хлориду натрію. Тварин виводили з експерименту на 30-ту, 60-ту, 90-ту, 120-ту, 150-ту та 180-ту доби. Для дослідження вилучали стегнові та плечові кістки, які вивчали з використанням остеометричного, гістоморфометричного,

ультрамікроскопічного, імуногістохімічного, хіміко-аналітичного, біомеханічного, комп'ютерно-томографічного й статистичного методів.

У щурів молодого віку на тлі гіперглікемії були виявлені такі зміни: дефіцит маси тіла до 180-ї доби становив 42,6 % ($p < 0,001$), рівень глюкози варіював з $(19,30 \pm 1,69)$ ммоль/л ($p < 0,001$) на початку експерименту до $(13,20 \pm 2,26)$ ммоль/л ($p < 0,001$) у кінці експерименту, рівень глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) збільшився із $(7,0 \pm 0,66)$ % ($p < 0,001$) до $(9,43 \pm 0,96)$ % ($p < 0,001$). За даними остеометрії, лінійні показники стегнової та плечової кісток щурів експериментальної та контрольної серії найбільш інтенсивно збільшувались у щурів молодого віку. У щурів цієї вікової групи в умовах тривалої гіперглікемії спостерігалось сповільнення приросту остеометричних показників порівняно з контрольними щурами. Отже максимальна довжина стегнової кістки (МДК) на 30-ту добу експерименту в щурів молодого віку становила $(18,96 \pm 1,16)$ мм, плечової $(11,94 \pm 0,77)$ мм ($p < 0,001$), що на 18 % та 19 % менше порівняно зі щурами контрольної серії. Ширина середини діафіза ШСД відповідала показникам $(1,60 \pm 0,37)$ мм та $(1,07 \pm 0,13)$ мм, що на 5 % та 4,7 % менше порівняно з контролем. ШПЕ та ШДЕ в зазначені вікові періоди достовірністю показників не відзначалися. Показники ШПЕ стегнової кістки становили $(2,71 \pm 0,26)$ мм, плечової – $(2,07 \pm 0,13)$ мм, ШДЕ стегнової кістки становила $(2,85 \pm 0,22)$ мм, плечової – $(2,09 \pm 0,15)$ мм, що відзначається незначною відсотковою зміною ростових показників порівняно з показниками щурів контрольної серії. Зазначена тенденція до сповільнення ростових показників досліджуваних кісток у тварин експериментальної серії порівняно з контролем зберігалася до закінчення експерименту. Відтак, на 180-ту добу експерименту в щурів молодого віку експериментальної серії відмінність приросту остеометричних показників порівняно з контролем збільшилась і становила: МДК стегнової кістки $(26,95 \pm 1,06)$ мм ($p < 0,001$), плечової – $(16,80 \pm 0,79)$ мм ($p < 0,001$), що на 20 % та 21 % менше порівняно з контролем, водночас значно збільшилися показники ШСД, ШПЕ і ШДЕ, вони зросли до $(1,72 \pm 0,42)$

мм, $(3,10 \pm 0,04)$ мм та $(3,26 \pm 0,21)$ мм відповідно відмінність із контролем становила 7 %, 8 % і 7 %.

Дефіцит маси тіла щурів зрілого віку експериментальної серії спостерігався на рівні 24 % ($p < 0,001$), показники глюкози варіювали від $(14,80 \pm 1,30)$ ммоль/л ($p < 0,001$) на 30-ту добу до $(11,30 \pm 1,10)$ ммоль/л ($p < 0,001$) на 180-ту добу, HbA1c був у 2 рази вищим за норму. За даними остеометрії, лінійні показники стегнової кістки тварин зрілого віку відзначалися незначним відсотком приросту порівняно з показниками щурів молодого віку. Середні показники МДК стегнової та плечової кісток на 30-ту добу експерименту були дещо меншими за такі у тварин контрольної серії на 11,2 % та 5,2 %. ШСД порівняно з контролем була меншою на 5,3 % і 4,2 % відповідно. Середні показники ШПЕ і ШДЕ стегнової та плечової кісток також достовірно не відрізнялися. ШПЕ була меншою за контроль на 6 % та 9,6 %, ШДЕ – на 6,2 % і 8,4 %. Проте вже на 180-ту добу довжина стегнової кістки в щурів зрілого віку була меншою на 13,5 % ($p < 0,001$), загальний показник приросту стегнової кістки з 30-ї доби до 180-ї доби становив лише 8,8 %, МДК плечової кістки була меншою на 7 % ($p < 0,05$), загальний показник приросту – 9,1 %. Середні показники ШПЕ та ШДЕ стегнової кістки були меншими за норму на 7,7 % і 8,5 %.

У щурів старечої групи показники вуглеводного обміну відзначалися дефіцитом маси тіла на 3 %, рівні глюкози та HbA1c незначно відрізнялися від показників попередньої вікової групи. У щурів старечої групи спостерігалася повільна незначна зміна остеометричних показників. Проте варто зазначити, що більш інтенсивний ріст цих показників спостерігався у тварин серії контролю. Наприкінці експерименту за показником МДК різниця параметрів порівняно зі щурами серії контролю становила 10 % ($p < 0,001$) та 6 % ($p < 0,05$). ШСД стегнової кістки була меншою на 3,7 % та 5,2 %. Відповідні зміни відбулись і стосовно середніх показників ШПЕ та ШДЕ обох кісток порівняно з контролем: ширина проксимального і дистального епіфізів стегнової кістки була меншою на

5,3 % та 5 %, плечової кістки - на 5,3 % і 5,7 % відповідно. Гіперглікемія призводить до порушення ростових показників досліджуваних кісток щурів усіх вікових груп. Більш інтенсивно проявляється затримка лінійних показників у щурів експериментальної серії всіх вікових груп порівняно зі щурами серії контролю.

У результаті проведеного гістологічного дослідження гіперглікемія призводить до розвитку деструктивних змін кісток щурів усіх вікових груп, найбільші порушення спостерігались у тварин молодого та старечого віку. Описані зміни проявлялися сповільненням ремоделювання КТ, порушенням структури компактної речовини діафіза та порушенням будови епіфізарного хряща, зменшенням міцнісних характеристик діафіза загалом. Дещо інтенсивніші зміни виникають в епіфізах, це свідчить про вищу чутливість трабекулярної КТ. Морфометричні показники діафіза за умов гіперглікемії характеризуються відносним зменшенням площі компактної речовини порівняно з контролем: в щурів молодого віку на 11 % у обох кістках, зрілого - на 13,1 % ($p < 0,05$) та 11,5 % ($p < 0,05$), старечого на 40 % ($p < 0,001$) у обох кістках; розширенням остеонів та каналів остеонів в стегновій кістці щурів молодого віку на 13 % ($p < 0,001$) та 38 % ($p < 0,001$); у плечовій кістці – на 14 % ($p < 0,001$) та 38 % ($p < 0,001$); у щурів зрілого віку в стегновій кістці – на 1,5 % ($p < 0,05$) та 4,6 % ($p < 0,05$), плечовій – на 1,7 % ($p < 0,05$) та 4 %; старечого віку – на 1,4 %, 8,5 % ($p < 0,001$) та 1 %, 10 % ($p < 0,001$) відповідно. Гіперглікемія впливає на будову епіфізарного хряща. Найбільша різниця із контролем спостерігалась у щурів молодого віку, що становила 37 % ($p < 0,001$) у обох кістках, найменша – у щурів зрілого віку – 1 % ($p < 0,001$). В епіфізах досліджуваних кісток спостерігається пригнічення майже всіх досліджуваних морфометричних показників, особливо у тварин молодого віку.

Проаналізувавши зміну будови остеогенних клітин в трьох експериментальних групах щурів, можна зробити висновок, що підвищена кісткова резорбція спостерігається більшою мірою в щурів старечого віку,

найменш виражена експресія RANKL властива щурам молодого віку. Остеопонтин та RANKL експресуються в різних співвідношеннях у кожній віковій групі, а саме: у щурів молодого віку експресія остеопонтину в діяфізі збільшилася з $(24,17 \pm 1,51) \%$ ($p < 0,05$) до $(24,42 \pm 1,60) \%$ ($p < 0,05$), загальний показник приросту становив 1 %, у щурів зрілого віку знизився з $(23,64 \pm 1,75) \%$ ($p < 0,05$) до $(22,71 \pm 1,66) \%$ ($p < 0,05$), відсоток зміни становив 4,1 %, у щурів старечого віку відсоткове співвідношення втрати експресії остеопонтину продовжувало знижуватися з $(15,06 \pm 1,48) \%$ до $(14,13 \pm 1,45) \%$ відсоток втрати становив 6,6 %. Відповідні показники в епіфізі становили: 1,5 % ($p < 0,05$), 4,7 % та 7,7 % ($p < 0,05$) відповідно. Експресія показника RANKL у щурів молодого віку до кінця експерименту в діяфізі збільшилася на 4 % ($p < 0,05$), у щурів зрілого віку показник знизився на 4,1 %, старечого – на 6 %, показники епіфіза кісток щурів молодого віку зросли на 4,2 % ($p < 0,05$), зрілого віку – знизились на 4,1 %, старечого – на 6,4 % ($p < 0,05$) відповідно. Дослідивши дегенеративні зміни в кістках, з'ясували, що збільшена інтенсивність показника кісткової резорбції в щурів старечого віку призводить до посилення проявів деструктивних змін у кістках із віком у нормі та з більш інтенсивним проявом під час хронічної гіперглікемії.

На 30-ту добу в щурів молодого віку було виявлено багато клітин, що містять поодинокі мітохондрії та значну кількість загиблих остеобластів зі зруйнованими органелами, також траплялися загиблі клітини з вираженою вакуолізацією цитоплазми. У кістковому матриксі зустрічались ділянки нерівномірної мінералізації. У щурів зрілого віку на відміну від молодих встановлено, що остеобласти зазнали меншого негативного впливу в результаті дії гіперглікемії та мали більший біосинтетичний потенціал унаслідок більш розвиненої гЕПС. Однак наявність гіпертрофії гЕПС та збільшення в розмірах мітохондрій свідчать про дегенеративні зміни в клітинах. Відповідно в цей термін у щурів старечого віку виявлено гіперфункцію остеобластів як адаптивну реакцію на підвищення рівня глюкози та поступове руйнування остеогенних

клітин, що призводить до дегенеративних змін у кістках. Таким чином, під час електронно-мікроскопічного аналізу встановлено, що хронічна гіперглікемія спричиняє структурні зміни в клітинах кісткової тканини стегнової та плечової кісток щурів усіх вікових груп, починаючи з першого терміну спостереження (30 діб), та призводить до наростаючих деструктивних змін із збільшенням терміну спостереження.

За допомогою спектрофотометрії доведено, що тривала дія гіперглікемії призводить до порушення мінералізації досліджуваних кісток, про що свідчить зниження мінеральної насиченості кісток щурів експериментальної серії порівняно з контролем. Макроелементний склад кісток щурів експериментальної серії молодого віку показав, що концентрація макро- і мікроелементів мала чітку тенденцію до зниження. У щурів молодого віку відбувалося активне зниження вмісту Са і Р, максимальний дефіцит якого досягав на 180-ту добу в діафізі стегнової кістки Са – 36,8 % ($p < 0,001$), Р – 19 % ($p < 0,001$), плечової кістки Са – 36,8 %, Р – 19,3 % ($p < 0,001$), та в епіфізі стегнової кістки Са – 44 % ($p < 0,001$), Р – 25,6 % ($p < 0,001$), плечової – Са – 45,4 % ($p < 0,001$), Р – 25 % ($p < 0,001$). У щурів зрілого віку відбувалось повільне й поступове зменшення зазначених показників. Дефіцит Са в діафізах обох кісток становив 23,5 % ($p < 0,001$) та 12 % ($p < 0,001$), Р – 5,4 % ($p < 0,001$) та 6,9 % ($p < 0,001$), в епіфізах зниження рівня Са відзначалося нижчими показниками втрати хімічних елементів порівняно зі щурами молодого віку: в стегновій кістці на 12 % ($p < 0,001$) плечовій – на 12,4 % ($p < 0,001$), Р – 20 % ($p < 0,001$) та 24,5 % ($p < 0,001$), у щурів старечого віку кількісне співвідношення вмісту Са в діафізі стегнової кістки було менше порівняно з контролем. Вміст Са в діафізах обох кісток був меншим на 10 % ($p < 0,001$) та 12 % ($p < 0,001$), Р – на 5,3 % ($p < 0,001$) і 3,2 % ($p < 0,001$), в епіфізі Са на 15 % ($p < 0,001$) та 11 % ($p < 0,001$), Р – на 7,3 % ($p < 0,001$) в обох кістках. Експериментальне дослідження хімічного складу кісток показало певні відмінності перерозподілу води в різних частинах трубчастої кістки. Отже, втрата води в щурів експериментальної серії значно перевищувала показники в

щурів серії контролю. Відсоток втрати води на 180-ту добу експерименту у діяфізі стегнової кістки щурів молодого віку становив 27,3 % ($p < 0,001$), плечової-33 % ($p < 0,001$), в епіфізі-33 % ($p < 0,001$) та 33,5 % ($p < 0,001$). У щурів зрілого віку показник втрати в діяфізі стегнової кістки становив 5,5 % ($p < 0,001$) та 7,6 % ($p < 0,001$), в епіфізі цей показник знизився на 6,6 % ($p < 0,001$) та 7,8 % ($p < 0,001$). Зменшення води в діяфізах досліджуваних кісток щурів старечої групи було відповідно 12 % ($p < 0,001$) та 9 % ($p < 0,001$), в епіфізах 9 % ($p < 0,001$) і 15,6 % ($p < 0,001$).

Комплексний аналіз механічних показників досліджуваних кісток показав, що в щурів молодого віку відбувається значне зменшення міцнісних властивостей уже з 30-ї доби спостереження. У щурів зрілого та старечого віку відзначається поступове зниження механічних показників, це пов'язано з втратою основних макроелементів в кістках на тлі гіперглікемії. Тривала дія гіперглікемії призводить до достовірного зниження механічних показників в усі вікові періоди, проте найбільші зміни відзначаються у тварин молодого віку. За показником міцність на стиснення діяфіза стегнової кістки показники щурів експериментальної серії були меншими порівняно зі щурами серії контролю на 29 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 25 % ($p < 0,001$), за показником навантаження при стисненні показники обох кісток були меншими на 18 % ($p < 0,001$); відповідні зміни межі міцності на стиснення епіфіза стегнової кістки були меншими на 32 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 35 % ($p < 0,001$), навантаження при стисненні на 23 % ($p < 0,001$) і 24 % ($p < 0,001$) відповідно.

Ключові слова: гіперглікемія, щури, довгі трубчасті кістки, остеометричні показники, біомеханічні властивості, біоеlementи.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Понирко А. О., Рябенко Т. В. Порівняльна характеристика стану кісткової тканини у щурів різних вікових груп за умов індукованої гіперглікемії. *Український журнал медицини, біології та спорту (УЖМБС)*. 2019. Т. 4, № 5 (21). С. 67–71. (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному обробленні матеріалу). DOI: 10.26693/jmbs04.05.067.
2. Понирко А. О. Мікроскопічна будова та морфометричні показники довгих трубчастих кісток щурів старечого віку з індукованою гіперглікемією. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2019. Т. 19, вип. 3 (67). С. 151–155. (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному опрацюванні матеріалу). DOI: 10.31718/2077-1096.19.3.151.
3. Понирко А. О. Вплив хронічної гіперглікемії на стан опорно-рухового апарату (огляд літератури). *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2021. Т. 21, вип. 1 (73). С. 184–187 (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному обробленні матеріалу). DOI: 10.31718/2077-1096.21.1.184.
4. Понирко А. О., Дмитрук С. М., Бумейстер В. І. Біомеханічні властивості та макроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. № 2 (76). С. 232–238. (Особистий внесок: брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів, статистичному опрацюванні даних). DOI: 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.
5. Ponyrko A. O., Bumeister V. I., Dmytruk S. M., Yarmolenko O. S., Teslyk T. P., Riabenko T. V., Shkolna I. I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021. № 74 (9 p.I). P. 2052-2059 (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). PMID: 34725275.
6. Понирко А. О., Бумейстер В. І., Дмитрук С. М., Теслик Т. П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. № 2 (160). С. 231–235.

(Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). DOI: 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

7. Понирко А. О., Теслик Т. П., Рябенко Т. В. Структурно-функціональні зміни остеобластів за умов дії хронічної гіперглікемії. *Нотатки сучасної біології. Notes in Current Biology*. 2021. № 1 (1). С. 85-92. (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). DOI: <https://doi.org/10.29038/NCBio.21.1.85-92>.

8. Понирко А. О., Бойко В. О. Мінеральна щільність стегнових кісток щурів під час експериментального алоксанового діабету. *V Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини* : зб.тез.доп. (Суми, 20-21 квітня, 2017 р.) С. 75–76.

9. Понирко А. О. Динаміка ростових показників кісток щурів молодого віку під час індукованого цукрового діабету 1 типу. *Всеукраїнська науково-методична конференція, присвячена 25-річчю медичного інституту Сумського державного університету* : зб.тез.доп. (Суми.16–17 листопада 2017 р.) С.31.

10. Ponyrko A. O. Changing the chemical composition of long tubular bones of rats with diabetes mellitus type I. *International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists*. (Sumy, 2018). Sumy: Sumy state University, 2018. P.101.

11. Понирко А. О. Особливості морфологічних змін проксимального епіфізу стегнових кісток щурів зрілого віку за умов індукованої гіперглікемії. *Збірник тез доповідей VII конгресу наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топанатомів України* (Одеса, 2–4 жовтня. 2019 р.). Одеса, 2019. С. 272–273.

12. Понирко А. О. Зміни мінеральної щільності кісткової тканини у щурів з хронічною гіперглікемією. *Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині* (24–25 жовтня 2019 р.). Чернівці, 2019. С. 88–90.

13. Понирко А. О., Сулим Л. Г. Вплив гіперглікемії на ультраструктурну організацію довгих кісток щурів. *Priority directions of science development : the 5th International scientific and practical conference.* (Lviv, 2020, March 2–3) 2020. P. 98.
14. Понирко А. О., Бумейстер В. І., Теслик Т. П. Морфофункціональна оцінка стану довгих трубчастих кісток у щурів молодого віку під впливом хронічної гіперглікемії. *Сучасні проблеми морфології людини* : зб. тез доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. (Харків, 23–25 вересня 2020 р.). Харків, 2020. С. 69.
15. Понирко А. О., Бумейстер В. І. Морфометричні зміни показників епіфізарного хряща щурів старечого віку за умов експериментальної гіперглікемії. *Фундаментальні науки – практичній медицині: морфофункціональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів, при захворюваннях внутрішніх органів: Науково–практична конференція, присвяченої 80-річчю з Дня народження професора Шутки Б. В.).* (Івано-Франківськ, 30 вересня – 2 жовтня 2020 р.). Івано-Франківськ, 2020. С 41–43.

ABSTRACT

Ponyrko AO Growth and formation of long tubular bones of the skeleton under conditions of experimental hyperglycemia in the age aspect. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 – biology. – Sumy State University of the Ministry of Education and Culture of Ukraine, Sumy, 2022.

The dissertation is devoted to the study of the effect of chronic hyperglycemia on the peculiarities of morphogenesis, chemical composition, and biomechanical parameters of the long tubular bones of the skeleton in the age aspect.

Hyperglycemia is a consequence of an acute insulin deficiency, which leads to a violation of carbohydrate, protein, fat, and water-salt metabolism. This blocks the supply of glucose to insulin-dependent tissues, as a result of which a severe energy deficit occurs. Experimental data on changes in growth indicators, formation of bioelement composition and triaxial characteristics of bones under conditions of hyperglycemia provide a new insight into the reaction of bone tissue taking into account the age-related characteristics of the body.

For a comprehensive study of the effect of chronic hyperglycemia, an experimental design was determined, which involved the use of 216 white laboratory rats of young, mature and senile age. In order to establish the effect of hyperglycemia on the long tubular bones of experimental animals, they were divided into two series: experimental and control, each of them was divided into three groups: young, mature, senile - depending on age, each of which was divided into six subgroups depending on term of experimental research. The experimental series included rats induced into a state of hyperglycemia by means of a single intraperitoneal injection of a solution of alloxan dihydrate at a dose of 150 mg/kg of body weight in a 0.9 % sodium chloride solution. Animals were removed from the experiment on the 30-th, 60-th, 90-th, 120-th, 150-th and 180-th days. Femur and humerus bones were removed for research, which were studied using osteometric, histomorphometric, ultramicroscopic,

immunohistochemical, chemical-analytical, biomechanical, computer-tomographic and statistical methods.

In young rats against the background of hyperglycemia, the following changes were detected: the body weight deficit by the 180-th day was 42.6 % ($p < 0.001$), the glucose level varied from (19.30 ± 1.69) mmol/l ($p < 0.001$) at the beginning of the experiment to (13.20 ± 2.26) mmol/l ($p < 0.001$) at the end of the experiment, the level of glycosylated hemoglobin (HbA1c) increased from (7.0 ± 0.66) % ($p < 0.001$) to (9.43 ± 0.96) % ($p < 0.001$). According to the data of osteometry, the linear indicators of the femur and humerus of rats of the experimental and control series increased most intensively in young rats. In rats of this age group, in conditions of prolonged hyperglycemia, a slowdown in the growth of osteometric indicators was observed compared to control rats. Therefore, the maximum length of the femur (MBL) on the 30-th day of the experiment in young rats was (18.96 ± 1.16) mm, humerus (11.94 ± 0.77) mm ($p < 0.001$), which on 18 % and 19 % less compared to rats of the control series. The width of the middle of the diaphysis of WMD corresponded to (1.60 ± 0.37) mm and (1.07 ± 0.13) mm, which is 5 % and 4.7 % less compared to the control. WPE and WDE in the indicated age periods were not marked by the reliability of indicators. The parameters of the WPE of the femur were (2.71 ± 0.26) mm, the humerus - (2.07 ± 0.13) mm, the WDE of the femur was (2.85 ± 0.22) mm, the humerus - (2.09 ± 0.15) mm, which is marked by a slight percentage change in growth indicators compared to the indicators of rats of the control series. The indicated tendency to slow down the growth indicators of the studied bones in the animals of the experimental series compared to the control was maintained until the end of the experiment. Therefore, on the 180-th day of the experiment, in the young rats of the experimental series, the difference in the growth of osteometric indicators compared to the control increased and amounted to: MBL of the femur (26.95 ± 1.06) mm ($p < 0.001$), humerus - (16.80 ± 0.79) mm ($p < 0.001$), which is 20 % and 21 % less compared to the control, at the same time, the indicators of WMD, WPE and WDE significantly increased, they

increased to (1.72 ± 0.42) mm, $(3,10 \pm 0.04)$ mm and (3.26 ± 0.21) mm, respectively, the difference with the control was 7 %, 8 % and 7 %.

The body weight deficit of mature rats of the experimental series was observed at the level of 24 % ($p < 0.001$), glucose values varied from (14.80 ± 1.30) mmol/l ($p < 0.001$) on the 30-th day to (11.30 ± 1.10) mmol/l ($p < 0.001$) on the 180-th day, HbA1c was 2 times higher than the norm. According to the data of osteometry, the linear indicators of the femur of mature animals were marked by a slight percentage increase compared to the indicators of young rats. The average indicators of the MBL of the femur and humerus on the 30-th day of the experiment were slightly lower than those of the animals of the control series by 11.2 % and 5.2 %. Compared to the control, WMD was lower by 5.3 % and 4.2 %, respectively. The average indicators of WPE and WDE of the femur and humerus were also not significantly different. WPE was lower than the control by 6 % and 9.6 %, WDE by 6.2 % and 8.4 %. However, already on the 180-th day, the length of the femur in mature rats was smaller by 13.5 % ($p < 0.001$), the total rate of growth of the femur from the 30-th day to the 180-th day was only 8.8 %, MBL of the humerus was smaller by 7 % ($p < 0.05$), the overall rate of growth was 9.1 %. The average indicators of WPE and WDE of the femur were lower than the norm by 7.7 % and 8.5 %.

In rats of the senile group, indicators of carbohydrate metabolism were marked by a deficit of body weight by 3%, glucose and HbA1c levels slightly differed from the indicators of the previous age group. A slow, insignificant change in osteometric parameters was observed in the rats of the senile group. However, it is worth noting that a more intensive growth of these indicators was observed in animals of the control series. At the end of the experiment, according to the MBL indicator, the difference in parameters compared to rats of the control series was 10 % ($p < 0.001$) and 6 % ($p < 0.05$). The WMD of the femur was smaller by 3.7 % and 5.2 %. Corresponding changes also occurred in relation to the average indicators of WPE and WDE of both bones compared to the control: the width of the proximal and distal epiphyses of the femur was smaller by 5.3 % and 5 %, of the humerus by 5.3 % and 5.7 %, respectively.

Hyperglycemia leads to a violation of the growth indicators of the studied bones of rats of all age groups. The delay of linear indicators is more intensively manifested in rats of the experimental series of all age groups compared to rats of the control series.

As a result of the histological study, hyperglycemia leads to the development of destructive changes in the bones of rats of all age groups, the greatest violations were observed in young and senile animals. The described changes were manifested by a slowdown in BT remodeling, a violation of the structure of the compact substance of the diaphysis and a violation of the structure of the epiphyseal cartilage, a decrease in the strength characteristics of the diaphysis in general. Slightly more intense changes occur in the epiphyses, which indicates a higher sensitivity of trabecular BT. Morphometric indicators of the diaphysis under conditions of hyperglycemia are characterized by a relative decrease in the area of the compact substance compared to the control: in young rats by 11 % in both bones, in mature rats by 13.1 % ($p < 0.05$) and 11.5 % ($p < 0.05$), senile by 40 % ($p < 0.001$) in both bones; the expansion of osteons and osteon channels in the femur of young rats by 13 % ($p < 0.001$) and 38 % ($p < 0.001$); in the humerus - by 14 % ($p < 0.001$) and 38 % ($p < 0.001$); in mature rats, femur - by 1.5 % ($p < 0.05$) and 4.6 % ($p < 0.05$), humerus - by 1.7 % ($p < 0.05$) and 4 % ; old age - by 1.4 %, 8.5 % ($p < 0.001$) and 1 %, 10 % ($p < 0.001$), respectively. Hyperglycemia affects the structure of epiphyseal cartilage. The largest difference with the control was observed in young rats, which was 37 % ($p < 0.001$) in both bones, the smallest - in mature rats - 1 % ($p < 0.001$). In the epiphyses of the studied bones, suppression of almost all studied morphometric indicators is observed, especially in young animals.

Having analyzed the change in the structure of osteogenic cells in three experimental groups of rats, we can conclude that increased bone resorption is observed to a greater extent in old age rats, the least pronounced expression of RANKL is characteristic of young age rats. Osteopontin and RANKL are expressed in different ratios in each age group, namely: in young rats, the expression of osteopontin in the diaphysis increased from $(24.17 \pm 1.51) \%$ ($p < 0.05$) to $(24.42 \pm 1, 60) \%$ ($p < 0.05$)),

the total rate of growth was 1 %, in mature rats it decreased from $(23.64 \pm 1.75) \%$ ($p < 0.05$) to $(22.71 \pm 1, 66) \%$ ($p < 0.05$), the percentage change was 4.1 %, in aged rats the percentage loss of osteopontin expression continued to decrease from $(15.06 \pm 1.48) \%$ to $(14.13 \pm 1.45) \%$ loss percentage was 6.6 %. The corresponding indicators in the pineal gland were: 1.5 % ($p < 0.05$), 4.7 % and 7.7 % ($p < 0.05$), respectively. By the end of the experiment, the expression of the RANKL indicator in young rats in the diaphysis increased by 4 % ($p < 0.05$), in mature rats, the indicator decreased by 4.1 %, in old rats - by 6 %, the indicators of the epiphysis of the bones of young rats increased by 4.2 % ($p < 0.05$), mature age - decreased by 4.1 %, senile - by 6.4 % ($p < 0.05$), respectively. After studying degenerative changes in bones, it was found that the increased intensity of the bone resorption index in senile rats leads to increased manifestations of destructive changes in bones with normal age and with a more intense manifestation during chronic hyperglycemia.

On the 30-th day, many cells containing single mitochondria and a significant number of dead osteoblasts with destroyed organelles were found in young rats, and there were also dead cells with marked cytoplasmic vacuolization. There were areas of uneven mineralization in the bone matrix. In mature rats, in contrast to young ones, it was found that osteoblasts were less negatively affected by hyperglycemia and had greater biosynthetic potential as a result of a more developed gER. However, the presence of gER hypertrophy and an increase in the size of mitochondria indicate degenerative changes in the cells. Accordingly, hyperfunction of osteoblasts as an adaptive reaction to increased glucose levels and gradual destruction of osteogenic cells, which leads to degenerative changes in bones, was detected in aged rats. Thus, during the electron microscopic analysis, it was established that chronic hyperglycemia causes structural changes in the cells of the bone tissue of the femur and humerus of rats of all age groups, starting from the first observation period (30 days), and leads to increasing destructive changes with increasing observation period .

With the help of spectrophotometry, it was proven that the long-term effect of hyperglycemia leads to a violation of the mineralization of the studied bones, which is

evidenced by a decrease in the mineral saturation of the bones of rats in the experimental series compared to the control. The macroelement composition of the bones of rats of the experimental series of young age showed that the concentration of macro- and microelements had a clear tendency to decrease. In young rats, there was an active decrease in the content of Ca and P, the maximum deficit of which reached on the 180th day in the diaphysis of the femur 36.8 % ($p < 0.001$), P – 19 % ($p < 0.001$), in the humerus Ca – 36.8 %, P – 19.3 % ($p < 0.001$), and in the epiphysis of the femur Ca – 44 % ($p < 0.001$), P – 25.6 % ($p < 0.001$), humerus – Ca – 45, 4 % ($p < 0.001$), P – 25 % ($p < 0.001$). A slow and gradual decrease in these indicators occurred in mature rats. Ca deficiency in the diaphyses of both bones was 23.5 % ($p < 0.001$) and 12 % ($p < 0.001$), P – 5.4 % ($p < 0.001$) and 6.9 % ($p < 0.001$), in the epiphyses a decrease level of Ca was marked by lower rates of loss of chemical elements compared to young rats: in the femur by 12 % ($p < 0.001$), in the humerus by 12.4 % ($p < 0.001$), P – by 20 % ($p < 0.001$) and 24, 5 % ($p < 0.001$), the quantitative ratio of Ca content in the diaphysis of the femur was lower in aged rats compared to controls. The Ca content in the diaphyses of both bones was lower by 10 % ($p < 0.001$) and 12 % ($p < 0.001$), P – by 5.3 % ($p < 0.001$) and 3.2 % ($p < 0.001$), in the epiphysis Ca by 15 % ($p < 0.001$) and 11 % ($p < 0.001$), P – by 7.3 % ($p < 0.001$) in both bones. An experimental study of the chemical composition of bones showed certain differences in the redistribution of water in different parts of the tubular bone. Therefore, water loss in rats of the experimental series significantly exceeded the indicators in rats of the control series. The percentage of water loss on the 180-th day of the experiment in the diaphysis of the femur of young rats was 27.3 % ($p < 0.001$), in the humerus – 33 % ($p < 0.001$), in the epiphysis – 33 % ($p < 0.001$) and 33,5 % ($p < 0.001$). In mature rats, the rate of loss in the diaphysis of the femur was 5.5 % ($p < 0.001$) and 7.6 % ($p < 0.001$), in the epiphysis this rate decreased by 6.6 % ($p < 0.001$) and 7.8 % ($p < 0.001$). The reduction of water in the diaphyses of the studied bones of rats of the senile group was, respectively 12 % ($p < 0.001$) and 9 % ($p < 0.001$), in the epiphyses 9 % ($p < 0.001$) and 15.6 % ($p < 0.001$).

A comprehensive analysis of the mechanical parameters of the studied bones showed that in young rats there is a significant decrease in strength properties from the 30th day of observation. In mature and senile rats, a gradual decrease in mechanical parameters is noted, this is due to the loss of the main macroelements in the bones against the background of hyperglycemia. The long-term effect of hyperglycemia leads to a significant decrease in mechanical parameters in all age periods, but the greatest changes are noted in young animals. According to the index of compressive strength of the diaphysis of the femur, the indicators of the rats of the experimental series were lower compared to the rats of the control series by 29 % ($p < 0.001$), of the humerus - by 25 % ($p < 0.001$), according to the index of load during compression, the indicators of both bones were lower by 18 % ($p < 0.001$); the corresponding changes in the compressive strength limit of the epiphysis of the femur were smaller by 32 % ($p < 0.001$), of the humerus by 35 % ($p < 0.001$), the compressive load by 23 % ($p < 0.001$) and 24 % ($p < 0.001$) respectively.

Key words: hyperglycemia, rats, long tubular bones, osteometric parameters, biomechanical properties, bioelements.

List of publications

1. Ponyrko A. O., Riabenko T. V. Comparative characteristics of bone tissue in rats of different age groups under induced hyperglycemia. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports (UJMBS)*. 2019. T. 4, № 5 (21). Pp. 67–71. (Personal contribution: participated in data processing, statistical processing of material). DOI: 10.26693 / jmbs04.05.067.

2. Ponyrko A. O. Microscopic structure and morphometric parameters of long tubular bones of senile rats with induced hyperglycemia. *Current issues of modern medicine*. 2019. T. 19, vip. 3 (67). Pp. 151–155. (Personal contribution: participated in data processing, statistical processing of material). DOI: 10.31718 / 2077-1096.19.3.151.

3. Ponyrko A. O. Influence of chronic hyperglycemia on the state of the musculoskeletal system (literature review). *Current issues of modern medicine*. 2021.

T. 21, vip. 1 (73). Pp. 184–187 (Personal contribution: participated in data processing, statistical processing of material). DOI: 10.31718 / 2077-1096.21.1.184.

4. Ponyrko A. O., Dmytruk S. M., Bumeister V. I. Biomechanical properties and macronutrient composition of long tubular bones of rats under experimental hyperglycemia. *The world of medicine and biology*. 2021. № 2 (76). Pp. 232–238. (Personal contribution: participated in the planning of the experiment, generalization of results, statistical processing of data). DOI: 10.26724 / 2079-8334-2021-2-76-232-238.

5. Ponyrko A. O., Bumeister V. I., Dmytruk S. M., Yarmolenko O. S., Teslyk T. P., Riabenko T. V., Shkolna I. I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Medical News*. 2021. № 74 (9 p.I). R. 2052-2059 (Personal contribution: participated in statistical data processing, generalization of material, writing an article). PMID: 34725275.

6. Ponyrko A. O., Bumeister V. I., Dmytruk S. M., Teslyk T. P. Morphological features of osteogenic cells in young rats under conditions of chronic hyperglycemia. *Bulletin of problems of biology and medicine*. 2021. № 2 (160). Pp. 231–235. (Personal contribution: participated in statistical data processing, generalization of material, writing an article). DOI: 10.29254 / 2077-4214-2021-2-160-231-235.

7. Ponyrko A. O., Teslyk T. P., Riabenko T. V. Structural and functional changes of osteoblasts under conditions of chronic hyperglycemia. *Notes of modern biology. Notes in Current Biology*. 2021. № 1 (1). Pp. 85-92. (Personal contribution: participated in statistical data processing, generalization of material, writing an article). DOI: <https://doi.org/10.29038/NCBio.21.1.85-92>.

8. Ponyrko A. O., Boyko V. O. Mineral density of the femurs of rats during experimental alloxan diabetes. V International Scientific and Practical Conference of Students and Young Scientists. *Current issues of theoretical and practical medicine: collection of abstracts*. (Sumy, April 20-21, 2017) pp. 75–76.

9. Ponyrko A. O. Dynamics of bone growth rates of young rats during induced type 1 diabetes mellitus. All-Ukrainian scientific-methodical conference dedicated to the

25th anniversary of the Medical Institute of Sumy State University: collection of abstracts. (Amounts. 16-17 November 2017) P.31.

10. Ponyrko A. O. Changing the chemical composition of long tubular bones of rats with diabetes mellitus type I. International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. (Sumy, 2018). Sumy: Sumy State University, 2018. R.101.

11. Ponyrko A. O. Features of morphological changes of the proximal epiphysis of the femurs of adult rats under the conditions of induced hyperglycemia. Collection of abstracts of the VII Congress of the Scientific Society of Anatomists, Histologists, Embryologists, Topanatomists of Ukraine (Odesa, October 2-4, 2019). Odesa, 2019. pp. 272–273.

12. Ponyrko A. O. Changes in bone mineral density in rats with chronic hyperglycemia. Current problems of morphology in theoretical and practical medicine (October 24-25, 2019). Chernivtsi, 2019. P. 88–90.

13. Ponyrko A. O., Sulim L. G. Influence of hyperglycemia on ultrastructural organization of long bones of rats. Priority directions of science development: the 5th International scientific and practical conference. (Lviv, 2020, March 2–3) 2020. P. 98.

14. Ponyrko A. O., Bumeister V. I., Teslyk T. P. Morphofunctional assessment of long tubular bones in young rats under the influence of chronic hyperglycemia. Modern problems of human morphology: coll. thesis add. All-Ukrainian scientific-practical conf. with international participation. (Kharkiv, September 23-25, 2020). Kharkiv, 2020. P. 69.

15. Ponyrko A. O., Bumeister V. I. Morphometric changes in the epiphyseal cartilage of senile rats under conditions of experimental hyperglycemia. Basic sciences - practical medicine: morpho-functional methods of research of ontogenetic transformations, physiological and metabolic processes, simulated pathological conditions, diseases of internal organs: Scientific-practical conference dedicated to the 80th anniversary of Professor Shutka BV). (Ivano-Frankivsk, September 30 - October 2, 2020). Ivano-Frankivsk, 2020. pp. 41–43.

ЗМІСТ

	С
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	23
ВСТУП	24
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО БУДОВУ КІСТОК ТА ЇХ ЗМІНИ НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ. (Огляд літератури)	32
1.1 Сучасні погляди на ріст, будову та формоутворення кісток скелета	32
1.2 Сучасні уявлення про вплив хронічної гіперглікемії на системи та органи	43
1.3 Морфологічні зміни опорно-рухового апарату за умов хронічної гіперглікемії	44
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	49
2.1 Загальна характеристика експериментального матеріалу	49
2.2 Методика проведення експерименту	50
2.3 Методи дослідження	52
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	61
3.1 Вікові особливості росту, будови та формоутворення кісток скелета тварин контрольної серії	61
3.2 Морфофункціональні особливості кісток скелета щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії	77
3.2.1 На 30-ту добу експерименту	78
3.2.2 На 60-ту добу експерименту	84
3.2.3 На 90-ту добу експерименту	89
3.2.4 На 120-ту добу експерименту	94
3.2.5 На 150-ту добу експерименту	98
3.2.6 На 180-ту добу експерименту	102

3.3	Морфофункціональні особливості кісток скелета щурів зрілого віку за умов хронічної експериментальної гіперглікемії	106
3.3.1	На 30-ту добу експерименту	106
3.3.2	На 60-ту добу експерименту	112
3.3.3	На 90-ту добу експерименту	117
3.3.4	На 120-ту добу експерименту	121
3.3.5	На 150-ту добу експерименту	125
3.3.6	На 180-ту добу експерименту	129
3.4	Морфофункціональні особливості кісток скелета щурів старечого віку за умов хронічної експериментальної гіперглікемії	133
3.4.1	На 30-ту добу експерименту	134
3.4.2	На 60-ту добу експерименту	138
3.4.3	На 90-ту добу експерименту	143
3.4.4	На 120-ту добу експерименту	147
3.4.5	На 150-ту добу експерименту	151
3.4.6	На 180-ту добу експерименту	153
	Висновки до розділу 3	159
РОЗДІЛ 4	АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	163
	ВИСНОВКИ	179
	ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	182
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	183
	ДОДАТКИ	202

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ДО – діаметр остеонів

ДР – діабетична ретинопатія

ДН – діабетична нейропатія

ДС – діабетична стопа

ІГХ – імуногістохімічне дослідженн

КС – кісткова система

КТ – кісткова тканина

МЩКТ – мінеральна щільність кісткової тканини

ОК – остеокласти

ОБ – остеобласти

ПД – площа діафіза

ПП – показник приросту

МДК – максимальна довжина кістки

ШПЕ – ширина проксимального епіфіза

ШДЕ – ширина дистального епіфіза

ШСД – ширина середини діафіза

ШКТ – ширина кісткових трабекул

ШЕХ – ширина епіфізарного хряща

ЦД – цукровий діабет.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Гіперглікемія є патогномонічним симптомом цукрового діабету. Захворювання виникає внаслідок гострого дефіциту інсуліну в організмі, або інсулінорезистентності, що супроводжується порушенням обміну речовин та розвитком патологічних змін у кістковій тканині, результатом чого є підвищення ризику переломів та пригнічення процесу їх загоєння [1; 2; 3; 4].

Актуальність дослідження проблеми цукрового діабету зумовлена значною поширеністю цього захворювання та тим, що він є базою для розвитку складних супутніх ускладнень та захворювань, основу яких складають діабетичні мікроангіопатії та нейропатії.

Існують різні думки щодо впливу гіперглікемії на ремоделювання кісткової тканини. За нормальних умов цей процес відбувається збалансовано та послідовно з метою підтримки кісткової маси впродовж всього дорослого періоду [4; 5]. Існує принаймні декілька гіпотез щодо патологічного ремоделювання кісток в умовах цукрового діабету (ЦД). Відповідно однієї, гіперглікемія пригнічує остеогенез (а саме функцію остеобластів) та посилює резорбцію (функцію остеокластів) [6, 7, 8, 9]. Щодо іншої то, за умов гіперглікемії на тлі пригнічення остеогенезу процес резорбції залишається неушкодженим чи знижується утворення, рухливість і активність остеокластів та остеобластів, це в підсумку призводить до втрати кісткової маси та ускладнення відновлення мікротріщин [10; 11].

Невелика кількість праць присвячена експериментальним дослідженням впливу цукрового діабету I типу на синтез регуляторних білків остеогенними клітинами за умов тривалої дії гіперглікемії. З огляду літературних джерел не було знайдено робіт, які досліджували вищевказану проблему у віковому аспекті на мікро- та ультрамікроскопічному рівнях з визначенням хімічного складу різних зон кісткової тканини та проведенням імуногістохімічних методів дослідження.

На сьогодні активно обговорюється питання співвідношення патологічних порушень кортикального й трабекулярного компонентів кісткового матриксу за умов дії гіперглікемії, а саме: зменшення кількості, щільності трабекул та збільшення трабекулярного простору в довгих трубчастих кістках, зменшення ширини ростової пластинки та кортикальної кістки в цілому та ін.), що обумовлюють відповідні порушення біомеханічних властивостей кісток [10; 12–15].

Патогенетичні механізми та морфологічна основа взаємозв'язку між гіперглікемією та кістками скелета є предметом дискусій уже тривалий час, адже відомо, що метаболізм глюкози досить тісно пов'язаний із метаболізмом кісткової тканини через регульовану секрецію гормонів – інсуліну, глюкагону, адреналіну та ін, які регулюють рівень глюкози в крові. [4; 7; 16].

Порушення кісткової тканини розглядається як коморбідний стан при Цукровому діабеті, механізми розвитку якого пов'язані з гіперглікемією та накопиченням у кістковому матриксі кінцевих продуктів глікування колагену, низьким рівнем інсуліноподібного фактору росту 1, аутоімунним запаленням [3; 7; 17; 18]. Деякі питання патоморфології і патофізіологічні механізми розвитку діабетичних порушень у кістках до сьогодні залишаються остаточно не з'ясованими. Передусім необхідно наголосити на відсутності єдиної думки стосовно особливостей порушення процесу мінералізації кісткової тканини за умов гіперглікемії. Деякі дослідники як основну характеристику діабетичної кістки описують та експериментально підтверджують зменшення її мінеральної щільності, що в свою чергу є причиною переломів [4; 19; 20; 21]. Необхідно відзначити і зовсім протилежні думки стосовно прямих та опосередкованих впливів гіперглікемії на остеогенез, які пов'язують із діабетичним остеопорозом на тлі нормальної чи навіть підвищеної мінеральної щільності кісткової тканини, що можна визначити як «діабетичний парадокс», або ж дисбаланс між внутрішньо– та міжфібрилярною мінералізацією колагену. Відтак ризик

переломів вважається наслідком низького опору кісток через зміни їх мікроструктури та обміну речовин [4; 22–25].

Саме детальне та різнобічне дослідження закономірностей перебудови кісткової тканини тварин різних вікових груп за умов гіперглікемії дасть змогу попередити розвиток тяжких ускладнень, якими супроводжується цукровий діабет I типу. Співвідношення між функціональною активністю остеогенних клітин (остеобластів і остеокластів) є одним із пріоритетних напрямків дослідження. Вікозалежні кількісні та якісні дефекти цих клітин, які настали внаслідок тривалої дії гіперглікемії на кістки скелету залишаються маловивченим та потребує додаткового та детального вивчення.

Отже, подальше дослідження діабет-асоційованих якісних і кількісних патологічних змін структури кісткової тканини є досить актуальним з огляду на важливість їх уточнення й удосконалення доказової бази для покращення ефективності профілактичних та лікувальних заходів. Дослідження результатів штучного моделювання діабет-асоційованих деструктивних процесів у кістках дозволить найбільш точно спрогнозувати напрямок та ступінь прояву патологічних змін, що підлягають відповідній корекції в клінічній практиці. Саме детальне й різнобічне дослідження закономірностей перебудови кісткової тканини в експерименті з хронічною гіперглікемією дасть морфологічну основу для попередження розвитку тяжких ускладнень, якими супроводжується цукровий діабет I типу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень Сумського державного університету МОН України і є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри морфології «Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень внутрішніх органів і кісткової системи за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції» (номер державної реєстрації НДР 0113U001347) та «Морфофункціональні аспекти порушення гомеостазу організму» (номер державної реєстрації 0118U006611).

Мета дослідження – дослідити вплив гіперглікемії на ріст, будову, хімічний склад, тривкісні характеристики довгих трубчастих кісток щурів залежно від віку та тривалості впливу патологічного чинника.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні задачі:

1. Дослідити ріст, будову, хімічний склад і тривкісні характеристики довгих трубчастих кісток скелета та біохімічні показники крові контрольної серії щурів молодого, зрілого й старечого віку з метою проведення коректного порівняльного аналізу одержаних даних із результатами експерименту.

2. Простежити залежність змін ростових параметрів кісток у залежності від тривалості дії гіперглікемії та віку тварин.

3. Виявити закономірності морфогенезу довгих трубчастих кісток скелета щурів за умов дії хронічної гіперглікемії в різні терміни спостереження.

4. З'ясувати вплив гіперглікемії на остеогенні клітини в різних локусах довгих трубчастих кісток скелета.

5. Визначити вплив гіперглікемії на ультраструктуру клітин у досліджуваних кістках.

6. Установити характер змін макро-, мікроелементного складу кісток щурів за умов хронічної гіперглікемії.

7. Визначити особливості змін тривкісних властивостей кісток щурів різних вікових груп за умов хронічної експериментальної гіперглікемії.

Об'єкт дослідження–структурно–функціональний стан кісткової тканини та зміна ростових показників довгих трубчастих кісток скелета щурів різних вікових груп за умов дії хронічної гіперглікемії

Предмет дослідження – морфофункціональні зміни довгих трубчастих кісток скелета щурів різних вікових груп у нормі та їх перебудова у динаміці перебігу хронічної гіперглікемії.

Методи дослідження:

– остеометрія – вивчення темпів росту та формоутворення кісток скелета;

- гістоморфометрія – вивчення структури кісткової тканини на світлооптичному рівні;
- імуногістохімічне дослідження (ІГХ) – визначення наявності та локалізації клітинних і тканинних компонентів (антигенів) у мікропрепаратах;
- біохімічний аналіз крові – визначення кількісних змін рівня глюкози та глікозильованого гемоглобіну в крові (контрольована гіперглікемія);
- трансмісійна електронна мікроскопія – визначення функціонального стану ультраструктури кісткових клітин;
- спектрофотометрія – визначення біоелементного складу трубчастих кісток;
- біомеханічний метод – визначення характеристик міцності, твердості та жорсткості довгих трубчастих кісток скелета;
- статистичний – визначення достеменних цифрових даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше в результаті морфологічного дослідження на експериментальному матеріалі, використовуючи сучасні методи дослідження, було проведене комплексне вивчення параметрів затримки росту, формоутворення, змін міцності й хімічного складу кісток за умов дії хронічної алоксанової гіперглікемії. Проведене дослідження визначається отриманням нових фактів, які підтверджують що хронічна гіперглікемія має негативний вплив на ріст і формування довгих кісток скелета, а також встановлений зв'язок між терміном дії експериментальної гіперглікемії, віку тварин та глибиною деструктивних змін в досліджених кістках.

Одержано нові дані про деструктивний вплив гіперглікемії на остеобласти і остеоцити та встановлено зв'язок між терміном дії експериментальної гіперглікемії та глибиною деструктивних змін в цих клітинах та проведено комплексний порівняльний аналіз остеогенного потенціалу клітин кісткової тканини різних вікових груп. Встановлено ультрамікроскопічні зміни остеогенних клітин та їх порівняння у віковому аспекті.

Уперше в умовах експерименту з використанням імуногістохімічного методу було доведено, що зі збільшенням терміну дії гіперглікемії на кістки

спостерігається значне порушення остеобластів та остеоцитів, що проявляється у незбалансованій та безконтрольній експресії регуляторних білків для ремоделювання кісткової тканини.

Отримані нові дані, щодо зміни біомеханічних властивостей окремих зон довгих трубчастих кісток та проведено порівняльний аналіз зміни цих показників у щурів різних вікових груп.

Практичне значення одержаних результатів. Об'єктивні дані дали можливість визначити морфологічні зміни в довгих трубчастих кістках скелета щурів молодого, зрілого та старечого віку за умов хронічної гіперглікемії. Спроектовані руйнівні процеси у кістках дають можливість прогнозувати спрямованість та ступінь деструктивних процесів кісткової тканини під впливом хронічної гіперглікемії. Результати дослідження поглиблюють знання щодо особливостей структурної перебудови та змін ростових показників у кістках під впливом хронічної гіперглікемії.

Отримані експериментальні дані можуть бути використані в лекційних курсах кафедр нормальної і патологічної анатомії, гістології, навчальних закладах біологічного профілю.

Одержані результати дослідження впроваджено в навчальний та науковий процес морфологічних кафедр: кафедри анатомії людини імені М. Г. Туркевича Буковинського державного медичного університету, кафедри нормальної анатомії людини Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету, кафедри анатомії людини Харківського національного медичного університету; кафедри анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету, кафедри анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету, кафедри

патологічної анатомії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету.

Особистий внесок дисертанта. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Автору належить основна ідея розроблення та проведення теоретичного і практичного напрямків роботи. Автором здійснений інформаційний пошук літературних даних, самостійно виконані всі експериментальні дослідження, статистичне опрацювання та узагальнення результатів і сформульовані висновки. Дисертантом підготовлені всі праці до друку та виступів на конференціях.

Апробація результатів дослідження. Результати досліджень, що входять до дисертації, обговорені на: IV Міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених (Суми, 21–22 квітня 2016 р.), Всеукраїнській науково-методичній конференції, присвяченій 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету (Суми, 16–17 листопада 2017 р.), International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. (Sumy, October 17-19, 2018 р.), VII Конгресі наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України (Одеса, 2–4 жовтня 2019 р.), науково-практичній конференції за міжнародної участі, приуроченої 75-річчю з дня заснування Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині (Чернівці, 24–25 жовтня 2019 р.), Abstracts of V International Scientific and Practical Conference (Lviv, Ukraine 2–3 March 2020 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції за міжнародної участі Сучасні проблеми морфології людини (Харків, 23–25 вересня 2020 р.), науково-практичній конференції «Фундаментальні науки – в практичній медицині: морфо-функціональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів при захворюваннях внутрішніх органів, присвяченої 80-річчю з Дня народження професора Шутки Б. В. (Івано–Франківськ, 30 вересня–2 жовтня 2020 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових статей, із них 4 статей в наукових виданнях, включених до переліку наукових фахових видань України з присвоєнням категорії «Б». 1 стаття опублікована у закордонному науковому виданні, який реферується наукометричною базою Scopus і віднесеного до четвертого квартилу (Q 4) відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank та 1 стаття у вітчизняному науковому виданні, який реферується наукометричною базою Web of Science, 1 стаття, що включена до фахових видань медичного спрямування та 8 праць – у вигляді тез доповідей у матеріалах конгресів та науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації

Дисертація викладена українською мовою на 236 сторінках і складається з анотації, вступу, чотирьох розділів «Огляд літератури», «Матеріали та методи дослідження», «Результати власних досліджень», «Аналіз та узагальнення результатів власних досліджень», висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і додатків. Обсяг основного тексту – 141 с. Робота містить 58 рисунків, 4 таблиці та список цитованої літератури із 176 найменувань (41 кирилицею та 135 латиницею) та 4 додатки.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО БУДОВУ КІСТОК
ТА ЇХ ЗМІНИ НА ТЛІ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ.
(Огляд літератури)

1.1 Сучасні погляди на ріст, будову та формоутворення кісток скелета

Основною структурно-функціональною одиницею скелета є кістка. Це живий функціонуючий орган, якому притаманна значна пластичність [26; 27; 28].

Основна функція кістки – опорно–механічна. Кістки також беруть участь у забезпеченні захисту життєво важливих органів від механічних пошкоджень завдяки значній міцності, вони виконують функцію опори і забезпечують переміщення тіла в просторі. Кістки – це депо кальцію і фосфору в організмі, містять вітаміни А, D, С та інші [29; 30].

Специфічною властивістю кісткової тканини є її здатність до ремоделювання впродовж усього життя. Структурною основою ремоделювання є процеси резорбції та кісткоутворення. Неогенез кісткової тканини супроводжується активною проліферацією клітинних елементів та одночасним накопиченням аморфної речовини. Процес резорбції та відновлення основних структурних компонентів кісткової тканини можуть змінюватися залежно від віку, діяльності залоз внутрішньої секреції, харчування та інших факторів [31-33].

У кістках постійно відбуваються динамічні зміни, що пов'язані з обміном речовин, вони супроводжуються руйнуванням старих та утворенням нових кісткових трабекул та остеонів. Динамічність і пластичність кісткової тканини сприяють тому, що вона є одним із важливих факторів гомеостазу організму, таких як: підтримання загального метаболізму, активна участь в обміні солей, макро- та мікроелементів. Досить важливим фактором є також те, що пластичність кісткової тканини стосується як неорганічних, так і органічних компонентів [21; 22; 26; 29].

Однією з основних функцій кістки є функція опори, це передбачає певну постійність складових хімічних елементів, що забезпечують необхідні міцнісні характеристики кістки. Співвідношення органічних і мінеральних речовин у кістковій тканині змінюється з віком. Так, у дитячому віці значно переважають органічні речовини, в дорослому – мінеральні. У відсотковому співвідношенні частка мінеральних складових у дорослої людини становить близько 60–70 % маси кістки, а органічні речовини складають – 30–40 % [34–36].

Кісткова система є досить динамічною, вона відрізняється значною чутливістю до змін внутрішніх процесів в організмі – гуморальної, нервової регуляції, обмінних, генетичних та імунологічних впливів, вона також є чутливою до змін хімічних і фізичних факторів навколишнього середовища [37; 38]. Ці фактори необхідно враховувати під час моделювання експерименту. Саме тому під час моделювання біомеханічних, патофізіологічних станів у кістках потрібно використовувати комплексний підхід. А отже, вивчаючи функціональні особливості будови кісток, потрібні комплексні знання про структуру, функції та закономірності їх росту.

Кістки скелета відповідають структурним потребам організму, тому вони мають певну форму, будову, розмір, виконують специфічні функції і властивий лише їм розвиток [38].

Залежно від розміщення колагенових фібрил розрізняють два основних типи кісткової тканини: грубоволокнисту (первинну) – з відносно пухкими та неупорядкованими колагеновими волокнами, та пластинчасту (вторинну, зрілу) – вона складається з пластинок товщиною від 4 до 15 мкм, що складаються з остеоцитів і тонковолокнистої міжклітинної речовини, волокна в товщі кожної пластинки розміщені паралельно та орієнтовані в певному напрямку [39; 40].

В залежності від розташування кісткових пластинок, розрізняють компактну (кортикальну) і губчасту (трабекулярну) кістки. Компактна переважно складає діяфізи, а губчаста – епіфізи трубчастих кісток [40]. Пластинчаста КТ становить основу компактною та губчастою речовин майже всіх плоских і

трубчастих кісток у співвідношенні 4:1 [41]. Компактні кістки складають до 80 % скелета, їх основна функція – захисна, проте вони можуть брати участь у метаболічній відповіді при тяжкому або тривалому мінеральному дефіциті [41, 42]. Структурною одиницею компактної кістки є кісткові пластинки, вони є основними структурними компонентами остеонів та складають основу компактної й губчастої речовини. Структурно функціональною одиницею кістки є остеон, або гаверсова система [39; 40; 41].

Розрізняють три види клітин КТ: 1) остеобласти – молоді, малодиференційовані клітини, що продукують кістковий матрикс, за їх рахунок утворюється кісткова тканина; 2) остеоцити – це основні високодиференційовані клітини кісткової тканини, що розвиваються з остеобластів. Остеоцити підтримують нормальний стан міжклітинної речовини (кісткового матриксу), але рівень синтетичних процесів у них нижчий порівняно з остеобластами. Вони становлять 90 % всіх клітин дорослого скелета; 3) остеокласти – це великі багатоядерні клітини з мікрворсинками. Вони резорбують кісткову тканину з утворенням кісткових порожнин. Остеокласт є спеціалізованим макрофагом, попередником якого може бути моноцит крові [42–45].

Остеобласти розміщуються в місцях новоутворення тканини, у сформованій кістці знаходяться в окісті та місцях регенерації. Вони синтезують велику кількість міжклітинної речовини, колаген I типу з проколагену, також білки та колагенові волокна, що утворюють органічний кістковий матрикс – остеїд. Також вони синтезують неколагенову фракцію білків кісткового матриксу, яким належить провідна роль у його мінералізації. Це остеокальцин, остеопонтин, остеонектин [42]. Остеокальцин та остеопонтин – основні неколагенові білки кістки, що беруть участь у зв'язуванні кальцію і гідроксиапатитів. Основна частина остеобластів синтезують кісткову тканину доки не настане припинення їх функцій (смерть клітини). За допомогою системи каналців вони пов'язані з остеоцитами. Остеобласти інкапсулюються в остеїдний матрикс та диференціюються в остеоцити [42; 45; 46]. Популяцію остеобластів у дорослому

віці підтримують клітини внутрішнього шару окістя [47]. Тривалість життя остеобластів—від 3 днів до 8 тижнів, упродовж цього часу вони збільшують остеїд на 0,5–1,5 мм за добу [48].

Остеоцити – найчисленніший тип клітин кісток, вони становлять до 90 % від усіх кісткових клітин. Це зрілі високодиференційовані клітини, що мають велику кількість довгих і тонких відростків та розміщені в кісткових лакунах. Вони синтезують компоненти кісткового матриксу, беруть участь у процесі остеолізу та мають безпосередній вплив на остеокласти і приймають участь у резорбції кістки [48; 49].

Унаслідок деструкції остеоцитів вивільняється велика кількість лізосомних ферментів і відбувається остеоліз кісткової тканини. Основною їх функцією є передача механічного та хімічного сигналів до остеобластів, а через них – остеокластам. Цей процес необхідний для запускання процесів ремоделювання кісткової тканини як у нормі, так і в патологічних умовах. Остеоцити вловлюють інформацію про механічні пошкодження і передають сигнал остеокластам [42].

Остеокласти – це гігантські багатоядерні клітини кістково-мозкового походження, що забезпечують резорбцію компонентів кісткового матриксу. Вони розташовані на поверхні кістки в незначних заглибинах (ерозійні лакуни або лакуни Хаушипа) [45; 47]. Остеокласти секретують іони водню й протеолітичні ферменти (катепсин К, цистеїнпротеазу та ін.) і виділяють через мембрану продукти розпаду в навколишній простір. Джерело походження остеокластів це макрофагально–моноцитарні клітини кісткового мозку [42; 44; 45].

Міжклітинна речовина КТ складається з органічного й мінерального компонентів. Неорганічні компоненти становлять близько 60 %, органічні – 30 %, на частку клітин і води припадає близько 10 %. Міжклітинна речовина кістки складається з основної речовини – остеоїду, він містить значну кількість неорганічних елементів [40].

Колагени є основою органічного матриксу (95 %), з яких 90 % – це колаген I типу [32; 50]. 5 % міжклітинної речовини становлять неколагенові білки (остеокальцин, остеонектин, кісткові сіалопротеїни, протеоліпіди та ін.) [30].

Губчаста речовина кістки побудована з рядів взаємозв'язаних кісткових пластинок, що перетинаються в різних напрямках, утворюючи систему порожнин та отворів. Відповідна будова забезпечує більшу площу поверхні й надає механічної міцності кістці [38; 51].

Компактна речовина утворена з кісткових пластинок, що розміщені в певному порядку і формують остеони. Вона відрізняється однорідністю й твердістю. У компактній речовині можна виділити три шари: зовнішній шар оточуючих кісткових пластинок, середній – остеонний, внутрішній – шар оточуючих кісткових пластинок.

Остеонний шар є системою паралельних циліндрів – остеонів. З боку періосту через зовнішні оточуючі пластинки до остеонів проходять живильні судини та колагенові волокна. Тут також наявні вставні пластини, що є залишками раніше сформованих гаверсових систем, зруйнованих у процесі реконструкції [52; 53]. Канали остеонів сполучаються між собою й утворюють складну систему, що забезпечує метаболізм і розвиток кістки [53].

Зовні кістка вкрита окістям або периостом. В окісті виділяють два шари: зовнішній фіброзний і внутрішній камбіальний, або остеогенний. Через окістя проходять численні кровоносні судини і нерви, вони забезпечують метаболізм кістки [54].

Ендост – це сполучнотканинний шар, що вистилає кістку з середини. Ендост та його структурні компоненти трапляються на поверхні трабекул і балок губчастої речовини та на стінках центральних каналів гаверсових систем [55]. Між періостом та ендостом існує мікроциркуляція рідини і мінеральних речовин за рахунок лакуарно–каналцевої системи в кістковій тканині.

Кістки скелета постійно зазнають динамічної мікроструктурної перебудови (ремоделювання). Ремоделювання – взаємозв'язаний процес резорбції й

формування нової кісткової тканини, він потребує координації та співпраці всіх типів клітин кісткової тканини, а саме остеоцитів, остеобластів та остеокластів [56]. Ці клітини складають базисні мультиклітинні одиниці (БМО). Це досить активні клітинні й тканинні взаємодії та хімічні перетворення, що забезпечують адаптацію до зміни напруги в кістках, змін умов середовища та підтримання внутрішнього гомеостазу. Упродовж усього життя відбувається постійне оновлення кісток, що проявляється в резорбції окремих незначних ділянок кістки з одночасною осифікацією. Цей процес має важливе значення, тому що дозволяє згладжувати мікротравми та мікротріщини, які виникають упродовж життя. Щорічно оновлюється 25 % трабекулярної маси та 2–3 % кортикальної кісткової тканини. Відомо, що в дорослому організмі в стані спокою знаходиться до 80 % трабекулярної та 95 % кортикальної кісткової тканини [56]. Кісткова тканина руйнується та перебудовується на момент її утворення, руйнується грубоволокниста кістка, з часом заміщуючись тонковолокнистою або пластинчастою, в пластинчастій кістці починаючи з моменту її закладки, постійно відбувається перебудова. Проте співвідношення кісткоутворення та руйнування різне в різні вікові періоди [55; 56].

У молодому віці процес формування КТ переважає над резорбцією, в зрілому віці ці процеси зрівноважені, проте в старечому віці резорбція починає переважати над формуванням, і в результаті цього спостерігається активна втрата кісткової маси. При цьому в кортикальній кістці кістковий обмін протікає повільніше, а в трабекулярній – дещо інтенсивніше. У трубчастих кістках ремоделювання здійснюється на трьох поверхнях: періост, ендост, та в системі гаверсових каналів [57–59]. У процесі ремоделювання відбувається руйнація міжклітинного матриксу та формування ерозійних лакун. Остеобласти приєднуються до матриксу та формують нерівну межу в місці розділення кістки з остеокластом, він окиснює мікросередовище навколо себе й розчиняє органічний і неорганічний матрикс кістки [60]. Після закінчення резорбції в цьому місці з'являються остеобласти. Вони відкладають остеїд та, як наслідок, мінералізують

його кальцієм і фосфатом за рахунок дії остеокальцину, остеопонтину та лужної фосфатази [56, 59]. Водночас одна частина інкапсулюється в остеоїдний матрикс та перетворюється на остеоцити. Інша продовжує синтезувати кісткову тканину аж до припинення їх функції, а потім перетворюється на неактивні клітини [58; 60].

Відомо, що остеобласти та остеоцити за допомогою експресії рецептора – активатора ядерного фактору RANKL – активізують остеокласти, він зв'язується з рецепторами на мембрані остеокластів та запускає процес їх активації й диференціації [56]. Як наслідок, активовані остеокласти розпочинають процес резорбції кісткової тканини, спочатку розчиняючи неорганічні та органічні компоненти соляною кислотою і катепсином К [42; 49; 56].

Кальцинація та декальцинація міжклітинної речовини відбувається впродовж усього життя [61]. Паралельно з руйнацією відбувається посилений синтез і накопичення міжклітинної речовини. Остеобласти синтезують білок остеопонтин, що бере активну участь у процесі мінералізації клітинного матриксу. Остеопонтин та остеокальцин також стимулюють переміщення клітин попередників остеокластів до локусу дефекту кістки й диференціювання остеокластів до зрілих клітин. Отже, регуляція ремоделювання КТ є наслідком взаємодії між ОК та ОБ. Одну з досить важливих ролей у формуванні, диференціюванні та активації ОК відіграє система RANKL – RANK – OPG. На сьогоднішні достовірно невідомо що є пусковим механізмом початку резорбції окремих ділянок кісткової тканини [57–59].

Ремоделювання в трабекулярній і кортикальній кістковій тканині дещо відрізняється. Проте ці відмінності здебільшого мають морфологічний характер, а не біологічного. У кортикальній кістковій тканині формується циліндрична трубка, яка поступово занурюється в кістку. На верхівці розташовується близько 10 остеокластів, що “ріють” циркулярний тунель «ріжучий конус», за ними знаходяться тисячі остеобластів, що замикають конус. Вони відкладають остеоїд та мінералізують його [60; 61].

Процес ремоделювання в трабекулярній кістковій тканині переважно поверхневий. Він відбувається приблизно в 10 разів активніше ніж у кортикальній кістці, внаслідок переважання площі над об'ємом. Остеокласти в цьому разі формують траншею глибиною до 40–60 мкм, потім утворюють нову кісткову тканину. В наслідок цього формується трабекулярний остеон, або геміостеон [60; 43; 62]. Останні дослідження засвідчили, що регуляція ремоделювання здійснюється гормонами, такими як: паратгормон, тироксин, кортизол, соматотропін, кальцитонін. Вони безпосередньо впливають на процеси резорбції та остегенезу у кістковій тканині. Серед перелічених гормонів можна виділити ті, що регулюють обмін кальцію в організмі, такі як кальцитонін, паратгормон, інсулін, та ін. Також нормальне функціонування і формування нової кісткової тканини неможливе без дії вітаміну D [42; 60]. Гуморальні фактори, наприклад, такі як інсуліноподібний фактор росту (IGF–1) сприяють формуванню кісткової тканини. Також було виявлено, що безпосередньо інсулін викликає остеогенну дію за рахунок збільшення проліферації клітин, їх диференціювання, експресії колагену I типу та остеокальцину в остеобластах [56; 58; 63].

Однією з функцій кісток є депонування хімічних елементів, саме тому вивчення макроелементного складу кістки є досить важливим для з'ясування ролі патологічних чинників у розвитку діабетичних змін у кістках. Оскільки низка хімічних елементів бере активну участь у реакціях, що відбуваються в остеогенних клітинах, відповідно в разі їх дисбалансу порушуються остеобластична й остеокластична диференціація, процеси міжклітинної взаємодії, що призводять до комплексного порушення структури та біомеханічних властивостей кісток. Специфічні фізичні властивості кісток роблять можливим належне виконання їх функцій, це можливо за рахунок вдалого поєднання високого ступеня твердості й одночасно пластичності. Основою цього явища є особливості неорганічного та органічного компонентів кісткового матриксу [64]. До 80 % загальної маси органічної частини кісткового матриксу – це білок колаген, він виконує опорну та регуляторну функції. Близько 65 % кісткової

тканини становить неорганічний компонент КТ [65; 41]. До основних неорганічних компонентів неорганічного матриксу відносять: кальцій, його вміст становить 90 %, фосфор – 87 %, магній – 58 %, натрій – 46 % від загальної кількості в організмі. Кальцій кісткової тканини постійно обмінюється з Ca^{+2} позаклітинної рідини відіграє ключову роль у передачі сигналів, проліферації, апоптозу, диференціювання клітин [66].

Установлено більше ніж 30 остеотропних елементів, що становлять як органічну так і неорганічну складову кісток. Серед яких можна виділити декілька груп, що беруть активну участь у метаболізмі кісткової тканини: 1) активатори кісткової мінералізації – Cu, Mn, F; 2) активатори кісткової резорбції – Zn, Mg, 3) активатори остеогенних клітин та ферментів – Zn, Mg.

Біомеханічні властивості кісток можна також оцінювати і за співвідношенням Ca^{+2}/P (із його збільшенням КТ стає механічно тривкісною) [66; 67]. Водночас для організму різного віку властива певна динаміка зміни рівня Ca в кістках. Установлено, що вміст кальцію в кістках поступово збільшується в молодому віці, доки не досягне «піку кісткової маси», а потім починає повільно зменшуватися з віком [66], інтенсивність обміну Ca в похилому віці також значно зменшується [68]. Потрібно зазначити, що фізико–хімічні властивості кісток багато в чому залежать від взаємовідношення між кристалами неорганічної речовини з органічним матриксом, в якому вони знаходяться [66; 67].

Як уже зазначалося, мінеральний склад кісток тісно пов'язаний із віковими змінами [68]. Після 25–річного віку незалежно від статі починається втрата кісткової маси із середньою швидкістю 1 % в рік. У жінок у період втрати репродуктивної функції впродовж перших 5–7 років вона може досягати 2–3 % за рік [44]. Як наслідок, до 70 років відносна маса губчастої кістки зменшується на 60 % [45]. Цей процес розвитку остеопорозу відповідає періоду виникнення переломів кісткової тканини, які можна розглядати як одну з найважливіших та досі не вирішених проблем здоров'я суспільства [44]. Проте остеопороз лише збільшує ризик перелому кісток, проте не є його причиною. У зв'язку з цим

першочергово виникає необхідність дослідити та пояснити патогенні причини виникнення переломів.

Після втрати репродуктивної функції відмічається збільшення глибини остеокластичної резорбції, яка локалізується з однієї або з обох сторін кісткової трабекули, це призводить до її перфорації при нормальній товщині. Остеокласти переважно «атакують» більш тонкі пластини. Виникає генералізоване стоншення трабекул, це робить їх більш уразливими до руйнації [44]. У старечому ж віці значно посилюються процеси резорбції, які призводять до зменшення МЩКТ.

Трабекули формують решітку вони мають дуги опори вони синхронізовані з основними лініями передачі фізіологічних навантажень від хрящової поверхні до діафіза [44]. Навантаження на кістку спричиняють локальні деформації за межами клітинного матриксу, які сприймаються клітинами кістки, як сигнали, для запуску процесу механотрансдукції [44; 45]. Поступова зміна механічних властивостей кісток із віком викликана накопиченням структурних зсувів, що формуються на всіх рівнях організації скелета. Зміна механічних властивостей збільшується в процесі накопичення ультраструктурних зсувів позаклітинного матриксу, зокрема, накопичення частки мінерального компонента та зменшення водної й органічної фракцій [45]. Збільшення кристалічності призводить до зниження розчинності мінералів [46] та відповідно до збільшення їх розмірів, у зв'язку з цим збільшується об'єм цих структур із витісненням води й органічної фракції з позаклітинного матриксу [45]. Наведені зсуви зумовлюють зменшення міжмолекулярних проміжків в які інтегрована остеоцитарна сітка. Так, якщо в період росту та розвитку організму каналці короткі й широкі, а в зрілому віці вони стають більш розгалужені, то в старечому віці їх діаметр та кількість зменшується [44].

Під час старіння мінералізація кісткового матриксу збільшується більше ніж на 12 % [46]. У старечому віці частка мінералізованих остеонів становить 40 % від загальної кількості, водночас у молодому віці вона не перевищує 10 %. За даними

J. C. van der Linden та співавторів, збільшення мінералізації кістки на 5–10 % призводить до підвищення її ригідності на 16–33 % [46].

З віком, окрім збільшення кристалічності, в кістковій тканині також відмічається фізіологічне стоншення трабекул, яке протікає зі швидкістю 0,6 % в рік при зниженні її середньої величини до 120 μm та дещо менше в проксимальному епіфізі стегнової кістки. Трабекулярна кісткова тканина вважається більш остеопоротичною за кортикальну [44; 45]. Одночасно зі стоншенням кісткових трабекул відбувається збільшення кількості одиниць ремоделювання, що припиняють свій розвиток після фази реверсії, це призводить до утворення пустих лакун резорбції. Поява цих порожнин з обох сторін призводить до послаблення структури трабекули підвищуючи ймовірність її руйнації [45]. З віком при старінні процес ремоделювання часто призупиняється на стадії резорбції. Поступово стоншуються та руйнуються поперечні трабекули. У разі зникнення поперечної підтримки збільшується довжина поздовжніх трабекул. У наслідок цього трабекули стають більш роз'єднані а трабекулярна зчепленість знижується, що також призводить до руйнації під час механічного навантаження [45; 46].

Відповідно до даних деяких авторів істотних ультраструктурних відмінностей між кортикальною й трабекулярною тканиною майже не спостерігається. Проте згідно з дослідженнями щодо визначення мікротвердості трабекул можна зазначити, що кортикальна кістка має дещо більший ступінь мікротвердості, ніж трабекулярна. Ця відмінність може бути зумовлена такими факторами, як мінеральний склад, який у трабекулярній кістці дещо нижчий, ніж у кортикальній, та гірше організованою орієнтацією пластинок та кристалів трабекулярної кістки, аніж у кортикальній [44; 45; 46].

Як було зазначено, кісткова тканина з віком стає більш мінералізованою та відповідно ригідною. Як наслідок стоншення трабекул можна пояснити як результат адаптаційних змін, що направлені на збереження величини деформації. Трабекулярна архітектура кістки в нормі має таку структуру, що здатна витримати

високий рівень деформації, проте зниження трабекулярної щільності під час старіння може бути викликане руйнацією трабекул під навантаженням та деформації при згинанні [44].

Провівши огляд літературних джерел із сучасних уявлень про будову кісток, стає зрозумілим, що знання в цьому аспекті вкрай необхідні під час розгляду питань щодо впливу екзогенних та ендогенних факторів на кісткову систему, серед яких особливе місце займає гіперглікемія.

1.2 Сучасні уявлення про вплив хронічної гіперглікемії на системи та органи

Цукровий діабет займає третє місце за смертністю після серцево–судинної патології та злоякісних пухлин, він характеризується проявом гострих хронічних ускладнень [69]. У дорослому віці особи з діабетом мають високий ризик розвитку інфаркту та інсульту. Ризик смертності серед осіб, хворих на цукровий діабет, майже вдвічі більший за осіб того ж віку, які не хворіють на цю хворобу. У світі 6,2 % смертей пов'язані з цукровим діабетом [43].

В основі ЦД лежить порушення секреції інсуліну, а наслідок деструкції β -клітин підшлункової залози, це призводить до низки патологічних порушень структур та функцій майже всіх тканин організму за рахунок глюкозотоксичності й ліпотоксичності з подальшим розвитком судинних ускладнень [25; 26; 70].

Хронічна гіперглікемія може бути причиною дисфункції багатьох органів, насамперед нирок, очей, нервів, органів серцево–судинної системи. Саме тому ЦД є хворобою ускладнень, він є одним із найбільш витратних захворювань і посідає одне з провідних місць серед причин втрати працездатності [43]. Низка дослідників встановила високу частоту випадків ЦД серед осіб із різними факторами ризику, а саме осіб з артеріальною гіпертензією, ішемічною хворобою серця, ожирінням, хворобами печінки та підшлункової залози, атеросклерозом [71; 72]. Серед найчастіших ускладнень знаходяться – ураження судин дна ока та нирок, судин нижніх кінцівок, нервової системи [73; 74].

Під дією гіперглікемії в осіб часто виявляється катаракта чи глаукома, а також спостерігаються морфологічні й функціональні порушення печінки. Поміж супутніх захворювань особливе місце посідає туберкульоз, серед хворих на цукровий діабет він спостерігається в 2–3 рази частіше, ніж у здорових осіб [75; 76].

Поряд із серцево–судинною й видільною системами гіперглікемія впливає на структурну організацію та метаболізм кісткової тканини, що підвищує ризик перелому [77]. У зв'язку з цим важливим напрямком досліджень є вивчення змін в організації кісткової тканини за умов дії хронічної гіперглікемії та механізмів, що призводять до порушення структури і метаболізму кістки. Відомо, що гормон інсулін має значну роль у підтримці мікроархітектоніки кістки, диференціюванні преостеобластів в остеобласти, він має прямий вплив на кісткову тканину [44; 45]. Як наслідок гіперглікемія викликає пригнічення диференціювання остеобластів, а також до неферментативного глікування білків, зокрема колагену, це в подальшому порушує їх функцію [74]. Наслідком хронічної гіперглікемії може бути порушення якості кістки, показником якої є МЦКТ та її структурно–метаболічні особливості [78].

Негативний вплив гіперглікемії в свою чергу порушує процеси метаболізму Са у організмі. Гормон інсулін посилює всмоктування кальцію (Са) також в кишківнику, сприяє збільшенню захоплення амінокислот і включенню їх у кісткову тканину [79].

1.3 Морфологічні зміни опорно–рухового апарату за умов хронічної гіперглікемії

Цукровий діабет становить групу пандемічних виснажливих метаболічних захворювань, про це свідчать його поширеність та зміни, що виникають у більшості органів і систем [56]. За даними Міжнародної федерації діабету, це захворювання є причиною 5,1 млн смертей; від цього захворювання кожні шість секунд у світі помирає 1 хворий [43].

Поширеність діабету в Україні збільшилася за останні 10 років майже на половину; 3 % первинної інвалідності дорослого населення в Україні є наслідком захворювання на цукровий діабет [43]. Останніми роками відмічається тенденція до більш раннього прояву цієї хвороби. Тому потрібно розглядати вплив цукрового діабету не лише в окремому віковому періоді, а й комплексно спостерігати за змінами різних систем та органів упродовж усього періоду тривалості життя. Саме тому ми вирішили розглянути вплив гіперглікемії на кістки скелету в різних вікових категорій щурів.

У хворих унаслідок згубної дії гіперглікемії сильно порушений обмін речовин, вуглеводів, мінеральних речовин, білків і т.п [80; 81]. Незважаючи на значні успіхи в сучасній діагностиці цукрового діабету та новітні досягнення у вивченні патогенезу цього захворювання, ряд питань залишаються відкритими [82; 83]. Експериментальна діабетологія має велике значення для вивчення патогенезу цього захворювання. Тривалий час проводились багаточисленні дослідження [84; 85] з приводу впливу гіперглікемії на різноманітні системи організму, а саме: на імунну, репродуктивну, серцево-судинну, видільну системи та ін. Загалом проблему гіперглікемії вивчали багато років і в цьому напрямку існує значна кількість наукових праць як вітчизняних, так і зарубіжних учених [86; 87; 88]. Проте досліджень, що демонструють патологічні зміни довгих трубчастих кісток одночасно в різні вікові періоди недостатньо для комплексної оцінки впливу патологічного чинника.

Дані про зміну росту, формування, хімічного складу та тривкісних характеристик кісток скелета за умов дії на організм гіперглікемії дають нові уявлення про реакцію кісткової тканини з урахуванням вікових особливостей організму. Мінеральний склад кістки тісно пов'язаний із віковими змінами. З віком мінеральна насиченість кісток зростає, знижується вміст води, органічних речовин, що призводить до зменшення загальної обмінної поверхні посилення крихкості кістки [10; 89; 90; 91].

Як уже зазначалося важлива роль у процесі формування кістки належить гормону інсуліну, який надає стимулюючий вплив на кістковий матрикс і формування хряща, у зв'язку з цим він вважається одним із ключових гормонів, що формує нормальний ріст і розвиток кісткової тканини [92; 93]. Унаслідок зменшення рівня інсуліну в організмі відбувається підвищення рівня глюкози (гіперглікемія), це сприяє патологічним змінам як у хрящовій тканині так і в різних локусах довгих трубчастих кісток. У разі гіперглікемії розвивається остеопенія, що проявляється зниженням щільності кісток за рахунок порушення обміну кальцію [94; 95; 96]. Також однією з причин порушення структурної організації кісток при гіперглікемії є дефіцит кальцію [97; 98; 99]. Високий рівень гіперглікемії негативно позначається на обміні вітаміну D [100; 101]. Він відіграє значну роль у резорбції й утворенні кістки, порушення його обміну призводить до остеопенії та остеосклерозу. Гіперглікемія стимулює утворення остеокластів при ряді станів, включаючи загоєння переломів та остеопороз [102; 103; 104; 105].

Доведено, що при хронічній гіперглікемії відмічається значне порушення мінералізації кісткової тканини [106; 107; 108; 109]. У дітей за умов гіперглікемії спостерігається зниження формування КТ та неадекватне наростання «пікової маси» кісток. Саме ці процеси лежать в основі зниженої кісткової маси та остеопорозу в майбутньому [109; 110; 111]. Функціональна фізіологічна перебудова кісток відбувається в нормі завдяки збалансованим процесам моделювання та ремоделювання, що проходять паралельно. З початком періоду статевої зрілості та наближенням до піку кісткової маси темпи остеогенезу поступово зменшуються [4; 113; 114; 115]. Більшість дослідників вказують на те, що при хронічній гіперглікемії є порушення якості кістки та її структурно-метаболічних особливостей [116–119].

Значний дефіцит гормону інсуліну при гіперглікемії відбивається на метаболізмі факторів росту кісток. Як уже зазначалось згубна дія хронічної гіперглікемії порушує метаболічну функцію остеобластів, що в свою чергу впливає на зниження біосинтезу остеокальцину, остеонектину, остеопонтину.

Відтак, зафіксовано зниження інсуліноподібного фактору росту-1, що стимулює остеобласти до біосинтезу білків кісткового матриксу, та його мінералізації [120; 121; 122]. Гіперглікемія має значний негативний вплив на метаболізм кістки. Відомо, що глюкоза являється основним енергетичним джерелом для остеокластів, пропорційно підвищуючи їх резорбційну активність [123; 124; 125]. Крім того, гіперглікемія призводить до неферментативного глікозування білків кісткового матриксу, в тому числі і колагену I типу, що порушує якість кістки [126; 127; 128; 129]. Високі концентрації глюкози сповільнюють ріст клітин та мінералізацію, сприяють накопиченню адипоцитів у кістковому мозку, а це в свою чергу сприяє зменшенню кількості остеобластів [130; 131; 132; 133].

Таким чином, сучасні дослідження характеризують кістку як таку, що має активний метаболізм та достатньо високий ступінь реактивності, для неї властиве явище постійної перебудови за рахунок проліферації кісткових клітин і процесів резорбції. Провівши огляд літератури, можна знайти значну кількість літератури щодо вивчення впливу гіперглікемії на серцево-судинну, нервову, сечовидільну, репродуктивну жіночу системи та ін., а от дія хронічної гіперглікемії на довгі трубчасті кістки, на нашу думку, все-ще залишається маловивченою.

Резюме до розділу 1

Таким чином, аналіз літературних джерел свідчить, що кісткова тканина має активний метаболізм із достатньо високим ступенем реактивності, для неї характерне явище постійної перебудови за рахунок проліферації кісткових клітин і процесів резорбції. Ураховуючи зазначене, можна сказати, що гіперглікемія викликає деструктивні зміни у кістках. Проаналізувавши численні дослідження можна сказати, що до цього часу до кінця залишаються нез'ясованими механізми розвитку цукрового діабету I типу. Саме це мотивує дослідників до подальших експериментальних досліджень в цій галузі, пошуку, створення та впровадження нових сучасних методик та систем діагностики цукрового діабету для попередження тяжких ускладнень перебігу хвороби в подальшому.

Досить велика кількість наукових праць присвячена дослідженням впливу гіперглікемії на кісткову систему, це стосується різних кісток скелета, найчастіше – це кістки нижньої кінцівки та поперекові хребці. З огляду літературних джерел не було знайдено робіт, які б досліджували та порівнювали вищевказану проблему у віковому аспекті на мікро- та ультрамікроскопічному рівнях. Це стало підставою для проведення експерименту з моделювання гіперглікемії в щурів різних вікових груп, порівняння та дослідження показників зміни структурних та морфологічних особливостей росту, будови, хімічного складу, біомеханічних параметрів кісток скелета у піддослідних тварин й виявлення залежності зміни остеогенних клітин відповідно до тривалості дії патологічного чинника в різних локусах довгих трубчастих кісток скелета.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальна характеристика експериментального матеріалу

Дослідження проведене на 216 статевозрілих білих щурах-самцях віком від 2 до 26 місяців вагою від 102 г до 230 г (віварій Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету). Упродовж усього терміну експерименту щури знаходились в умовах віварію на стандартному раціоні та питному режимі з вільним доступом до їжі та води. Перед початком експерименту проводився ретельний огляд тварин, урахувуючи рухливість та стан шерстяного покриву. Після огляду та відбракування щурів, у яких було виявлено відхилення від звичайних норм, було розпочато експеримент. Кожна серія щурів проходила двотижневу карантинізацію. Упродовж усіх термінів спостереження у віварії підтримувалася постійна температура, за щурами здійснювався належний догляд. Тварини доглядалися у віварії Навчально-наукового медичного інституту Сумського державного університету згідно із загальноприйнятими рекомендаціями, вимогами та положеннями щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт з використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений Наказом Міністерства охорони здоров'я України № 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.), Правила, затверджені комісією з питань біоетики ННМІ Сумського державного університету (протокол № 1/01 від 24 січня 2022 р., Гельсінська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000). Експеримент проведено відповідно до вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим

національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Гельсінської декларації Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (Гельсінки, 2000). Порухень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідницької роботи не було.

Упродовж усього експерименту щури отримували сухий гранульований корм 3 раз на добу, який мав усі необхідні для нормальної життєдіяльності речовини. Дослідження було досить тривалим у часі (повних 6 місяців), тож для чистоти експерименту було відібрано тварин, які тільки ввійшли в потрібний віковий період. Завершення експериментальної частини пройшло у цей же віковий період. Відтак, були виключені зміни в кістковій тканині, що могли бути спричинені віковими інволютивними процесами в організмі тварин. Для моделювання гіперглікемії ми використовували хімічну сполуку – алоксан.

2.2 Методика проведення експерименту

Піддослідні тварини методом випадкової вибірки були поділені на дві серії: експериментальну ($n = 108$) та контрольну ($n = 108$). Кожна з цих груп була розділена на три групи залежно від віку: молоді щури (2–7 міс.), зрілі (9–14 міс.), старечі (20–26 міс.), кожна з яких була поділена шість підгрупи в залежності від терміну експериментального дослідження (табл.1) [134].

Щурів експериментальної серії після 10-годинного голодування вводили у стан хронічної гіперглікемії за допомогою одноразової інтраперитонеальної ін'єкції розчину дигідрату алоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла на 0,9 % розчині хлориду натрію (за методикою Н. А. Пальчикової) [20]. Розчин алоксану готували шляхом розчинення кристалічного субстрату алоксану фірми LaChema (Чехія) в стерильній дистильованій воді. Після розчинення кристалів речовини, стерильність розчину досягали шляхом пропускання його через мембрану «Millex-GV» з фільтром 0,22 мкм фірми «MILLIPORE» (Франція) та поміщали в стерильні закупорені флакони.

Таблиця 1 - Вік щурів експериментальної серії відповідно до початку експерименту

Вік / доба спостереження	30-га	60-га	90-га	120-га	150-га	180-га
Молоді	2 міс.	3 міс.	4 міс.	5 міс.	6 міс.	7 міс.
Зрілі	9 міс.	10 міс.	11 міс.	12 міс.	13 міс.	14 міс.
Старечі	20 міс.	22 міс.	23 міс.	24 міс.	25 міс.	26 міс.

Експериментальна серія була поділена на 3 групи: молоді, зрілі та старечі-відповідно до віку, кожна група за тривалістю хронічної гіперглікемії була поділена на 6 підгруп (по 6 тварин у кожній підгрупі): підгрупа 1 – щури з терміном хронічної гіперглікемії 30 діб, підгрупа 2 – 60 діб, підгрупа 3 – 90 діб, підгрупа 4 – 120 діб, підгрупа 5 – 150 діб, підгрупа 6 – 180 діб. Для врахування вікових особливостей вуглеводного обміну та росту скелета щурів контрольної серії також було поділено на 3 групи та 6 підгруп відповідно до поділу тварин експериментальної серії (табл. 2).

Таблиця 2 - Розподіл експериментальних тварин.

Термін експерименту	Молоді щури		Зрілі щури		Старечі щури	
	Експеримент	Контроль	Експеримент	Контроль	Експеримент	Контроль
30 діб	6	6	6	6	6	6
60 діб	6	6	6	6	6	6
90 діб	6	6	6	6	6	6
120 діб	6	6	6	6	6	6
150 діб	6	6	6	6	6	6
180 діб	6	6	6	6	6	6
Разом по підгрупами	36	36	36	36	36	36
Разом	216 щурів (експериментальних – 108; контрольних – 108)					

Тварин виводили з експерименту відповідно до заданої тривалості хронічної гіперглікемії на кожну 30-ту добу по 6 особин з кожної підгрупи шляхом декапітації під легким тіопентал-натрієвим наркозом. Для дослідження вилучали обидві стегнові та плечові кістки.

2.3 Методи дослідження

Для вивчення особливостей морфофункціональних змін довгих трубчастих кісток скелета щурів різних вікових груп в нормі та в динаміці перебігу хронічної гіперглікемії використовували наступні методи дослідження:

1 Остеометрія. Для дослідження вилучали обидві стегнові та плечові кістки від них відокремлювали м'які тканини. Отримані кістки зважували на аналітичних вагах із точністю до 1 мг та вимірювали за допомогою штангенциркуля ШЦ-1 (клас точності 2, похибка вимірювання-0,1 мм) за методикою W. Duerst. Вимірювали максимальну довжину кістки, найбільшу ширину проксимального та дистального епіфізів, ширину середини діафіза.

2 Гістологічне дослідження та морфометрія. Для проведення гістологічного дослідження в щурів після евтаназії видаляли плечову та стегнову кістки. Після чого видалялись фрагменти діафіза та дистального епіфіза, який в свою чергу було розділено вертикально на дві частини, одну з яких відразу ж фіксувалися у фіксаторі Карновсько для проведення трансмісійної електронної мікроскопії, іншу фіксувалась в 10 % забуференому фосфатним буфером формаліні. Гістологічні препарати середини діафіза та дистальних епіфізів кісток виготовляли за загальноприйнятою методикою із застосуванням забарвлення гематоксилін та еозин. Стегнові та плечові кістки щурів різного віку видаляли на кожному терміні дослідження. Очищали їх від м'яких тканин та фіксували в 10 % забуференому фосфатним буфером формаліні впродовж доби. Декальцинували в 10 % розчині мурашиної кислоти. Після цього дегідрували в серії етилових спиртів зростаючої концентрації (70°, I – 96°, II – 96°), просочували в ізопропілових спиртах та трьох серіях парафіну, отриманий матеріал заливали

парафіном. Виготовлені парафінові блоки різали на санному мікротомі Reichert з отриманням зрізів товщиною 6–10 мкм. Гістологічні зрізи висушували на предметних скельцях, депарафінували, дегідратували, забарвлювали гематоксиліном Вейгерта та еозином, заключали в полістерол. Гістологічний аналіз та фотографування зрізів проводили з використанням мікроскопа Olympus BX63 (Japan) за збільшення 100, 200 і 400.

Морфометрію показників здійснювали з використанням універсальної сертифікованої програми «SEO Scan Lab 2.0» та «SEO Image Lab 2.0». У діафізі плечової та стегнової кісток визначали: площу діафіза, діаметр остеонів і каналів остеонів, ширину середини діафізу а також наявність резорбційних лакун та ліній склеювання. Аналізували морфометричні показники дистального епіфіза, такі як: ширина епіфізарного хряща, площа губчастої кісткової тканини, ширина кісткових трабекул та об'єм загальної спонгіози.

3 Імуногістохімічне дослідження. Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводили на парафінових зрізах (4×10^{-6} м) декальцинованої кісткової тканини стегнових та плечових кісток щурів після депарафінації й зневоднення в ксилолі та спиртах у послідовних знижуючих концентраціях. Демаскування антигенів проводили із застосуванням водяної бані «ВБ-4» при відносній температурі 97-98 °С у цитратному буфері (рН – 7,0). Наявність клітинної реакції антиген – антитіло було візуалізовано за допомогою системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP DAB Chromogen» («Thermo scientific», США), вона включала блокування ендогенної активності пероксидази перекисом водню, пригнічення неспецифічного фонового забарвлення за допомогою «Ultra V block», підсилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto» та кінцеву візуалізацію діамінобензидином (ДАБ) і забарвленням ядер гематоксиліном Маєра. У дослідженнях використана наступна панель антитіл «Thermo Scientific», США (табл. 3).

Таблиця 3 – Панель антитіл для ІГХ-дослідження

Антитіло	Імунізована тварина	Клон	Розведення	Локалізація в клітині
Остеопонтін	Кролик	Поліклон	1:200	Цитоплазма
RANKL	Кролик	Поліклон	1:200	Цитоплазма+мембрана

Аналіз особливостей експресії остеопонтину та RANKL у різних локусах довгих трубчастих кісток проводили із застосуванням світлового мікроскопа і шкали Allred. Це напівкількісна система оцінювання показників ІГХ за двома ознаками: співвідношення позитивно забарвлених клітин (за шкалою від 0 до 5 (А)) та інтенсивність забарвлення (від 0 до 3 (Б)). Отримані показники підсумовували (А + Б) для отримання підсумкових показників експресії остеопонтину та RANKL у досліджуваних кістках [135]. Позитивним результатом вважали наявність цитоплазматичної експресії відповідних антитіл, негативним результатом – відсутність експресії. Загальна оцінка імунореактивності клітин (адаптовано за D.C Allred) (табл. 4).

Таблиця 4 – Зміна експресії імуногістохімічних маркерів

Забарвлення (А), бали	Частка позитивно забарвлених клітин	Інтенсивність (Б), бали	Визначення інтенсивності позитивно забарвлених клітин
0	відсутність	0	Відсутність
1	< 1/100 (< 1 %)	1	Слабка (+)
2	1/100–1/10 (1–10 %)	2	Помірна/середня (++)
3	1/10–1/3 (11–33 %)	3	Сильна (+++)
4	1/3–2/3 (34–66 %)		
5	>2/3 (67–100 %)		

4 Глюкозооксидазний тест. Стан вуглеводного обміну у тварин контрольної та експериментальної серії оцінювали за допомогою наступних

показників: концентрація глюкози в крові та сечі, концентрація глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) в цільній крові.

Рівень глюкози в крові щурів визначали глюкозооксидазним методом з використанням діагностичних наборів ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Визначення рівня глюкози в венозній крові, яка була взята натщесерце з хвостової вени щура (0,5 мл цільної крові змішували з 0,9 мл розчину антикоагулянту та центрифугували 10 хв за 2000 об/хв для осадження еритроцитів). Для аналізу використовували надосадову рідину, яку розводили у 10 разів фізіологічним розчином (0,1 мл надосадової рідини змішували з 0,9 мл фізіологічного розчину). Потім змішували складові дослідної (0,4 надосадової рідини + 4,0 монореагенту) та холостої проб (0,4 фізіологічного розчину + 4,0 моно-реагенту), витримували 25 хвилин при кімнатній температурі. Після чого вимірювали оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{досл}}$) проти холостої на ФЕК КФК-3.

Розрахунок концентрації глюкози проводили за формулою:

$$C = E_{\text{досл}}/E_{\text{кал}} \times K \times 10 \quad (180),$$

C – концентрація глюкози в дослідній пробі, ммоль/л;

10 (180) – концентрація глюкози у калібрувальному розчині (ммоль/л);

$E_{\text{досл}}$ – оптична щільність дослідної проби;

$E_{\text{кал}}$ – оптична щільність калібрувальної проби;

K – коефіцієнт розведення.

Рівень глюкози в сечі визначали на 2, 30, 60, 90, 120, 150, 180-ту добу експерименту експрес-методом за допомогою тест-смужок CITOLAB G (Фармаско, Україна).

5 Визначення глікозильованого гемоглобіну (HbA1c). Концентрацію HbA1c в цільній крові визначали на біохімічному аналізаторі GBG ChemWell 2910 (Awareness Technology, США). Забір венозної крові проводили з хвостової вени щура натщесерце (починаючи з третього місяця експерименту). У подальшому

цільну кров забирали безпосередньо під час виведення з експерименту тварин кожної підгрупи.

Для дослідження кров змішували з антикоагулянтом (етилендіамінтетраоцтова кислота), після цього відновлювали ліофілізовану кров із використанням 0,5 мл дистильованої води. Потім змішували досліджуваний зразок крові з реагентом А (суспензія з латексних часточок, азід натрію 0,95 г/л, рН-8,0), при цьому різні види гемоглобіну, присутні в гемолізаті, довільно адсорбуються на поверхні латексних часточок. Через 5 хвилин додавали реагент В (людське антитіло anti HbA1C, консерванти, рН-6,0). Одночасно з цим готували гемолізат – калібратор: з'єднали 1 мл венозної крові та 100 мл дистильованої води і змішували при кімнатній температурі. Отримані показники концентрації співставляються по еталонному методу IFCC, що описаний Національною програмою по стандартизації глікогемоглобіну США (NGSP), та розраховуються за формулою: $\text{HbA1C} - \text{NGSP} - \text{DCCT} (\%) = 0,0915 \cdot \text{HbA1C} - \text{IFCC} (\text{ммоль/моль}) + 2,15$.

Стан гіперглікемії констатували за умов розвитку у тварин відповідного симптомокомплексу: полідипсія, поліурія, підвищення концентрації глюкози в крові ($> 7,0$ ммоль/л), глюкозурія, підвищення концентрації глікованого гемоглобіну ($> 6,1$ %).

6 Трансмійна електронна мікроскопія. Для проведення електронно-мікроскопічного аналізу в щурів після евтаназії видаляли плечову і стегнову кістки. Після чого виділяли фрагменти діафіза та дистального епіфіза розміром приблизно 1 мм^3 фіксували їх у фіксаторі Карновського. Фрагменти кісткової тканини декальцинували в розчині трилону Б, потім фіксували в чотириокисі осмію з подальшою дегідратацією в серії етилових спиртів зростаючої концентрації та ацетону. Зразки просочували в суміші епоксидних смол – арадиту та епону, а потім заливали в блоки [136].

Отримані блоки заточували та виготовляли ультратонкі зрізи товщиною 0,04 мкм на ультрамікротомі УМТП-3М (Суми, Україна). Зрізи контрастували

розчином Рейнольдса та уранілацетатом [137]. Контрастовані зрізи аналізували та фотографували за допомогою електронного просвічуючого мікроскопа ЕМВ-100БР (Суми, Україна).

7 Хіміко-аналітичний аналіз. Визначення вмісту Ca, Cu і Zn визначали методом спектрометрії в лабораторії атомно-абсорбційного аналізу Центру морфологічних досліджень Сумського державного університету. Стегнові та плечові кістки відокремлювали від м'яких тканин та зважували на аналітичних вагах. Трубочасті кістки висушували при температурі 105 °С у жаровій шафі і визначали вміст води за рахунок різниці в масі за допомогою терезів з точністю виміру до 1 мг. Вміст води (M_{H_2O}) розраховували за формулою

$$M_{H_2O} = M - M_1,$$

де M – маса вологої кістки;

M_1 – маса сухої кістки.

Після цього обидві кістки спалювали у порцелянових тиглях у муфельній печі при температурі 450–500 °С протягом 48 годин до утворення золи білого кольору. Загальну кількість мінеральних речовин обчислювали шляхом зважування золи. Золю розтирали і розчиняли в поєднанні розчинів: 2 мл 10 % соляної кислоти та 1 мл азотної кислоти, розчин доводили до кипіння, потім розбавляли бідистильованою водою, доводячи до об'єму 10 мл. Одержаний розчин аналізували на атомному абсорбційному спектрофотометрі С-115М1 АТ «Selmi» (Україна) за допомогою універсальної сертифікованої обчислювальної програми «AAS СПЕКТР3». Вміст Р визначали на фотоспектрокалориметрі за методикою Брігса. Вміст макро– та мікроелементів в обох кістках вимірювали за відповідної довжини хвилі: Ca – 422,7 нм, Р – 345 нм, Cu – 324,7 нм, Zn – 213,9 нм [138].

Виконували дескриптивний аналіз кожної вибірки з розрахунком середнього значення (M) та стандартної похибки середнього значення (m). Відмінності щодо параметрів незалежних виборок за парних порівнянь оцінювали

за непараметричним критерієм Манна – Уїтні. Різницю вважали достовірною за умови $p < 0,05$.

8 Біомеханічний аналіз. Серед біомеханічних властивостей довгих трубчастих кісток ми проводили визначення таких показників, як: площа поперечного перерізу (S , мм), навантаження при стисненні (σ , Н), напруження при стисненні (M , МПа). Для дослідження відбирались плечова та стегнова кістки після кожного планового забою. Дослідження біомеханічних властивостей плечових та стегнових кісток проводили не пізніше однієї доби після їх видалення (кістки зберігали у фізіологічному розчині при температурі від $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$). Випробування проводили на розривній машині IP-5074-3 з маятниковим силовимірником та ручним горизонтальним приводом.

Під час розрахунку геометричних характеристик кісток, виокремлювали окремо зразки дистального епіфізу та діяфіза. Спочатку проводили розрахунок геометричних характеристик перетинів кісток. При розрахунку межі міцності при центральному стисненні використовували такі геометричні характеристики кістки, як площа поперечного перетину та масштаб контуру кістки, які вимірювали після фотографування препарату кістки та занесення в програму Digimaizer. Наступним етапом визначали внутрішні силові чинники через дію на кістку зовнішніх сил за допомогою установки, що зображена на рисунку 2.1 [139; 140]. Похибка вимірювань навантажень не перевищувала в усіх випадках 1 %.

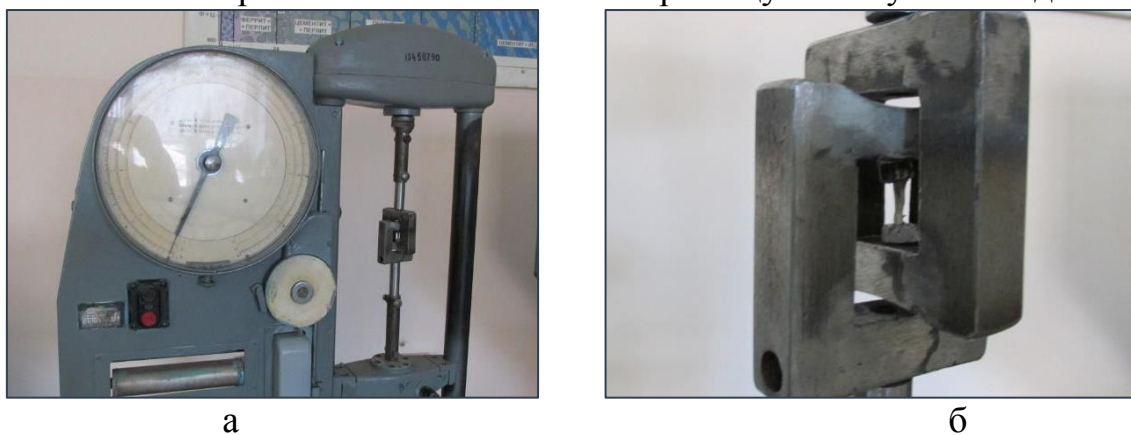


Рисунок 2.1 – Загальний вигляд установки на стиснення і розрив (а) та руйнівний механізм (б)

Під час випробування навантаження при стисненні кісток зразок діафізу готували так, щоб відношення його висоти (h) до діаметра (d) відповідало 3 адже відомо, що саме таке співвідношення є найбільш оптимальним для визначення міцності при даному виді навантаження та деформаційних властивостей КТ у середній третині діафізу [139].

Фотографії зламів кісток отримували на мікроскопі МПБ-2 із використанням цифрової камери Cyber-shot 6.0 mp. Для визначення площі поперечного перетину використовували штангенциркуль ШЦ-1-150-0.05, ГОСТ 166-89, цифрове оптичне пристосування та програмне забезпечення Autodesk-Autocad Mechanical 2009 (рис. 2.2).



Рисунок 2.2 – Загальний вигляд кістки, вимірювальна лінійка для визначення масштабу

Для вимірювання висоти та ширини експериментальних кісток використовували мікрометр із точністю до 1 мкм [140; 141].

Межу міцності кісток на стиснення визначали за формулою $\sigma = \frac{P}{S}$,

де σ – напруга, за якої руйнувалася кістка, $\frac{H}{\text{мм}^2}$;

P – сила, що призвела до руйнування кістки, Н;

S – площа поперечного перетину кістки, мм [141].

Під час визначення межі міцності на стиснення застосовували наступну формулу: $\sigma = \frac{M}{W}$, де M – максимальний згинальний момент, Н мм; W – момент опору поперечного перетину кістки, мм^3 .

9 Статистичний аналіз. Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою програми Statistica v. 10 («StatSoft Inc.», США). Виконували дескриптивний аналіз кожної вибірки з розрахунком Mean (M) та Standard Deviation (SD). Для оцінки відмінностей між незалежними вибірками за досліджуваними показниками використовували непараметричний Mann – Whitney U-test. Достовірною вважали різницю при значенні $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Вікові особливості росту, будови та формоутворення кісток скелета тварин контрольної серії

Стегнові та плечові кістки тварин серії контролю використовували для порівняння з результатами експериментального дослідження. Вони були основою для визначення кількісних, структурних та морфологічних відхилень залежно від особливостей впливу на кістку хронічної гіперглікемії.

Середня вага тіла 2-х місячних щурів складала ($102,51 \pm 1,97$) г. Показники глюкози в крові становили ($6,4 \pm 1,50$) ммоль/л, глікозильованого гемоглобіну ($4,03 \pm 0,88$) %, що підтверджує нормальний рівень глюкози та HbA1c. При дослідженні остеометричних показників плечових та стегнових кісток щурів контрольної серії, ми помітили виражену вікову залежність усіх показників щурів. За даними остеометрії стегнової кістки щурів молодого віку, максимальна довжина кістки (МДК) становила ($22,36 \pm 1,14$) мм. Відповідні показники плечової кістки дорівнювали ($14,20 \pm 0,66$) мм. Ширина середини діафіза (ШСД) стегнової та плечової кісток у тварин цього віку становили ($1,68 \pm 0,31$) мм та ($1,12 \pm 0,26$) мм відповідно. Середні показники ширини проксимального та дистального епіфізів стегнової кістки відповідали ($2,84 \pm 0,21$) мм та ($2,91 \pm 0,12$) мм, плечової кістки – ($2,16 \pm 0,25$) мм та ($2,17 \pm 0,27$) мм.

Остеобласти у структурі кісткової тканини розміщувалися рівномірно. Найбільший відсоток клітин визначався в молодих тварин, і поступово зменшувався з віком. У зоні первинної спонгіози спостерігались численні новоутворені трабекули, які розміщувалися дуже щільно. Поміж ними розміщувалася велика кількість капілярів та преостеобластів, що пов'язано з формуванням кісткової тканини в цій зоні. У зоні вторинної спонгіози зафіксовано значну кількість трабекул, які розміщувались на відстані одна від одної, та утворювали трабекулярну сітку (рис. 3.1). Вони переважно розміщувалися

паралельно центральній вісі кістки. Трабекули з'єднувалися з кортикальним шаром. Більша кількість трабекул розміщувалася з латерального та медіального боку. На поверхні деяких трабекул відмічено ділянки, вкриті остеобластами. У трабекулах остеоцити розміщувалися рівномірно. Лінії цементації були переважно паралельними. Міжтрабекулярні простори заповнені червоним кістковим мозком.

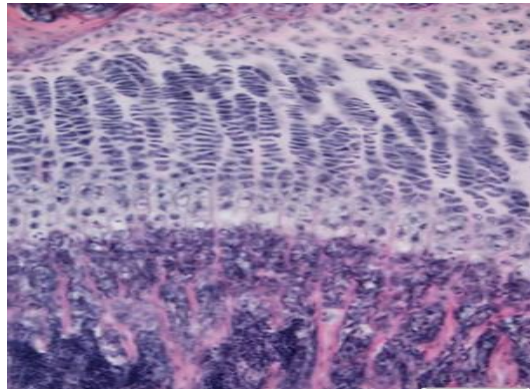


Рисунок 3.1 – Фрагмент метафіза стегнової кістки щура контрольної серії віком 2 місяці. Епіфізарний хрящ та зона первинної та вторинної спонгіози. Збільшення $\times 100$, забарвлення гематоксилін та еозин.

На поверхні кісткових трабекул розташовувались численні остеобласти з нормальним рівнем розвитку мембранних органел. Ширина кісткових трабекул стегнової кістки становила $(57,73 \pm 0,47)$ мкм, плечової – $(48,78 \pm 0,40)$ мкм. ШЕХ стегнової кістки відповідала показникам $(211,65 \pm 0,36)$ мкм, плечової – $(199,86 \pm 0,44)$ мкм.

Морфометричні показники величини площі діафіза стегнової та плечової кісток становили $(3,20 \pm 0,52)$ мм та $(2,67 \pm 0,29)$ мм, діаметр остеонів та діаметр каналів остеонів стегнової кістки становили $(27,16 \pm 0,44)$ мкм, та $(9,12 \pm 0,17)$ мкм, плечової – $(18,38 \pm 0,29)$ мкм та $(7,55 \pm 0,31)$ мкм.

Для аналізу особливостей експресії остеопонтину та RANKL у кістках було проведено імуногістохімічне дослідження. У діафізах обох кісток було виявлено численні клітини з проявами реакції. Експресія остеопонтину в діафізі становила $(26,32 \pm 1,28)$ %, в епіфізі – $(30,16 \pm 1,46)$ %, інтенсивність позитивно забарвлених

клітин сильна (+++). RANKL-позитивні клітини виявлено як у діяфізі, так і в епіфізі обох кісток. Локалізацією RANKL визначено цитоплазму клітини. Середні показники становили $(22,19 \pm 1,40)$ % та $(25,12 \pm 1,55)$ %. При цьому більш інтенсивна експресія обох показників спостерігалась у дистальному епіфізі порівняно з діяфізом.

Під час спектрального дослідження хімічного складу кісток ми спостерігали нерівномірний вміст хімічних елементів у різних ділянках трубчастої кістки. Більший вміст Ca відзначався в діяфізах стегнової та плечової кісток, що становить $(2464,51 \pm 0,46)$ мкг/г та $(2256,17 \pm 0,47)$ мкг/г, P – $(818,50 \pm 6,72)$ мкг/г та $(772,65 \pm 0,33)$ мкг/г. Епіфізи обох кісток характеризувались дещо меншим кількісним умістом вказаних елементів: Ca – $(2231,17 \pm 0,63)$ мкг/г та $(2023,44 \pm 0,14)$ мкг/г, P – $(815,20 \pm 0,29)$ мкг/г, $(770,35 \pm 0,41)$ мкг/г відповідно.

Вміст мікроелементів, таких як Cu та Zn, а також води в більшому відсотковому співвідношенні спостерігався в епіфізах обох кісток. Відтак Cu – $(57,12 \pm 0,60)$ мкг/г у стегновій і $(54,68 \pm 1,02)$ мкг/г у плечовій кістці, Zn – $(8,11 \pm 0,22)$ мкг/г та $(6,60 \pm 0,26)$ мкг/г, H₂O – $(31,40 \pm 0,30)$ % та $(30,34 \pm 0,21)$ %.

Різницю вмісту основних елементів кістки можна пояснити наявністю різних за будовою тканин, що формують відповідні ділянки. Діяфіз сформований за рахунок кортикальної кістки, що характеризується меншою швидкістю ремоделювання та більшими механічними властивостями за рахунок більшої концентрації Ca в цій зоні. Епіфізи сформовані в основному за рахунок губчастої кістки, що є більш метаболічно активною й витримує менші навантаження, ніж діяфіз.

Механічні властивості стегнової кістки щурів відзначались наступними показниками. Починаючи з 2-го місяця спостереження навантаження при стисненні діяфіза стегнової кістки становило $(437,21 \pm 6,56)$ Н, плечової – $(423,86 \pm 12,85)$ Н, значення показника міцності на стиснення складало $(155,6 \pm 0,62)$ та $(157,76 \pm 0,43)$ МПа. Однак відповідні показники дистального епіфіза досліджуваних кісток відзначались значно меншими тривкісними

характеристиками, а саме: навантаження при стисненні склало $(291,43 \pm 7,15)$ Н, плечової – $(281,20 \pm 6,50)$ Н, значення показника міцності на стиснення складало $(78,60 \pm 0,28)$ мПа та $(79,40 \pm 0,30)$ мПа.

Середня маса тіла щурів на 3 – 4-й місяць спостереження збільшилася до $(150,5 \pm 0,87)$ г. Глюкоза крові становила $(5,4 \pm 1,20)$ ммоль/л, рівень HbA1C – $(4,82 \pm 0,90)$ %, що відповідає нормі.

Остеометрія стегнової та плечової кісток виявила певний приріст показників. У щурів цього віку найбільших змін зазнав показник, такий як МДК, який у 3 місяці спостереження становив $(23,18 \pm 0,79)$ мм для стегнової кістки та $(14,86 \pm 0,90)$ мм для плечової кістки, відсоток приросту у порівнянні зі щурами попередньої підгрупи склав 3,6 % та 4,6 %, в 4 місяці показники збільшилися до $(24,87 \pm 0,90)$ мм та $(16,10 \pm 1,21)$ мм. Ширина проксимального та дистального епіфізів стегнової кістки становила $(3,02 \pm 0,22)$ мм та $(3,06 \pm 0,07)$ мм, плечової кістки – $(2,26 \pm 0,21)$ мм та $(2,27 \pm 0,24)$ мм.

Гістологічне спостереження виявило наступне. Структура епіфізарного хряща обох кісток була представлена всіма зонами. Зона проліферації була найбільшою за висотою та виконана стовпчиками з клітин, орієнтованих паралельно центральній вісі стегнової кістки. Клітини мали сплющену або тригональну форму з базофільним ядром та цитоплазмою, їх розмір збільшувався з наближенням до зони дифінітивного хряща. У цій зоні клітини мали вакуолізовану цитоплазму, ядро було базофільним.

Показники величини площі діафіза стегнової кістки у 3 місяці становили $(3,32 \pm 0,52)$ мм та плечової – $(2,77 \pm 0,26)$ мм, діаметр остеонів і діаметр каналів остеонів стегнової кістки становили $(27,37 \pm 0,45)$ мкм та $(9,05 \pm 0,18)$ мкм, плечової $(18,53 \pm 0,29)$ мкм і $(7,42 \pm 0,31)$ мкм. У 4 місяці вказані показники дещо збільшилися: в стегновій кістці площа діафіза становила $(3,93 \pm 0,43)$ мм, в плечовій – $(3,25 \pm 0,30)$ мм, діаметр остеонів та їх каналів у стегновій кістці становив $(27,91 \pm 0,57)$ мкм та $(8,85 \pm 0,42)$ мкм, у плечовій кістці $(19,02 \pm 0,30)$ мкм та $(7,33 \pm 0,23)$ мкм.

У 4 місяці спостереження ширина епіфізарного хряща стегнової кістки становила $(220,74 \pm 0,33)$ мкм, плечової кістки – $(208,64 \pm 0,29)$ мкм відповідно, ШКТ стегнової кістки становила $(60,24 \pm 0,30)$ мкм, плечової кістки $(51,90 \pm 0,39)$ мкм.

Вміст Са в діафізах обох кісток складав $(2591,12 \pm 0,14)$ мкг/г та $(2359,61 \pm 0,25)$ мкг/г, Р – $(847,54 \pm 11,04)$ мкг/г та $(786,58 \pm 0,31)$ мкг/г. Відповідно зростають також і показники Си – $(54,91 \pm 2,26)$ мкг/г, $(52,46 \pm 0,44)$ мкг/г та Zn – $(7,15 \pm 0,39)$ мкг/г, $(6,46 \pm 0,21)$ мкг/г. Вміст води в діафізі стегнової кістки становив $(27,10 \pm 0,31)$ %, плечової кістки – $(26,20 \pm 0,74)$ %. Показники вмісту хімічних елементів у дистальному епіфізі розподілені наступним чином: Са – $(2334,16 \pm 0,64)$ мкг/г у стегновій кістці та $(2118,12 \pm 0,43)$ мкг/г в плечовій, Р – $(837,21 \pm 19,09)$ мкг/г та $(790,28 \pm 12,81)$ мкг/г, Си – $(58,21 \pm 2,49)$ мкг/г та $(55,53 \pm 0,91)$ мкг/г, вміст води становив – $(32,40 \pm 0,65)$ % та $(31,30 \pm 0,38)$ %. Визначення хімічного складу кісток показало певні відмінності перерозподілу макро- і мікроелементів. Відтак, вміст води є майже однаковим у діафізах стегнової та плечової кісток і зростає в епіфізах відповідних кісток, це може бути свідченням більшого об'єму губчастої кістки.

У віці 5 місяців середня маса тіла щурів збільшилася до $(170,1 \pm 2,39)$ г. Глюкоза крові становила $(3,10 \pm 0,22)$ ммоль/л, рівень НbA1C – $(4,0 \pm 0,66)$ %. Що цілком відповідає нормі. Як відомо, лінійні показники кісток щурів молодого віку змінюються досить інтенсивно, адже саме в цей період відбувається інтенсивний ріст організму. Саме тому середні значення МДК змінювалися найбільш інтенсивно. МДК стегнової кістки становила $(27,78 \pm 0,94)$ мм, плечової – $(18,03 \pm 0,82)$ мм. Відсоток приросту склав 11,7 % та 12 % відповідно. ШСД стегнової та плечової кісток відповідали показникам $(1,78 \pm 0,51)$ мм та $(1,17 \pm 0,27)$ мм відповідно. Середні показники ШПЕ та ШДЕ стегнової кістки відповідали значенням $(3,17 \pm 0,26)$ мм та $(3,20 \pm 0,17)$ мм, плечової кістки – $(2,37 \pm 0,30)$ мм та $(2,36 \pm 0,30)$ мм.

Морфометричні показники розміри площі діафіза стегнової та плечової кісток відповідали показникам $(4,15 \pm 0,41)$ мм та $(3,46 \pm 0,35)$ мм, діаметр остеонів та діаметр каналів остеонів стегнової кістки становили $(28,40 \pm 0,38)$ мкм та $(8,67 \pm 0,41)$ мкм, плечової – $(19,30 \pm 0,24)$ мкм та $(7,26 \pm 0,26)$ мкм. ШЕХ обох кісток дещо збільшилася і становила: стегнової кістки – $(223,56 \pm 4,11)$ мкм, плечової кістки – $(211,26 \pm 0,32)$ мкм відповідно, ШКТ стегнової кістки становила $(61,58 \pm 0,50)$ мкм, плечової кістки $(53,04 \pm 0,21)$ мкм, відносна площа губчастої кісткової тканини стегнової кістки збільшилася до $(19,86 \pm 0,37)$ %, плечової кістки – до $(16,59 \pm 0,32)$ %, що вказує на активні ростові процеси кісткової тканини порівняно з попередніми термінами спостереження.

Можна відмітити зростаючу тенденцію до збільшення Са в діафізах обох кістках, вміст якого склав $(2643,41 \pm 0,98)$ мкг/г та $(2411,43 \pm 0,65)$ мкг/г. У дистальному епіфізі динаміка показників відповідна: $(2318,71 \pm 0,27)$ мкг/г та $(2162,54 \pm 0,38)$ мкг/г. Це підтверджує накопичення хімічних елементів у кістках із віком. Вміст Р у діафізі досліджуваних кісток становив $(856,43 \pm 19,44)$ мкг/г та $(794,32 \pm 12,79)$ мкг/г, в епіфізі – $(846,30 \pm 19,16)$ мкг/г та $(796,34 \pm 12,78)$ мкг/г відповідно.

Механічні властивості стегнової кістки щурів змінювалися наступним чином. Навантаження при стисненні діафізу стегнової кістки становило $(475,61 \pm 19,16)$ Н та плечової – $(458,43 \pm 12,86)$ Н, епіфіза – $(312,56 \pm 12,83)$ Н та $(301,81 \pm 12,77)$ Н. Межа міцності на стиснення діафіза стегнової кістки становила $(154,40 \pm 0,49)$ мПа та $(158,10 \pm 4,62)$ мПа. Показники дистального епіфіза склали $(74,10 \pm 0,34)$ мПа та $(77,40 \pm 0,24)$ мПа відповідно. У тварин цього віку відбувається достовірне збільшення показників біомеханічних показників кісток, особливо це помітно в діафізах.

Маса тіла щурів у 7 місяців спостереження становила $(190,51 \pm 2,11)$ г. Глюкоза крові – $(6,2 \pm 1,06)$ ммоль/л, рівень HbA1C – $(5,40 \pm 1,08)$ %, що відповідає нормі. Динаміка ростових змін ШСД діафіза змінюється прямо пропорційно до змін ШПЕ, ШДЕ, це говорить про зрівноваженість процесів

ремоделювання кістки як органа. ШСД стегнової кістки склало ($1,84 \pm 0,51$) мм, плечової ($1,23 \pm 0,19$) мм, ШПЕ – ($3,35 \pm 0,20$) мм та ($2,56 \pm 0,32$) мм відповідно, показники ШДЕ – ($3,48 \pm 0,23$) мм та ($2,61 \pm 0,28$) мм. Потрібно відмітити прогресуюче збільшення лінійних показників обох досліджуваних кісток, відповідно МДК діафіза стегнової кістки становила ($32,30 \pm 0,84$) мм, плечової – ($20,30 \pm 0,78$) мм, відсоток приросту порівняно зі щурами попередньої підгрупи склав 7 % та 5 %;

Мікроскопічно трубчаста кістка представлена кортикальною та трабекулярною речовиною. Морфометричні показники площі діафіза стегнової та плечової кісток становили ($4,61 \pm 0,43$) мм та ($3,84 \pm 0,23$) мм, відсоток приросту вказаних показників порівняно з попередньою підгрупою – 5,3 % та 5,5 %, діаметр остеонів і діаметр каналів остеонів стегнової кістки становили ($29,42 \pm 0,33$) мкм та ($8,57 \pm 0,44$) мкм, плечової – ($19,70 \pm 0,28$) мкм і ($7,10 \pm 0,66$) мкм. Ширина епіфізарного хряща стегнової кістки становила ($231,72 \pm 6,75$) мкм, плечової кістки – ($219,32 \pm 6,52$) мкм, відсоток приросту 2,4 % в обох досліджуваних кістках, ШКТ стегнової кістки збільшилася до ($64,92 \pm 0,28$) мкм, плечової кістки ($55,19 \pm 0,50$) мкм, відсоток приросту – 3,3 % і 2,1 %, відносна площа губчастої кісткової тканини стегнової кістки збільшилась до ($21,43 \pm 0,29$) %, плечової – до ($18,10 \pm 0,26$) %. Об'єм загальної спонгіози в щурів цього віку відзначається певним приростом показників. Так, відсоток загальної спонгіози стегнової кістки збільшився до ($35,32 \pm 0,28$) %, плечової – до ($26,50 \pm 1,61$) %, що на 5,6 % та 5,1 % більше за показники щурів попередньої підгрупи.

Вміст Са та Р у тварин цього віку дещо відрізняється у зв'язку з накопиченням цього елемента з віком і досягає максимуму у віці 7–8 місяців. Відтак, вміст Са і Р значно збільшився порівняно з попереднім терміном спостереження, що говорить про активні процеси осифікації кістки. Са у діафізі стегнової кістки становив ($2760,04 \pm 0,98$) мкг/г, плечової – ($2540,19 \pm 0,67$) мкг/г. Середнє значення даного показника збільшилося на 2,5 % та 3,2 % відповідно. Зазначений показник у дистальному епіфізі досліджуваних кісток становив

(2613,19 ± 0,12) мкг/г та (2366,51 ± 0,64) мкг/г, відсоток приросту – 5,2 % та 5,2 %. При цьому вміст води та мікроелементів, таких як Cu та Zn, зросли прямо пропорційно до вказаних вище показників.

Активні процеси осифікації також підтверджують показники експресії остеопонтину як в діяфізі так і у епіфізі, що становлять (26,77 ± 1,35) % та (30,92 ± 1,77) %. Відсоток приросту склав 1,7 % та 2,5 %.

Механічні властивості стегнової кістки щурів змінювалися наступним чином. Тривкісні показники діяфіза стегнової кістки тварин цього віку, за показником навантаження при стисненні збільшилась до (510,41 ± 19,16) Н, плечової – (487,24 ± 19,11) Н, що на 4,1 % та 3 % більше за відповідні значення попередньої підгрупи; дистального епіфіза (324,84 ± 13,06) Н та (315,76 ± 19,35) Н, показники збільшилися на 2 % та 2,2 %. Межа міцності на стиснення діяфіза стегнової кістки відповідає показникам (147,50 ± 0,49) мПа, плечової – (151,30 ± 6,54) мПа, аналогічні показники дистального епіфізу були (73,80 ± 0,38) мПа – стегнової кістки та (75,40 ± 0,29) мПа – плечової, відповідно.

У віці 9 місяців середня маса тіла щурів становила (193,20 ± 14,5) г та до 10 місяців відповідні показники збільшились до (194,10 ± 13,8) г. Глюкоза крові – (3,5 ± 0,10) ммоль/л та у 10 місяців – (6,0 ± 0,10) ммоль/л, рівень HbA1C – (4,0 ± 0,10) % та (4,5 ± 0,10) %. Ростові параметри кісток мають виражену тенденцію до зростання з віком проте не з такою інтенсивністю, як у попередні вікові періоди. Як відомо, активний ріст кісток у ширину триває до 10 місяців життя щурів, проте в довжину кістка може рости до 30 міс і більше. МДК у 9 місяців спостереження становила (33,41 ± 1,32) мм, плечової (21,09 ± 0,57) мм, ШСД стегнової кістки становила (2,75 ± 0,40) мм, плечової – (1,50 ± 0,47) мм, ШПЕ стегнової кістки відповідало показникам (3,54 ± 0,36) мм, плечової – (3,07 ± 0,18) мм, ШДЕ – (3,59 ± 0,39) мм та (4,24 ± 0,17) мм. У 10 місяців вказані показники дещо змінилися та склали МДК (34,70 ± 1,34) мм та (22,01 ± 0,19) мм, відсоток приросту – 3,9 % та 4,4 %. ШСД – (2,78 ± 0,48) мм та (1,51 ± 0,28) мм відповідно, ШПЕ – (3,58 ± 0,38) мм та (3,10 ± 0,12) мм, ШДЕ – (3,58 ± 0,38) мм та (4,28 ± 0,27) мм, відповідно.

Об'єм загальної спонгіози стегнової кістки в щурів цього віку становив $(37,84 \pm 0,53)$ %, плечової – $(27,96 \pm 0,38)$ %. Гістологічна будова епіфізарного хряща стегнової та плечової кісток має деякі особливості залежно від віку тварин. Основні відмінності показників спостерігаються під час морфометричного дослідження. Незважаючи на безперервний ріст кісток, відзначається сповільнення приросту показників ширини епіфізарного хряща як стегнової, так і плечової кісток у порівнянні з попереднім віковим періодом. Вказаний показник стегнової кістки у 9 місяців становив $(232,21 \pm 18,12)$ мкм, середні показники ШЕХ плечової кістки – $(219,63 \pm 10,11)$ мкм, у 10 місяців зміна показників була незначною. Ширина кісткових трабекул проксимального епіфіза стегнової кістки щура у 9 місяців становила $(65,63 \pm 1,23)$ мкм, плечової – $(55,96 \pm 1,85)$ мкм, відповідні показники у щурів в 10 місяців становили $(65,81 \pm 2,65)$ мкм, плечової – $(56,43 \pm 1,28)$ мкм.

ІГХ-аналіз зразків показав значний відсоток клітин із проявом реакції на остеопонтин. Показники експресії незначною мірою відрізнялися від кількісних даних у попередні терміни спостереження. Експресія остеопонтину в діяфізі спостерігалася на рівні $(24,81 \pm 1,36)$ %, в епіфізі $(27,44 \pm 1,48)$ %. Проте потрібно відзначити певне зменшення експресії остеопонтину з віком.

На 10-й місяць спостереження Са у діяфізі стегнової кістки становив $(2643,42 \pm 0,25)$ мкг/г, плечової – $(2421,15 \pm 0,09)$ мкг/г, відсоток зміни склав 1,2 % та 1%, показники дистального епіфізу становили відповідно $(2391,70 \pm 0,25)$ мкг/г та $(2208,37 \pm 0,64)$ мкг/г, відсоток зміни 1,6 % в обох кістках. Середній показник вмісту мікроелементів таких, як Cu, Zn та води в більшому процентному співвідношенні спостерігається в трабекулярній кістковій тканині. Вміст Cu в дистальному епіфізі стегнової кістки становив $(57,82 \pm 0,53)$ мкг/г, плечової – $(56,18 \pm 0,70)$ мкг/г, Zn – $(7,80 \pm 0,35)$ мкг/г та $(7,06 \pm 0,15)$ мкг/г, H₂O – $(32,56 \pm 0,29)$ % та $(31,79 \pm 0,14)$ %. Показники зміни вмісту хімічних елементів мають тенденцію до повільного зниження у порівнянні з попередніми термінами

спостереження. Це свідчить про завершеність процесів осифікації кісток з накопиченням неорганічного компонента в кістці.

У 14 місяців середня маса тіла щурів становила $(207,20 \pm 12,30)$ г. Глюкоза крові – $(6,60 \pm 0,10)$ ммоль/л, HbA1C – $(5,20 \pm 0,10)$ %. МДК стегнової кістки становила $(37,10 \pm 0,20)$ мм, плечової $(23,36 \pm 0,19)$ мм, ШСД – $(2,90 \pm 0,25)$ мм та $(1,58 \pm 0,34)$ мм, ШПЕ – стегнової кістки склала $(3,90 \pm 0,11)$ мм, плечової – $(3,38 \pm 0,25)$ мм, ШДЕ – $(3,95 \pm 0,14)$ мм та $(4,68 \pm 0,35)$ мм. Відсоток приросту показників порівняно з показниками попереднього вікового періоду склав: МДК – 2,4 % та 1,3 %, ШСД – 1% та 1,3 %, ШДЕ – 2,6 %, 3 %. Потрібно відзначити незначне сповільнення ростових показників.

При гістологічному дослідженні можна відзначити, що структура діафіза в щурів цього віку була подібною за будовою до попередніх підгруп. Однак відстань між досліджуваними фрагментами в щурів цієї групи була значно меншою порівняно зі щурами попередніх періодів, що свідчить про не такий виражений процес лізису. Структура епіфізарного хряща також зберігала зональність та не відрізнялася за особливостями структури від попередніх підгруп. Проте зона проліферації була значною за висотою, клітини в проліферативних стовпчиках на певних ділянках були відсутні, це вказує на меншу їх проліферативну активність, ніж у щурів попередніх вікових періодів, та підтверджує пригнічення ростового процесу з віком.

У зоні первинної спонгіози новоутворені трабекули розміщувалися менш щільно у порівнянні з показниками попереднього періоду, однак були більшими за шириною та утворювали зв'язки між собою, утворюючи трабекулярну мережу. Остеоцити в матриксі розміщені нерівномірно, більша щільність спостерігалася поблизу до поверхні трабекул. У зоні вторинної спонгіози в зрілих тварин трабекули були розміщені більш відокремлено одна від одної порівняно із зоною первинної спонгіози. На поверхні багатьох трабекул спостерігались остеобласти. Міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим мозком.

Морфометричні показники величини площі діафіза стегнової та плечової кісток становили $(8,03 \pm 0,17)$ мм та $(7,08 \pm 0,12)$ мм, діаметр остеонів та діаметр каналів остеонів стегнової кістки становили $(31,84 \pm 1,35)$ мкм, та $(12,81 \pm 1,67)$ мкм, плечової – $(23,05 \pm 1,45)$ мкм та $(10,04 \pm 0,08)$ мкм. Ширина кісткових трабекул стегнової кістки становила $(67,87 \pm 1,72)$ мкм, плечової – $(58,39 \pm 1,19)$ мкм. ШЕХ стегнової кістки відповідала показникам $(236,53 \pm 19,54)$ мкм, плечової кістки – $(223,40 \pm 9,97)$ мкм. Відносна площа губчастої кісткової тканини стегнової кістки знизилася до $(23,86 \pm 1,29)$ %, плечової – до $(21,06 \pm 2,19)$ %.

Вміст мінеральних речовин у довгих трубчастих кістках щурів серії контролю зберігав тенденцію до зниження. Рівень Ca в діафізі стегнової кістки становив $(2507,32 \pm 0,693)$ мкг/г, плечової – $(2284,34 \pm 0,68)$ мкг/г, що на 2 % менше в обох кістках за показники попереднього вікового періоду. В дистальних епіфізах обох кісток спостерігалася подібна тенденція – $(2237,18 \pm 0,63)$ мкг/г та $(2061,15 \pm 0,60)$ мкг/г, відсоток втрати склав також 2 %. Потрібно відзначити значне зменшення H_2O – як у діафізах, так і в епіфізах обох кісток. Відповідні показники діафіза становили $(25,26 \pm 0,18)$ % та $(24,47 \pm 0,26)$ %, відсоток втрати 1,9 % та 1,6 %. Показники дистального епіфіза – $(30,65 \pm 0,40)$ % та $(29,86 \pm 0,53)$ % відповідно, що у порівнянні з попереднім віковим періодом менше на 2 % та 2,2 % (рис.3.2).

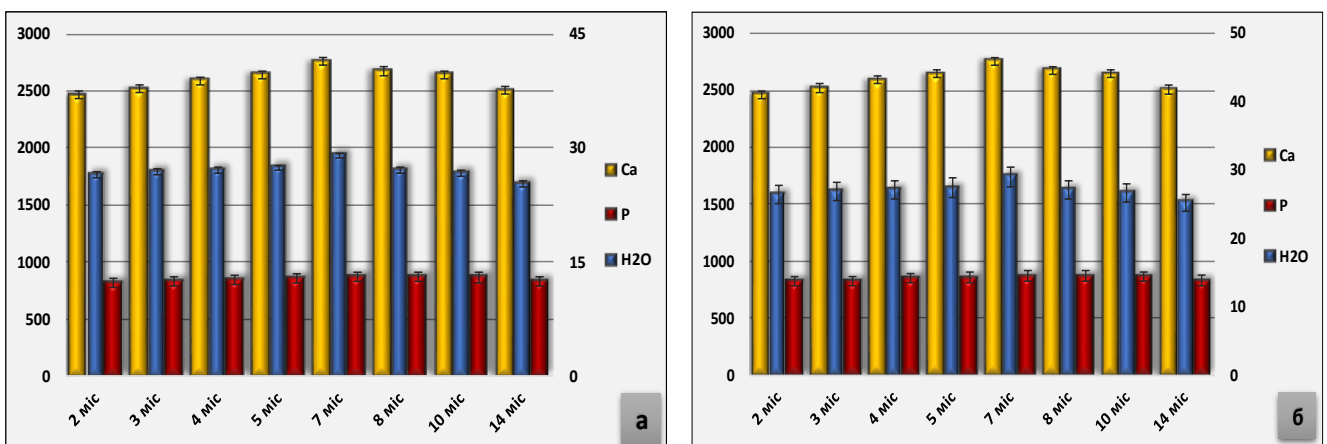


Рисунок 3.2 – Динаміка вікових змін вмісту хімічних елементів та води в діафізі стегнової (а) та плечової (б) кісток на 14-й місяць спостереження.

Механічні властивості змінювалися таким чином. Міцність діафіза стегнової кістки, за показником навантаження при стисненні зменшилося до $(467,16 \pm 0,26)$ Н, плечової – до $(415,71 \pm 9,89)$ Н, що на 2,5 % та 1,1 % менше порівняно з попередньою підгрупою. Відповідні показники дистального епіфіза стегнової кістки склали $(314,23 \pm 6,51)$ Н, плечової – $(254,81 \pm 6,61)$ Н, відсоток втрати – 2,1 % та 1,3 %. Середні показники межі міцності на стиснення діафіза обох кісток зменшились на 1,6 %, епіфізу стегнової кістки на 1,1 %, плечової кістки на 0,6 %. Що дещо менше у порівнянні з попередньою підгрупою спостереження та підтверджує зниження міцнісних характеристик із віком.

Середня маса тіла щурів у 21 місяць становила $(220,32 \pm 8,79)$ г. Глюкоза крові – $(6,50 \pm 1,53)$ ммоль/л, HbA1C – $(4,0 \pm 0,45)$ %. У вказаний період можна відзначили значну затримку приросту ростових показників. МДК стегнової кістки становила $(37,16 \pm 0,89)$ мм плечової кістки – $(23,71 \pm 0,34)$ мм, відсоток приросту склав 0,3 % та 1%, ШСД – стегнової кістки $(3,21 \pm 0,34)$ мм плечової – $(2,13 \pm 0,31)$ мм, ШПЕ стегнової кістки $(4,31 \pm 0,32)$ мм, плечової – $(3,94 \pm 0,32)$ мм, ШДЕ – $(4,96 \pm 0,31)$ мм та $(4,88 \pm 0,30)$ мм відповідно. Показники ШСД, ШПЕ та ШДЕ достовірністю показників не відзначались.

Гістологічне дослідження діафіза стегнових та плечових кісток показало, що наближаючись до окістя, відзначається зміна гістологічної будови. Подекуди спостерігаються зруйновані остеони, порожнини остеокластичної резорбції та порожні остеоцитарні лакуни. Морфометрія кісток щурів серії контролю свідчить про постійні ростові та ремоделюючі процеси протягом усього життя. Проте ріст довжини діафіза у щурів цього віку поступово призупиняється. Ширина епіфізарного хряща стегнової кістки відповідала показникам $(242,54 \pm 0,31)$ мкм, плечової кістки – $(225,17 \pm 8,33)$ мкм, відносна площа губчастої кісткової тканини становила $(22,91 \pm 0,49)$ % та $(20,96 \pm 0,20)$ %, ширина кісткових трабекул стегнової кістки становила $(67,05 \pm 0,26)$ мкм, плечової кістки $(57,63 \pm 0,29)$ мкм. Потрібно відзначити також, що загальний об'єм спонгіози обох досліджуваних кісток поступово зменшується та становить $(24,35 \pm 0,27)$ % у стегновій кістці та

($25,28 \pm 0,34$) % у плечовій кістці, це може свідчити про зниження процентного співвідношення губчастої кісткової тканини, яка функціонально є більш активною. Отже, спостерігається повільне та поступове зменшення загального об'єму спонгіози, при цьому різниця між середніми показниками щурів є недостовірною. Зменшення кількості остеобластів у первинній спонгіозі також свідчить про зменшення активності кістки. Зниження експресії остеопонтину також підтверджує зменшення кількості остеобластів, що свідчить про зміну процесів ремоделювання кістки, під час яких знижуються процеси осифікації та посилюються процеси резорбції. Рівень експресії остеопонтину в діяфізі становив ($16,21 \pm 1,39$) %, в епіфізі ($19,10 \pm 1,41$) %. Інтенсивність забарвлення цитоплазми слабка (+). Потрібно відзначити посилену експресію показника RANKL ($24,33 \pm 1,53$) % – у діяфізі та ($25,98 \pm 1,49$) % у дистальному епіфізі, що говорить про посилення процесів резорбції в кістці з віком. Спостерігається поступове зменшення кількості остеобластів зі збільшенням терміну спостереження.

Вміст мінеральних речовин у кістках щурів контрольної серії має чітко виражену вікову залежність, проте дещо відрізняється залежно від типу кістки. Найбільший рівень мінералізації притаманний для діяфізів стегнової та плечової кісток, та зменшується поступово у епіфізах. З віком відбувається поступове зменшення мінералізації кістки. Вміст Са в діяфізі стегнової кістки становила ($2406,40 \pm 0,27$) мкг/г, плечової – ($2182,61 \pm 0,60$) мкг/г у дистальному епіфізі ($2091,71 \pm 0,31$) мкг/г та ($1976,20 \pm 0,53$) мкг/г відповідно, вміст Р в діяфізі становив ($822,33 \pm 12,78$) мкг/г та ($752,46 \pm 0,26$) мкг/г, в епіфізі відповідно ($791,64 \pm 0,24$) мкг/г та ($752,16 \pm 0,59$) мкг/г. Вміст мікроелементів Cu, Zn та води в більшому процентному співвідношенні відмічається у епіфізах трубчастих кісток проте він поступово зменшується з віком. Вміст Zn – залишається більш – менш стабільним протягом усього періоду спостережень. Його рівень в діяфізі стегнової кістки становив ($6,54 \pm 0,25$) мкг/г, плечової ($6,06 \pm 0,14$) мкг/г у дистальному епіфізі цей показник відповідав ($6,44 \pm 0,36$) мкг ($6,07 \pm 0,77$) мкг/г. Відтак у зрілих особин спостерігається більше насичення кісток мінеральними речовинами у

порівнянні зі щурами молодого віку та зрілого віку. Проте кількісний показник таких хімічних елементів як Ca, P, Cu та Zn змінюється з віком.

Тривкісні показники стегнової кістки змінювались наступним чином. Навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки зменшилося до $(484,46 \pm 0,46)$ Н, плечової – $(428,10 \pm 12,94)$ Н. Відповідні показники дистального епіфізу стегнової кістки склали $(320,12 \pm 0,42)$ Н, плечової – $(294,36 \pm 0,20)$ Н. Середні показники межі міцності на стиснення діафіза стегнової кістки становили $(145,0 \pm 0,74)$ мПа, плечової $(138,10 \pm 3,61)$ мПа, відповідно дистального епіфізу стегнової кістки $(77,0 \pm 0,38)$ мПа, плечової кістки $(74,30 \pm 0,23)$ мПа.

Показники маси тіла щурів у 23 місяці становили $(226,60 \pm 0,77)$ г. Глюкоза крові – $(5,0 \pm 1,25)$ ммоль/л, HbA1C – $(4,32 \pm 0,65)$ %. Остеометричні показники обох кісток відзначалися незначною інтенсивністю приросту показників. МДК стегнової кістки становила $(37,43 \pm 0,91)$ мм, плечової – $(23,91 \pm 0,33)$ мм, відсоток приросту у порівнянні з попереднім віковим періодом 0,2 % в обох досліджуваних кістках. Показники ШПЕ та ШДЕ достовірністю показників на відзначалися.

Гістологічний аналіз показав, що в щурів цього віку спостерігається потоншення кортикального шару можливо за рахунок резорбції періосту. Зона первинної спонгіози містила велику кількість трабекул, які були дещо довшими за описані у попередніх підгрупах та стонщувалися з частковою втратою поперечних зв'язків між собою. У зоні вторинної спонгіози кількість трабекул була невеликою, вони розміщувалися поодинокі. Також було відмічено наявність ділянок жовтого кісткового мозку.

В епіфізарному хрящі відмічається майже повна відсутність індіферентної зони, що вказує на пригнічення ростових процесів. Клітини зони проліферації розміщувалися переважно в стовпчиках паралельно центральній вісі кістки, але в певних ділянках утворювали скупчення у вигляді великих ізогенних груп, характерних для зони суглобового хряща. Подекуди стовпчики були повністю відсутні або склалися з гіпертрофованих клітин. Особливості будови

епіфізарного хряща в щурів контрольної серії полягають у зменшенні ширини та пропорційному зниженні розмірів хряща з віком.

Макроелементний склад стегнової та плечової кісток відповідав наступним показникам: Ca та P в зоні діафіза стегнової кістки становив $(2342,38 \pm 0,24)$ мкг/г та $(815,34 \pm 0,17)$ мкг/г, відсоток втрати – 2,1 % та 0,5 %, у дистальному епіфізі ці показники були дещо іншими та становили $(2028,15 \pm 0,44)$ мкг/г та $(779,31 \pm 0,28)$ мкг/г, відсоток втрати – 2,3 % та 0,8 %; плечової кістки: Ca $(2123,5 \pm 0,284)$ мкг/г, P – $(745,34 \pm 1,50)$ мкг/г, відсоток втрати – 2,1 % та 0,5 %, у дистальному епіфізі Ca – $(1913,45 \pm 0,16)$ мкг/г та P – $(741,67 \pm 19,26)$ мкг/г, відсоток втрати – 2,4 % та 0,8 % відповідно. Вміст Cu в діафізах обох кісток становив $(54,04 \pm 0,28)$ мкг/г та $(50,09 \pm 0,18)$ мкг/г, в епіфізах – $(55,87 \pm 0,22)$ мкг/г та $(53,17 \pm 0,17)$ мкг/г, при цьому ми можемо спостерігати незначне накопичення кількості Cu в кістках дорослих щурів. Показники Zn в діафізі стегнової кістки становили $(6,52 \pm 0,28)$ мкг/г, плечової кістки – $(6,04 \pm 0,18)$ мкг/г, та в епіфізі – $(6,40 \pm 0,30)$ мкг/г та $(6,03 \pm 0,80)$ мкг/г.

Тривкісні показники відзначаються зменшенням механічних властивостей, відповідно показник навантаження при стисненні діафізу стегнової та плечової кісток становив $(476,77 \pm 6,57)$ Н, $(418,04 \pm 0,24)$ Н, в дистальному епіфізі цей показник був значно меншим та становив $(310,37 \pm 0,21)$ та $(283,57 \pm 0,29)$ Н. Середній показник міцності при стисненні діафіза відповідних кісток також змінився та складав $(144,40 \pm 0,27)$ мПа, $(136,6 \pm 0,42)$ мПа, відсоток втрати – 0,2 % та 0,8 %, в дистальному епіфізі $(75,30 \pm 0,66)$ мПа, $(72,50 \pm 0,43)$ мПа, відсоток втрати відсоток втрати – 0,9 % та 0,8 %.

Вага щурів у 26 місяців становила $(229,63 \pm 0,70)$ г. Глюкоза крові – $(6,70 \pm 1,55)$ ммоль/л, HbA1C – $(4,10 \pm 0,55)$ %. Остеометричні показники обох кісток відзначалися не значною інтенсивністю приросту. МДК стегнової кістки збільшилась на 3,2 %, плечової – на 3,1 %. ШСД стегнової кістки становило $(3,35 \pm 0,39)$ мм, плечової – $(2,22 \pm 0,33)$ мм, що на 0,9 % більше за показники щурів попереднього вікового періоду. Показники ШПЕ та ШДЕ, як і в попередній

підгрупі достовірністю показників не відзначалися. ШПЕ стегнової кістки збільшилось на 1,3 %, плечової – на 1,7 %, ШДЕ на 1,5 % та 1 % відповідно (рис.3.3).

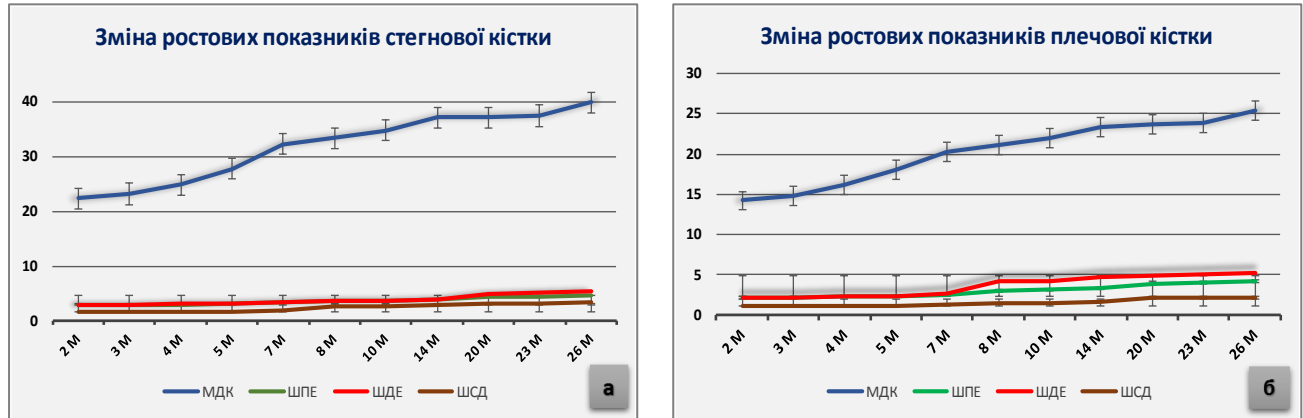


Рисунок 3.3 – Динаміка змін остеометричних показників стегнової (а) та плечової (б) кісток щурів серії контролю

У кортексі було відмічено певну зміну структури що можливо є результатом резорбції в каналах остеонів (рис.3.4).

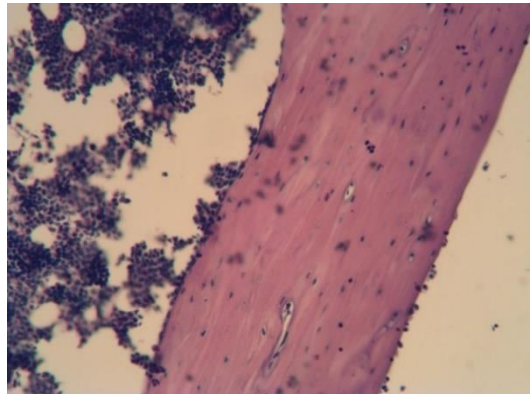


Рисунок 3.4 – Діафіз стегнової кістки щура серії контролю на 26-му міс. експерименту. Збільшення $\times 100$, забарвлення гематоксилін та еозин

На 26 добу спостереження в епіфізарному хрящі відмічено появу гіпертрофованих клітин у проліферативних колонках, що можливо пов'язано з віком. Виразніші зміни зафіксовано у зоні вторинної спонгіози, а саме значне зниження кількості трабекул, не дивлячись на їх наявність у зоні первинної спонгіози.

Макроелементний склад стегнової та плечової кісток відповідав наступним показникам: Са та Р в діафізі стегнової кістки становив $(2220,30 \pm 0,34)$ мкг/г,

(799,21 ± 0,12) мкг/г, плечової кістки – (2004,45 ± 0,31) мкг/г та (728,63 ± 11,52) мкг/г, відсоток зміни склав 1,5 %; 0,6 %, та 1,5%; 0,8 %. У дистальному епіфізі ці показники склали (1914,1 ± 0,68) мкг/г, (760,20 ± 19,04) мкг/г та (1796,41 ± 0,25) мкг/г, (723,31 ± 0,29) мкг/г відсоток зміни – 1,8 %; 0,7 %, та 2 %; 0,7 %.

Вміст Cu в діафізах обох кісток становив (53,28 ± 0,11) мкг/г, (49,33 ± 0,20) мкг/г, в епіфізах – (54,73 ± 0,16) мкг/г, (52,05 ± 0,22) мкг/г відповідно, Zn – (6,49 ± 0,27) мкг/г, (5,99 ± 0,24) мкг/г та (6,34 ± 0,31) мкг/г, (5,97 ± 0,85) мкг/г відповідно. Проте показники Cu та Zn порівнянно з показниками в попередній підгрупі достовірністю не відзначалися. Біомеханічні показники у щурів цього віку вказують на поступове зменшення тривкісних характеристик, що може бути пов'язано з віком.

3.2 Морфофункціональні особливості кісток скелета щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії.

Порушення кісткового формування в молодому віці є досить актуальною проблемою. Адже саме в молодому віці накопичується близько 90 % кісткової маси, це забезпечує міцність і стійкість скелета до впливу різних несприятливих факторів протягом усього життя [94;95].

Починаючи з 2-ї доби експерименту, у тварин експериментальної серії спостерігалася полідипсія та поліурія, середній показник концентрації глюкози в сироватці крові перевищував такий у тварин контрольної серії в 3 рази, середній показник концентрації HbA1c був більшим у 2 рази (але перебував у межах нормального діапазону), середній рівень глюкозурії становив 18,9±2,10 ммоль/л (табл. А. 1.1). Показники вуглеводного обміну в щурів експериментальної серії свідчили про наявність гіперглікемії, а їх динаміка в ході експерименту відображала особливості компенсаторно-приспосувальних змін в організмі тварин за даних умов.

3.2.1 Морфологія кісток щурів на 30-ту добу експерименту. На 30-ту добу експерименту за умов алоксанової гіперглікемії вага тварин зменшилася на 9,8 % порівняно з контролем, і становила $(93,34 \pm 1,08)$ г ($p < 0,001$). Показники глюкози в крові та глікозильованого гемоглобіну становили $(19,30 \pm 1,69)$ ммоль/л і $(7,0 \pm 0,66)$ % відповідно.

На 30-ту добу експерименту гіперглікемія не призводить до достовірних змін основних остеометричних показників, крім МДК. Відповідні показники стегнової кістки становили $(18,96 \pm 1,16)$ мм, показники плечової кістки – $(11,94 \pm 0,77)$ мм ($p < 0,001$). Відтак МДК стегнової була достовірно меншою на 18 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 19 % ($p < 0,001$). Показники ШПЕ стегнової та плечової кісток становили відповідно $(2,71 \pm 0,26)$ мм та $(2,07 \pm 0,13)$ мм. ШДЕ діафіза обох кісток становили $(2,85 \pm 0,22)$ мм і $(2,09 \pm 0,15)$ мм. Середні показники ширини проксимального та дистального епіфізів обох кісток достовірно не відрізнялися від показників тварин серії контролю. ШСД становила $(1,60 \pm 0,37)$ мм та $(1,07 \pm 0,13)$ мм. Показники ШПЕ були менші за контроль на 4,8 % та 4,3 %, ШДЕ – на 2,1 % та 3,8 %, ШСД – на 5 % і 4,8 %. У зазначений термін спостереження відзначено менші показники МДК як стегнової, так і плечової кістки порівняно з тваринами серії контролю. Це свідчить про затримку ростових показників кісток щурів експериментальної серії.

За допомогою морфометричного дослідження встановлено, що впродовж першого місяця експерименту площа діафіза та діаметр каналів остеонів стегнової та плечової кісток у щурів експериментальної та контрольної серії достовірно не відрізнялися (табл. А. 3.1). Зміна морфометричних показників діафіза обох кісток тварин експериментальної серії показала, що в матриксі кортексу спостерігається наявність немінералізованих ділянок. У структурі діафіза спостерігається наявність незначної кількості ліній склеювання, порожнин остеокластичної резорбції та порожніх остеоцитарних лакун. Середня величина площі діафіза обох кісток у тварин експериментальної серії була дещо меншою, ніж у тварин контрольної серії в стегновій кістці на 1,6 % та в плечовій – на 1,5 %, що

відповідно показникам $(3,15 \pm 0,28)$ мм та $(2,63 \pm 0,33)$ мм. Показник діаметра остеонів стегнової кістки виявився більшим у тварин експериментальної серії на 2,5 % і становив $(27,83 \pm 0,55)$ мкм ($p < 0,05$) та плечової кістки – на 2,6 % і відповідав показнику $(18,86 \pm 0,40)$ мкм відповідно, ($p < 0,05$). Також у тварин експериментальної серії встановлено більший середній показник діаметра каналів остеонів порівняно з контролем – $(9,30 \pm 0,27)$ мкм та $(7,70 \pm 0,40)$ мкм.

При гістологічному дослідженні на 30-ту добу експериментальної гіперглікемії в кортикальному шарі обох кісток виявлено виражену резорбцію поверхні періосту з утворенням різного розміру та форм порожнин (рис. 3.5). Унаслідок цього ширина кортекса істотно стоншувалася на деяких ділянках.

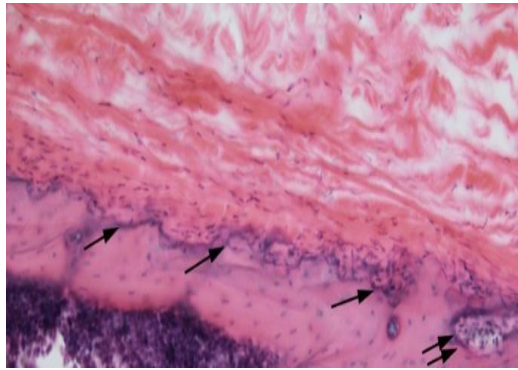


Рисунок 3.5 – Діафіз стегнової кістки щурів молодого віку на 30-ту добу експерименту. Нерівномірна резорбована поверхня періосту (стрілка), розширення судинного каналу (стрілки), потоншення кортекса на ділянках. Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

Ендост мав нерівну поверхню, але був укритий остеобластами. Періост також мав нерівні контури, був укритий шаром сполучної тканини, що складалася з пучків колагенових волокон із фіброцитами, розташованих паралельно основній вісі кістки. Остеоцити у структурі кісткової тканини розміщувалися рівномірно.

У структурі діафіза як стегнової, так і плечової кісток тварин спостерігали наявність ліній склеювання. Також було виявлено порожнини остеокластичної резорбції та появу порожніх остеоцитарних лакун, що може свідчити про загибель остеоцитів шляхом апоптозу. Щільність кісткової тканини в таких місцях була порушеною, про що свідчить наявність тріщин і щілин у кістковій тканині.

У дистальному епіфізі можна відзначити те, що новоутворені трабекули розміщувались дуже щільно, вони були короткими й дещо стоншеними. Між ними розміщувалася велика кількість капілярів та преостеобластів, що пов'язано з формуванням кісткової тканини в цій зоні.

У зоні вторинної спонгіози зафіксовано невелику щільність трабекул, які розміщувалися на відстані одна від одної. Вони переважно розміщувались паралельно центральній вісі кістки. Ширина трабекул була нерівномірна, місцями значно стоншена (рис. 3.6). На поверхні деяких трабекул відмічено ділянки, вкриті остеобластами. У кістковому матриксі спостерігались лінії склеювання, що були розміщені хаотично.

Середня ширина кісткових трабекул стегнової кістки у тварин цієї підгрупи виявилася меншою порівняно з контролем на 1,1 % і становила $(57,09 \pm 0,20)$ мкм відповідно ($p < 0,05$). Відповідний показник плечової кістки був меншим на 1,5 % і відповідав значенню $(48,05 \pm 0,36)$ мкм ($p < 0,05$). У трабекулах остецити розміщувалися нерівномірно, подекуди траплялися загиблі клітини. Лінії цементації були переважно паралельними. У структурі багатьох трабекул зафіксовано немінералізовані ділянки матриксу. Міжтрабекулярні простори заповнені червоним кістковим мозком.

У зоні індіферентивного хряща розміщувалися сплющені клітини з базофільним ядром та слабкобазофільною цитоплазмою. Проліферативна зона була найбільшою за висотою та виконана стовпчиками з хондробластів орієнтованих паралельно центральній вісі стегнової та плечової кісток. Клітини мали сплющену або тригональну форму з базофільним ядром та цитоплазмою, їх розмір збільшувався з наближенням до зони дифінітивного хряща.

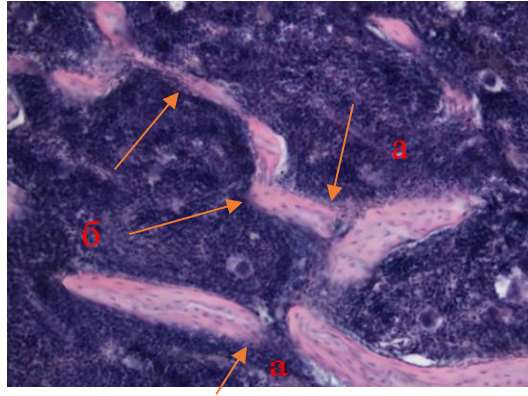


Рисунок 3.6 – Трабекули у зоні вторинної спонгіози стегнової кістки щурів молодого віку. Нерівномірна товщина трабекул (а), відсутність зв'язку між ними (б). Збільшення×200, забарвлення гематоксилін та еозин

У зоні дифінітивного хряща клітини мали вакуолізовану цитоплазму, ядро було базофільним, але втрачало чіткі контури. У переважній більшості проліферативних колонок траплялися порожні ділянки без клітин.

Середній показник ширини епіфізарного хряща стегнової кістки становив $(207,18 \pm 4,13)$ мкм ($p < 0,05$). Середній показник ширини епіфізарного хряща плечової кістки у тварин із гіперглікемією становив $(196,76 \pm 3,99)$ мкм.

Для визначення рівня експресії остеопонтину та RANKL у кістках було проведено імуногістохімічне дослідження, під час якого ми спостерігали високий рівень експресії остеопонтину як у діафізі, так і в епіфізі обох кісток, проте цей показник був дещо меншим порівняно з контролем. Показники експресії RANKL у щурів із гіперглікемією діафіза становили $(25,71 \pm 2,17)$ %, епіфіза – $(29,14 \pm 1,65)$ %. Експресія остеопонтину в досліджуваних кістках була сильною. Частка позитивно забарвлених клітин діафіза становила $(24,17 \pm 1,51)$ %, що на 9 % менше порівняно з контролем. Інтенсивність забарвлення цитоплазми сильна (+++), показники епіфіза становили $(27,32 \pm 1,43)$ %, що на 10,4 % менше за контроль. Інтенсивність забарвлення також сильна (+++). Нижча інтенсивність забарвлення може бути пов'язана з появою деструктивних змін у цій зоні.

У результаті електронно-мікроскопічного аналізу кісткової тканини обох кісток щурів молодого віку було виявлено, що на поверхні кісткових трабекул

розміщувалися остеобласти з низьким рівнем розвитку мембранних органел. У переважній більшості клітин було гетерохромне ядро та гранулярна ендоплазматична сітка (гЕПС) (рис. 3.7 а). Профілі гЕПС були поодинокими, що свідчить про помірний ступінь синтезу білків остеобластами. Деякі клітини містили поодинокі мітохондрії. Також зустрічалися остеобласти з двома ядрами, що вказує на їх проліферацію (рис. 3.7 б). Було виявлено загиблі остеобласти зі зруйнованими органелами та електронно-щільним ядром. Остеоцити мали гетерохромне ядро, зустрічались поодинокі профілі гЕПС. Часто траплялися загиблі клітини з вираженою вакуолізацією цитоплазми або її гомогенізацією.

Кістковий матрикс містив осередки нерівномірної мінералізації та немінералізовані ділянки (рис. 3.8), що може свідчити про порушення цього процесу внаслідок зміненого функціонування остеобластів.

Зміни хімічного складу досліджуваних кісток можуть характеризувати метаболічні зміни як у досліджуваному органі, так і в усьому організмі. На 30-ту добу експерименту спостерігається зменшення мінеральної насиченості обох досліджуваних кісток. Показники вмісту Са у діафізі стегнової та плечової кісток виявилися дещо меншими у тварини експериментальної серії порівняно з контролем на 2,3 % та 2,5 %.

Вміст Са в стегновій кістці відмічався на рівні $(2409,12 \pm 0,82)$ мкг/г, плечової кістки – $(2201,72 \pm 0,63)$ мкг/г, у дистальному епіфізі – $(2175,77 \pm 0,66)$ мкг/г та $(1968,30 \pm 0,63)$ мкг/г, різниця показників з контролем склала 2,5 % і 2,8 %. Р у діафізі обох кісток становив $(816,21 \pm 0,57)$ мкг/г і $(770,30 \pm 6,63)$ мкг/г, у дистальному епіфізі – $(813,07 \pm 6,60)$ мкг/г та $(768,24 \pm 6,60)$ мкг/г, різниця показників – 0,3 %.

Відповідні зміни значень можна спостерігати і в різниці Cu і Zn у обох кістках. Cu у діафізах обох кісток становив $(51,13 \pm 0,33)$ мкг/г і $(43,17 \pm 12,12)$ мкг/г, у епіфізах відповідно – $(54,07 \pm 1,54)$ мкг/г і $(51,53 \pm 0,27)$ мкг/г. Zn – $(7,05 \pm 0,29)$ мкг/г та $(6,37 \pm 0,16)$ мкг/г і $(8,08 \pm 0,23)$ мкг/г та $(6,57 \pm 0,25)$ мкг/г відповідно.

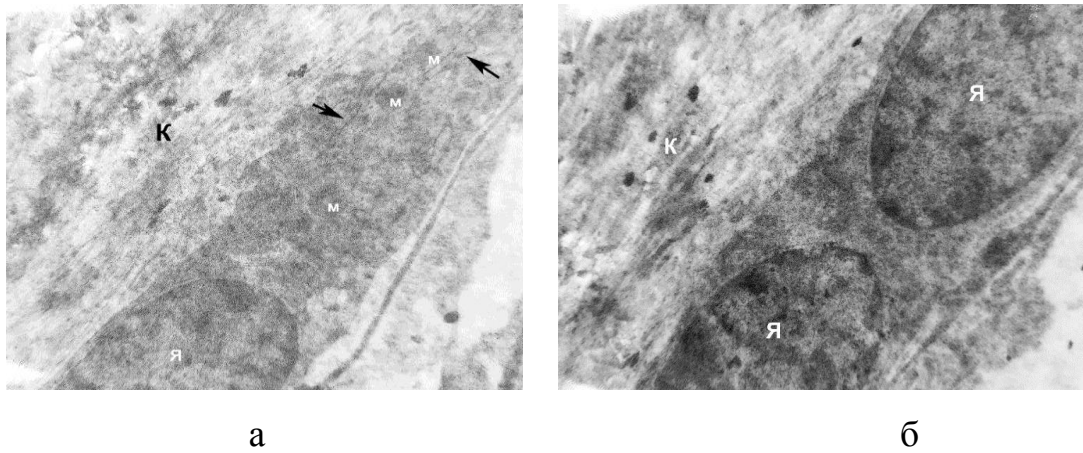


Рисунок 3.7 – Остеобласти на поверхні кісткової трабекули (К): а) остеобласт із гетерохромним ядром (Я), мітохондріями (м) та профілями гЕРС (стрілка); б) остеобласт із двома ядрами (Я). Щури молодого віку, 30-та доба експерименту. Збільшення $\times 10000$, контрастування за Рейнольдсом

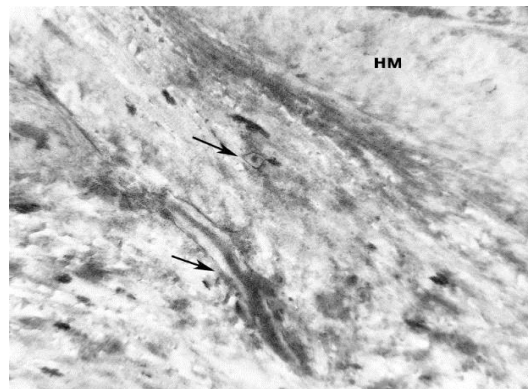


Рисунок 3.8 – Кістковий матрикс з електронно-щільними ділянками та одиничними відростками остеоцитів (стрілка). Немінералізована ділянка (нм). Щури молодого віку 30-та доба експерименту. Збільшення $\times 10000$, контрастування за Рейнольдсом

Зменшення показників макро – та мікроелементного складу призводить до зниження міцнісних властивостей кісток. Максимальна втрата відбувається протягом раннього періоду захворювання, в подальшому показники МЩКТ стабілізуються на рівні 90–95%.

Згідно отриманих показників навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки у тварин цього віку становило $(394,17 \pm 0,37)$ Н, різниця з контролем склала 11 %, епіфіз – $(270,20 \pm 0,23)$ Н, різниця – 8 %. Показники міцності при стисненні діафіза стегнової кістки були $(154,0 \pm 0,19)$ мПа, різниця з контролем склала 1 %, епіфіза – $(78,10 \pm 0,56)$ мПа. Середній показник навантаження при стисненні діафіза плечової кістки становив $(384,31 \pm 0,18)$ Н, епіфіза – $(260,10 \pm 6,55)$ Н. Середні значення міцності на стиснення діафіза плечової кістки склали $(156,20 \pm 0,35)$ мПа, епіфіза – $(78,60 \pm 0,30)$ мПа, різниця з контролем діафіза склала 1 %, та епіфізу – 1%, відповідно.

3.2.2 Морфологія кісток щурів на 60-ту добу експерименту. Маса тварин дещо збільшилася і становила $(118,31 \pm 0,92)$ г, але дефіцит маси тіла експериментальних тварин порівняно з контролем становив 10,7 %.

Відбулися зміни у бік уповільнення остеометричних показників: максимальна довжина стегнової та плечової кісток були меншими на 13,9 % та 16 % порівняно з контролем і становили $(20,35 \pm 1,04)$ мм та $(12,76 \pm 1,08)$ мм, ШСД становила $(1,62 \pm 0,36)$ мм і $(1,09 \pm 0,15)$ мм, ШПЕ – $(2,90 \pm 0,12)$ мм та $(2,12 \pm 0,26)$ мм, різниця з контролем – 4,7 % та 5,2 %. ШДЕ – $(2,90 \pm 0,12)$ мм та $(2,12 \pm 0,26)$ мм, відсоток зміни – 2,8 % та 4,7 % відповідно. Певне зменшення остеометричних показників обох кісток порівняно з контролем говорить про затримку ростових показників у щурів цієї вікової групи.

Гістологічне дослідження діафіза досліджуваних кісток виявило наявність різного розміру та форм резорбованих ділянок. На деяких ділянках ширина кортекса була потоншена. Дистальний епіфіз представлено первинною і вторинною спонгіозами, що характеризується зменшенням їх об'ємної щільності, зміною товщини та зменшенням довжини трабекул. Ширина кісткових трабекул

стегнової кістки складала ($57,30 \pm 0,29$) мкм, плечової кістки – ($48,18 \pm 0,50$) мкм ($p < 0,001$). Поверхня кісткових трабекул була резорбована, виявлено утворення гаушипових лакун на їх поверхні, а також на поверхні ендоста поряд із такими трабекулами.

Морфометричні показники величини площі діафіза стегнової й плечової кісток становили ($3,26 \pm 0,54$) мм і ($2,72 \pm 0,29$) мм, що на 1,8 % менше порівняно з контролем, діаметр остеонів та діаметр каналів остеонів були більшими у експериментальних тварин порівняно з контролем, у стегновій кістці вони становили ($28,43 \pm 0,36$) мкм та ($9,93 \pm 0,53$) мкм ($p < 0,05$), різниця з контролем – 3,9 % та 9,7 %, у плечовій кістці – ($19,30 \pm 0,23$) мкм і ($8,12 \pm 0,22$) мкм ($p < 0,05$), різниця з контролем – 4,1 % та 9,4 %.

Гістологічне дослідження діафіза як стегнової, так і плечової кісток тварин виявило наявність ліній склеювання, що вказує на затримку періостального кісткоутворення. Відзначено появу порожніх остеоцитарних лакун, що свідчить про загибель остеоцитів. Щільність кісткової тканини в таких місцях була порушеною, про що свідчить наявність тріщин та щілин у кістковій тканині (рис. 3.9).

Результати гістологічного дослідження епіфізів обох кісток показують, що в зоні первинної спонгіози зафіксовано часткову відсутність кісткових трабекул (рис. 3.10 б). Безпосередньо під зоною гіпертрофії та кальцифікації встановлено шар кісткового матриксу з остеоцитами у вигляді еозинофільно забарвленого пласту, перпендикулярного центральній вісі стегнової кістки. Він мав неоднакову ширину, а місцями був зовсім відсутній, як і кісткові трабекули. Поодинокі кісткові трабекули в цій зоні мали різну товщину, на ділянках, прилеглих до епіфізарного хряща, стоншувалися. Ці трабекули не утворювали контактів одна з одною.

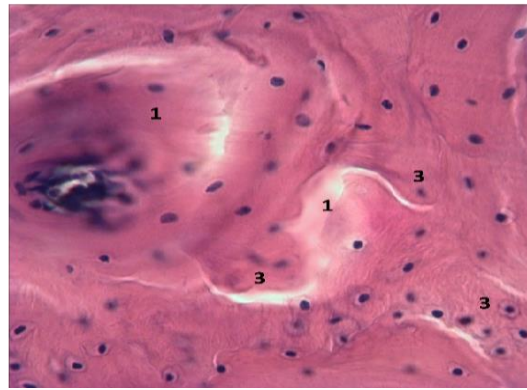
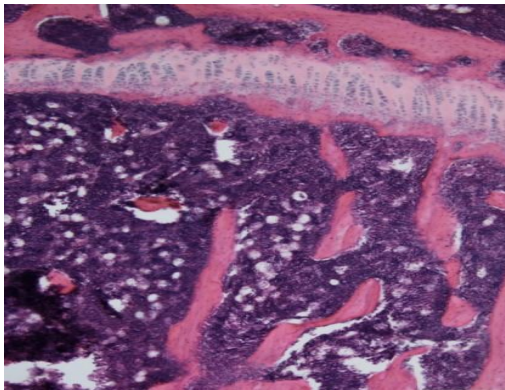
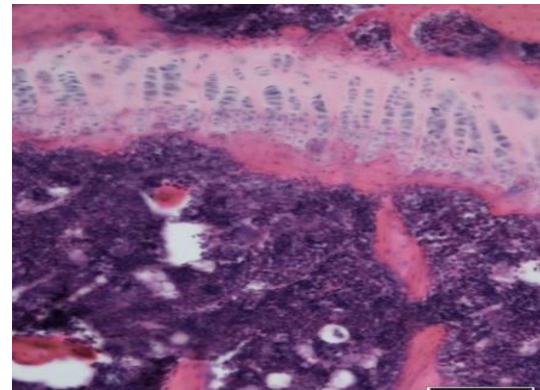


Рисунок 3.9 – Діафіз стегнової кістки щура молодого віку: 1 – зона гомогенізації; 2 – лінії склеювання; 3 – тріщини і щілини в кістковій тканині. Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин



а



б

Рисунок 3.10 – Фрагмент дистального епіфіза стегнової кістки (а) щурів молодого віку на 60-ту добу експерименту. Епіфізарний хрящ із зоною первинної та вторинної спонгіози. Нерівномірна щільність та висота проліферативних колонок. Відсутність трабекул у зоні первинної спонгіози. Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

У зоні вторинної спонгіози виявлено малу кількість кісткових трабекул (рис. 3.10 а). Вони, як і в зоні первинної спонгіози, не утворювали кісткової мережі, були нерівномірної товщини. Кісткові порожнини були заповнені червоним кістковим мозком з осередками жовтого кісткового мозку, що вказує на зниження остеогенного потенціалу. Крім того, трабекули подекуди не з'єднувалися з кортексом, що може призводити до зниження міцнісних якостей кістки.

Відносна площа губчастої тканини стегнової кістки у експериментальних щурів була меншою, порівняно з контролем, і становила $(17,11 \pm 0,32)$ мкм ($p < 0,05$) відповідно. Середні показники площі губчастої тканини плечової кістки спостерігалися на рівні $(14,21 \pm 0,19)$ % ($p < 0,001$). Різниця з контролем склала 3,6 % та 5,4 %.

У структурі епіфізарного хряща стегнової та плечової кісток щурів було зафіксовано виражені структурні зміни (рис. 3.10 а): зона індіферентного хряща мала нехарактерну будову замість сплющених, розміщених перпендикулярно до центральної вісі клітин, установлено утворення колонок із 2–3 клітин (рис. 3.10 б); спостерігалось скорочення чисельності проліферативних колонок у зоні проліферації, які розміщувалися на відстані одна від одної. Деякі хондробласти у колонках мали зруйновані ядра, що говорить про загибель клітин. Зона дифінітивного хряща в деяких ділянках була відсутня, що може перешкоджати утворенню кісткових трабекул.

Середній показник ширини епіфізарного хряща стегнової кістки становив $(203,31 \pm 3,32)$ мкм ($p < 0,001$), плечової кістки – $(192,28 \pm 4,0)$ мкм ($p < 0,001$).

ІГХ – дослідження зразків діафіза щурів молодого віку показало незначне зниження частки позитивно забарвлених клітин, що експресують остеопонтин та зростання показника RANKL. Відповідно до шкали Allred було відмічено, що частка імунопозитивних клітин за показником остеопонтину відзначалась як у діафізі, так і в епіфізі, однак частка клітин та інтенсивність забарвлення було дещо підвищеним в трабекулярній КТ. Можливо це зумовлено різною інтенсивністю метаболічних процесів кортикальної та трабекулярної кістки (табл. А. 1.2).

Ультрамiкрометричне дослідження виявило гiпертрофiю остеобластiв, гiпертрофiю гЕПС, а саме розширення цистерн та набухання мiтохондрiй (рис. 3.11).

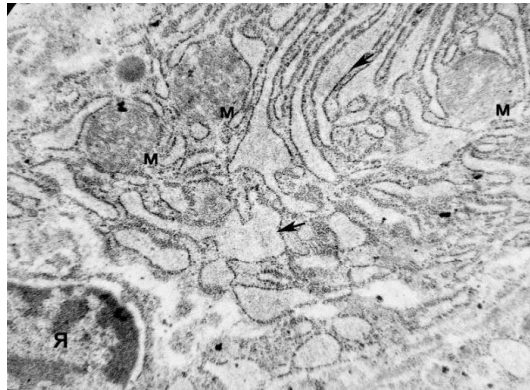


Рисунок 3.11 – Фрагмент остеобласта з дуже розвиненою гЕПС (стрiлка), набухлими мiтохондрiями (м) та гетерохромним ядром. Щури молодого вiку на 60-ту добу експерименту. Збiльшення $\times 20400$, контрастування за Рейнольдсом

Подекуди в остеобластах було вiдмiчено деструкцiю органел, що може свiдчити про неуспiшнiсть компенсаторної реакцiї шляхом гiпертрофiї органел. У нечисленних остеобластах було виявлено утворення залишкових тiлець, це є ще однiєю ознакою спроби клiтин адаптуватися до дiї негативного фактору, шляхом внутрiшньоклiтинного перетравлення загиблих органел для пiдтримки клiтинного гомеостазу. Ядра клiтин з гiпертрофiєю гЕПС були гетерохромними (рис. 3.11), в деяких виявлено розширення перинуклеарного простору, що свiдчить про набряк. В остеоцитах так само, як i в остеобластах, встановлено дегенеративнi змiни – набухлi мiтохондрiї та редуцiя мембранних органел. Кiстковий матрикс мав однорiдну структуру.

Рiвень мiнералiзацiї кiсток змiнюється в основному за рахунок зменшення вiмсту макро- та мiкроелементiв, якi знижуються за умов дiї гiпергiкемiї на кiстки скелету. Показники вiмсту макроелементiв таких як Са i Р у дiафiзi стегнової кiстки виявилися дещо меншими у експериментальних щурiв порiвняно з контролем на 6,1 %, плечової кiстки – на 6,9 % показники, а саме: Са – $(2374,76 \pm 0,46)$ мкг/г та $(2143,12 \pm 0,65)$ мкг/г, Р – до $(805,76 \pm 6,72)$ мкг/г ($p < 0,001$) i

(761,38 ± 6,54) мкг/г (p < 0,001), H₂O – (25,33 ± 0,85) % (p < 0,05) та (23,76 ± 1,56) % (p < 0,05), Cu – (50,78 ± 0,29) мкг/г (p < 0,001) і (78,84 ± 2,12) мкг/г (p < 0,001), Zn – (7,02 ± 0,26) мкг/г та (6,34 ± 0,14) мкг/г.

Вміст вказаних елементів в епіфізі також зменшився відповідно до показників зменшення елементів у діафізі. Значення Ca та P в епіфізах обох кісток становили: Ca – (2136,54 ± 0,65) мкг/г (p < 0,001) та (1935,36 ± 0,64) мкг/г (p < 0,001), P – (787,83 ± 6,73) мкг/г (p < 0,001) та (740,31 ± 12,80) мкг/г (p < 0,001), H₂O – (29,61 ± 0,64) % (p < 0,001) і (28,49 ± 0,85) % (p < 0,001), Вміст мікроелементів був дещо вищим за показники в діафізі, проте зміни показників були прямо пропорційні змінам діафіза.

При аналізі показників структурно–функціонального стану кісткової тканини встановлено поступове зниження мінеральної щільності кісткової тканини експериментальних щурів. Навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки порівняно зі щурами попередньої підгрупи зменшилося на 15 %, плечової – на 14 %. Межа міцності при стисненні стегнової кістки також зменшився на 3,5 %, плечової – 4,1 %. Аналогічні показники епіфізів обох кісток під час експерименту змінювались схожим чином до описаних змін діафіза. Навантаження при стисненні епіфізу стегнової кістки знизилося на 13 %, плечової – 12 %, відповідно показники становили (264,12 ± 12,80) Н (p < 0,001) та (254,14 ± 12,83) Н (p < 0,001). Межа міцності на стиснення зменшилася на 2,3 % та 3,6 %, показники зміни стегнової кістки складала (75,20 ± 1,63) мПа (p < 0,001), плечової кістки – (75,80 ± 2,73) мПа (p < 0,05).

3.2.3 Морфологія кісток щурів на 90-ту добу експерименту. Отримані результати показників маси тіла тварин молодого віку демонструють достовірне зменшення показників на 11,2 % порівняно з контролем.

Остеометричні показники показали затримку лінійних значень як діафіза так і епіфіза у порівнянні з контролем: МДК стегнової кістки знизилася до (21,60 ± 1,61) мм, плечової кістки (13,53 ± 0,88) мм, різниця з контролем 15,1 % та 19 %. Аналогічні зміни відбулись і щодо середніх показників ширини проксимального

та дистального епіфізів обох кісток, порівняно з контролем зміна значень достовірністю показників не відзначалася.

У структурі діафіза, як стегнової, так і плечової кісток щурів спостерігали наявність ліній склеювання. Також було виявлено порожнини остеокластичної резорбції та наявність порожніх остеоцитарних лакун, що свідчить про загибель остеоцитів. Лінії склеювання були більш виражені та мали також неструктурований аморфний вигляд. У цих місцях щільність кісткової тканини була порушеною, про це свідчить наявність численних тріщин і щілин у кістковій тканині.

У зоні первинної спонгіози обох кісток зафіксовано часткову відсутність кісткових трабекул. Кістковий матрикс з остеоцитами мав неоднакову ширину, а місцями був зовсім відсутній, як і кісткові трабекули. Спостерігалася значна кількість кісткових порожнин, які були заповнені червоним кістковим мозком з осередками жовтого кісткового мозку, що також вказує на зниження остеогенного потенціалу. Остеоцити розміщувались нерівномірно, подекуди траплялися загиблі клітини. В обох кістках у зоні первинної спонгіози виявлено велику кількість трабекул, які не утворювали трабекулярної мережі. Поодинокі кісткові трабекули в цій зоні мали різну товщину, на ділянках, прилеглих до епіфізарного хряща стоншувалися.

Морфометричні показники діафіза стегнової кістки виявили достовірне збільшення діаметра остеонів і діаметра каналів остеонів у тварин експериментальної серії порівняно з контролем, що становили $(29,55 \pm 0,35)$ мкм та $(10,40 \pm 0,67)$ мкм відповідно ($p < 0,001$), різниця з контролем склала 5,9 % та 17,5 % відповідно. Величини відповідних показників плечової кістки склали $(20,33 \pm 0,46)$ мкм та $(8,49 \pm 0,35)$ мкм ($p < 0,001$), різниця з контролем – 6,9 і 15,8 %, що вказує на розширення вказаних структур у зв'язку з втратою мікроелементного складу кістки.

При гістологічному дослідженні на 90-ту добу експериментальної гіперглікемії в кортикальному шарі обох кісток щурів було встановлено

слабовиражені ознаки резорбції періосту. Ширина кортексу була стоншена на деяких ділянках. На межі періостальної та остеонної зон спостерігається збільшення кількості ліній склеювання, що вказує на затримку періостального кісткоутворення також присутня значна кількість порожнин остеокластичної резорбції (рис. 3.12). Кількість остеобластів значно зменшена. Середня величина площі діафіза обох кісток мала тенденцію до збільшення, проте була меншою порівняно з контролем. Площа діафіза стегнової кістки становила ($3,85 \pm 0,24$) мм, плечової кістки – ($3,18 \pm 0,19$) мм, що на 2 % менше порівняно з контролем.

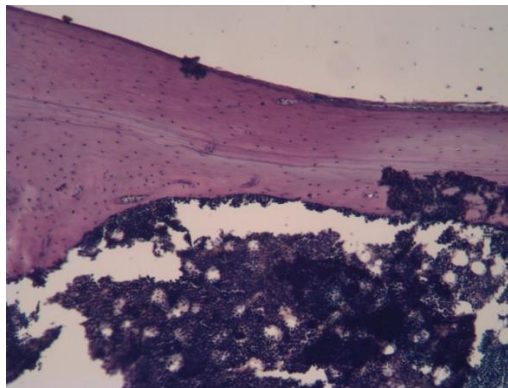


Рисунок 3.12 – Діафіз стегнової кістки щурів молодого віку на 90-ту добу експерименту. Збільшення $\times 400$, забарвлення гематоксилін та еозин

У зоні вторинної спонгіози виявлено незначну кількість кісткових трабекул. Вони, як і у попередній зоні, не утворювали кісткову мережу, та були нерівномірної товщини. Середня ширина кісткових трабекул стегнової кістки у щурів експериментальної серії виявилася меншою, порівняно з контролем на 1,3 % і становила ($59,44 \pm 0,27$) мкм ($p < 0,001$), плечової кістки – на 3 % і становила ($49,86 \pm 0,24$) мкм відповідно ($p < 0,001$). Поверхня кісткових трабекул була також резорбована, виявлено утворення гаушипових лакун на їх поверхні, а також на поверхні ендоста поряд з такими трабекулами. Трабекули не з'єднуються з кортексом, що може призводити до зниження міцнісних якостей кістки.

Середні показники величини площі губчастої тканини стегнової та плечової кісток мали тенденцію до зниження відповідно до вищевказаних показників.

Гістологічне дослідження епіфізарного хряща показало, що в структурі стегнової та плечової кісток щурів було зафіксовано порушення, аналогічне встановленим у щурів попередніх періодів спостереження. У структурі хряща виявлені незначні зони гіпертрофії. Деякі хондробласти в колонках були без'ядерні, що говорить про загибель клітин у цій зоні. Середній показник ширини епіфізарного хряща стегнової кістки становив $(190,47 \pm 6,59)$ мкм, плечової кістки – $(179,90 \pm 6,55)$ мкм ($p < 0,001$). (таб. А. 3.2).

Згідно з результатами ІГХ-дослідження експресія остеопонтину в різних локусах досліджуваних кісток встановила, що частка позитивно забарвлених клітин діафіза становить $(24,28 \pm 1,28)$ %, епіфіза – $(27,41 \pm 1,45)$ %, що свідчить про помірну проліферативну активність клітин. Інтенсивність забарвлення клітин діафіза та епіфіза сильна (+++). У кістковій тканині обох кісток спостерігалася наявність тріщин та зон кісткової резорбції як діафіза так і епіфіза. Експресія RANKL становила $(25,82 \pm 2,03)$ % та $(29,56 \pm 1,48)$ % відповідно. Інтенсивність забарвлення цитоплазми помірна (++) Також спостерігалась велика кількість тріщин і щілин а також резорбційних лакун (рис. 3.13).

Ультрамікроструктура більшості клітин мала гетерохромне ядро та гранулярну ендоплазматичну сітку (гЕПС). Профілі гЕПС були поодинокими, що свідчить про помірний ступінь синтезу білків остеобластами. Багато клітин містили одиничні мітохондрії. Також зустрічалися остеобласти з двома ядрами, що вказує на їх проліферацію. Було виявлено значну кількість загиблих остеобластів із зруйнованими органелами та електронно-щільним ядром. Остеоцити мали гетерохромне ядро, поодинокі профілі гЕПС. Траплялись загиблі клітини з вираженою вакуолізацією цитоплазми (рис. 3.14 а) або її гомогенізацією (рис. 3.14 б).

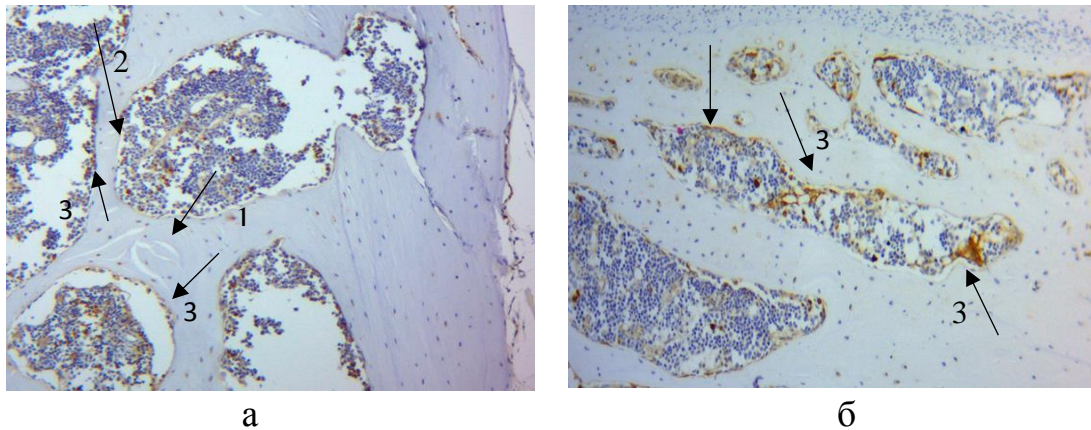


Рисунок 3.13 – Позитивна експресія остепонтину (а) та RANKL (б) стегнової кістки щура молодого віку на 90-ту добу експерименту, ПХ з гематоксиліном Майєра. 1 – тріщини КТ; 2 – наявність кісткової резорбції; 3 – експресовані клітини. Збільшення×400

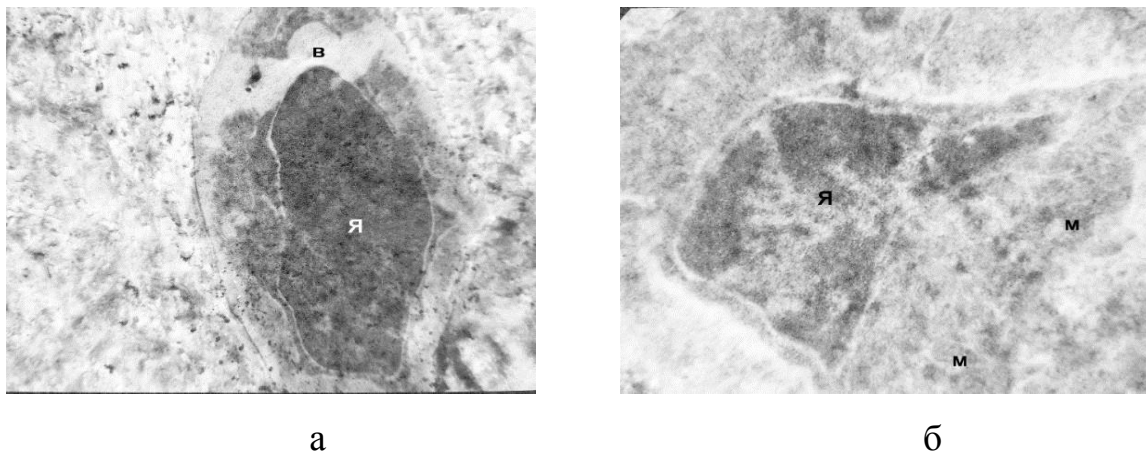


Рисунок 3.14 – Загибель остеоцитів: а) остеоцит з електронно-щільним ядром (Я) та вакуоллю (В); б) остеоцити з гомогенізованою цитоплазмою й одиничними мітохондріями (м). Щури молодого віку на 90-ту добу експерименту. Збільшення а) ×8000; б) ×10000, контрастування за Рейнольдсом

Кістковий матрикс містив осередки нерівномірної мінералізації та немінералізовані ділянки, що свідчить про порушення цього процесу внаслідок зміненого функціонування остеобластів.

З віком відбувається збільшення рівня мінералізації, цей процес є наслідком зменшення вмісту органічних речовин та вологи в кістці. Мікроелементний аналіз трубчастих кісток виявив достовірне зменшення вмісту Ca та P у щурів експериментальної серії до $(2304,20 \pm 0,34)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(791,34 \pm 13,0)$ мкг/г ($p < 0,001$) у діяфізі стегнової кістки та $(2107,67 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,001$), $(747,06 \pm 6,51)$ мкг/г ($p < 0,001$) у діяфізі плечової. Вміст Cu та Zn залишився без істотних змін у порівнянні з показниками попередньої підгрупи (таб. А. 5.1).

Згідно з результатами дослідження обох кісток на 90-ту добу експерименту спостерігали достовірне зменшення МЦКТ в експериментальних тварин. Навантаження при стисненні діяфіза стегнової кістки зменшилося до $(384,45 \pm 12,84)$ Н ($p < 0,001$), плечової – до $(371,45 \pm 12,91)$ Н ($p < 0,001$), межа міцності обох кісток зменшилися прямо пропорційно до описаних вище показників. Аналогічні показники епіфізу стегнової та плечової кісток під час експерименту змінювалися схожим чином до описаних змін діяфіза.

3.2.4 Морфологія кісток щурів на 120-ту добу експерименту. Вага щурів становила $(141,20 \pm 2,94)$ г, що на 20,5 % менше порівняно з контролем, це свідчить про дефіцит маси тіла. Рівень гемоглобіну в крові становив $(13,6 \pm 0,33)$ ммоль/л ($p < 0,05$), HbA1c – $(8,9 \pm 1,48)$ %, що підтверджує наявність стійкої гіперглікемії.

Відповідно до даних остеометрії середні показники приросту довжини стегнової та плечової кісток у тварин експериментальної серії істотно знизилися. Середній показник довжини стегнової кістки порівняно зі щурами попередньої підгрупи знизився на 11,8 %, плечової – на 11 %. Аналогічні відмінності встановлені і для середніх показників ШСД, показники приросту якого становили на 1,2 % та 1 %, що говорить про затримку ростових показників обох кісток. Середні показники ШПЕ і ШДЕ досліджуваних кісток, а також показники їх

приросту достовірно не відрізнялись у тварин контрольної та експериментальної серії упродовж усього терміну експерименту і становили $(2,94 \pm 0,30)$ мм та $(3,08 \pm 0,09)$ мм – для стегнової кістки; $(2,18 \pm 0,27)$ мм та $(2,24 \pm 0,19)$ мм – для плечової кістки, відсоток зміни стегнової кістки становив 2,8 % для обох показників, плечової кістки – 2,8 % та 2,7 % відповідно.

Гістологічне дослідження кортикального шару виявило виражені структурні зміни. Періост також був суттєво резорбований (рис. 3.15).

Відповідно середня величина площі діафіза стегнової кістки була меншою за відповідні показники щурів контрольної серії і становила $(3,96 \pm 0,37)$ мм, плечової – $(3,28 \pm 0,31)$ мм, різниця з контролем склала 4,8 % та 5,5 %, середній діаметр остеонів та каналів остеонів у діафізі стегнової кістки збільшився до $(30,42 \pm 0,33)$ мкм ($p < 0,001$) та $(10,64 \pm 0,69)$ мкм ($p < 0,001$), різниця з контролем 7,1 % та 23 %, плечової кістки – $(20,70 \pm 0,31)$ мкм ($p < 0,001$) та $(9,01 \pm 0,48)$ мкм ($p < 0,001$), що на 7,2 та 24 % більше за показники контролю. Відмічається тенденція до збільшення відповідних показників зі збільшенням терміну гіперглікемії.

Кількість трабекул у зоні первинної спонгіози була меншою порівняно з попереднім терміном. Вони були розташовані з невеликою частотою, мали ділянки немінералізованого матриксу в центральній частині. Міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим мозком з осередками жовтого кісткового мозку, як і у тварин цього віку в попередній термін спостереження. У зоні вторинної спонгіози виявлено невелику кількість трабекул, розташованих поодинокі без формування трабекулярної мережі. Середня ширина кісткових трабекул стегнової кістки у щурів цієї підгрупи виявилася меншою, порівняно з контролем на 2 % і становили $(60,40 \pm 0,30)$ % ($p < 0,001$). Відповідні показники ширини кісткових трабекул плечової кістки знаходились на рівні $(50,59 \pm 0,26)$ мкм ($p < 0,001$). Відносна величина площі губчастої тканини обох кісток зменшилася на 16,8 % та 17 % відповідно.

Гістологічне дослідження стегнової та плечової кісток щурів молодого віку виявило порушення в структурі епіфізарного хряща. Дослідження показало поодинокі розташування проліферативних колонок та неоднорідність їх висоти (рис. 3.16), зона дефінітивного хряща місяцями не виявлялась.

Середній показник ШЕХ стегнової кістки знизився до $(182,22 \pm 5,90)$ мкм ($p < 0,001$), плечової кістки – до $(172,40 \pm 6,56)$ мкм відповідно ($p < 0,001$).

RANKL-позитивні клітини було виявлено в ділянках остеогенезу, кісткових трабекулах та міжтрабекулярних просторах. Рівень експресії клітин визначався як помірний (++)), проте у відсотковому співвідношенні дещо вищий за показники щурів попереднього періоду. Аналогічні показники експресії відмічаються і в епіфізах обох кісток. Частка позитивно забарвлених клітин становила $(29,71 \pm 1,80)$ %. Інтенсивність забарвлення клітин діафіза та епіфіза помірні. Клітини з експресією показника остеопонтину у відсотковому співвідношенні становили $(24,35 \pm 0,96)$ % у діафізі та $(27,47 \pm 1,66)$ % - в епіфізі, що значно менше порівняно з контролем.

На 120-ту добу експерименту в результаті електронно-мікроскопічного аналізу кісткової тканини молодих щурів було виявлено поодинокі профілі гЕПС. Часто траплялися загиблі клітини з вираженою вакуолізацією цитоплазми та її гомогенізацією. Як і в щурів попередньої підгрупи остеобласти мали ознаку деструкції органел. В остеоцитах так само, як і в остеобластах, встановлено значні дегенеративні зміни – були виявлені численні набухлі мітохондрії та редукція мембранних органел (рис. 3.17). У кістковому матриксі спостерігались осередки нерівномірної мінералізації та значні немінералізовані ділянки.

Визначення мінерального складу кісток у тварин експериментальної серії показало певні відмінності розподілу макро- і мікроелементів відповідно до типу кісткової тканини. Найбільший рівень мінералізації характерний для діафіза обох кісток і дещо зменшується в епіфізах. Вміст Са ті Р в діафізі стегнової кістки знизився на 2,6 % та 1,6 % порівняно з показниками щурів попередньої підгрупи

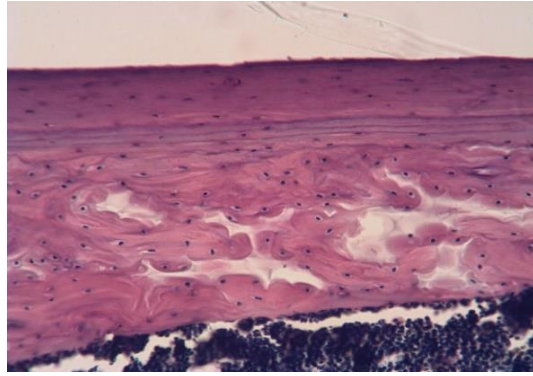


Рисунок 3.15 – Діафіз плечової кістки щура молодого віку на 120-ту добу експерименту. Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

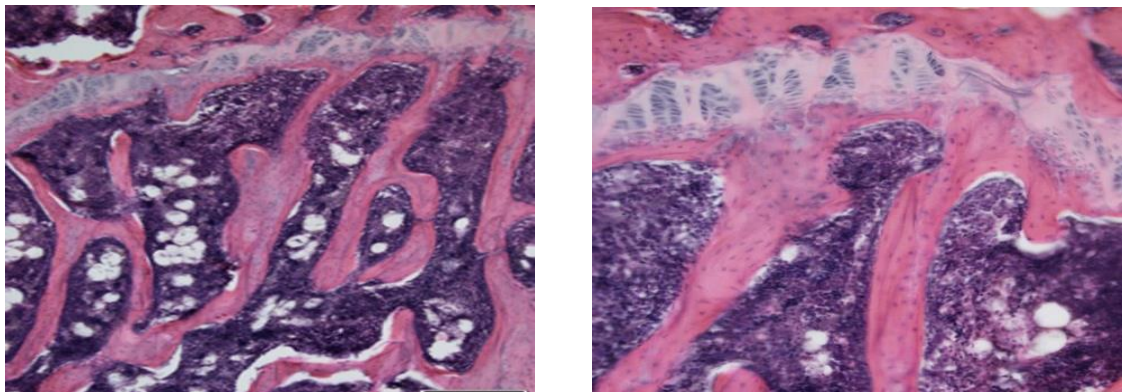


Рисунок 3.16 – Фрагмент епіфіза дистального відділу стегнової кістки (а), плечової кістки (б) щура молодого віку на 120-ту добу експерименту. Епіфізарний хрящ та зона первинною та вторинної спонгіози (а). Порушення орієнтації проліферативних колонок, відсутність їх на ділянках а, б. Збільшення а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

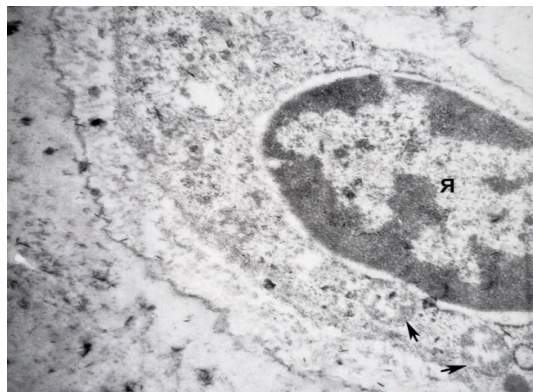


Рисунок 3.17 – Остеоцит із гетерохромним ядром (Я) на набухлими мітохондріями (стрілка) в лакуні. Щури молодого віку на 120-ту добу експерименту. Збільшення $\times 15600$, контрастування за Рейнольдсом

і становив $(2246,80 \pm 0,25)$ мкг/г та $(760,20 \pm 13,02)$ мкг/г, у плечовій – на 2,6 % та 1,6 % – $(2054,12 \pm 0,60)$ мкг/г та $(717,47 \pm 6,59)$ мкг/г.

Вміст цих елементів в епіфізі дещо відрізнявся та становив $(1986,70 \pm 0,95)$ мкг/г і $(724,71 \pm 15,58)$ мкг/г – у стегновій кістці та $(1799,20 \pm 0,95)$ мкг/г і $(689,33 \pm 19,14)$ мкг/г – в плечовій. Достовірних змін Zn не відзначалось.

Вивчаючи механічні властивості стегнових та плечових кісток у тварин молодого віку за умов дії гіперглікемії, відмічається значне зменшення механічних властивостей як у діяфізі, так і в дистальному епіфізі. Відсоток зміни навантаження при стисненні діяфізу стегнової кістки склав 26,4 %, плечової кістки 25,5 %, епіфіза – 27,3 % та 28,3 %, межа міцності на стиснення в діяфізі стегнової кістки зменшилася на 8,4 %, плечової кістки на – 12,5 %, в епіфізі стегнової кістки 11,1 % та плечової – 16,2 %. Це говорить про прогресуючі дегенеративні зміни трубчастих кісток під дією патологічного чинника.

3.2.5 Морфологія кісток щурів на 150-ту добу експерименту. Маса тварин складала $(141,40 \pm 2,56)$ г ($p < 0,001$), що на 28,3 % менше порівняно з контролем. Рівень глюкози в крові та глікозильованого гемоглобіну становив $(13,90 \pm 1,49)$ ммоль/л, що у 2,5 рази більше за норму та $(9,84 \pm 0,92)$ %, що свідчить про наявність хронічної гіперглікемії.

Остеометричні показники стегнової кістки показують затримку інтенсивності приросту показників у тварин молодого віку на 150-ту добу спостереження. Характерних змін зазнають: МДК, ШСД. Відсоток приросту МДК стегнової кістки становить 3,9 %, ШСД – 1,8 %, плечової – МДК – 3,8 %, ШСД – 1,8 %. Варто відзначити більш інтенсивний ріст остеометричних показників у тварин серії контролю в порівнянні зі щурами експериментальної серії. Відповідні зміни відбулись і в зміні середніх показників ширини проксимального та дистального епіфізів обох кісток порівняно з тваринами серії контролю: приріст ширини проксимального та дистального епіфізів стегнової кістки склали та ШПЕ – 3,4 %, ШДЕ – 3,6 %, приріст відповідних показників плечової кістки становили ШПЕ – 5 %, ШДЕ – 3,6 %.

У структурі діафіза обох кісток можна відмітити наявність численних ліній склеювання та порожнини остеокластичної резорбції, що вказує на затримку періостального кісткоутворення. Численні порожні остеоцитарні лакуни, тріщини та щілини, що присутні в цій зоні, свідчить про загибель остеоцитів. У кортикальному шарі, як і в попередні терміни спостереження, встановлено значну резорбцію періосту та його стоншення (рис. 3.18).

Морфометричні показники діафіза стегнової кістки відповідали наступним значенням: площа діафіза стегнової кістки – $(4,07 \pm 0,27)$ мкм, плечової кістки – $(3,38 \pm 0,28)$ мкм, різниця з контролем склала 7,6 % та 7,7 %, діаметр каналів остеонів збільшився на 3,4 % і 4,5 % порівняно з показниками щурів попередньої підгрупи. Аналогічні зміни показників спостерігались і в дистальному епіфізі обох кісток.

У зоні первинної спонгіози обох кісток було зафіксовано часткову відсутність кісткових трабекул. Кістковий матрикс з остеоцитами мав неоднакову ширину. В обох кістках у зоні первинної спонгіози виявлено велику кількість трабекул, які не утворювали трабекулярної мережі. Численні кісткові трабекули в цій зоні мали різну товщину, на ділянках, прилеглих до епіфізарного хряща, стонщувались. У зоні вторинної спонгіози виявлено значну кількість кісткових трабекул які не утворювали кісткову мережу, та були нерівномірної товщини. Спостерігалась значна кількість кісткових порожнин. Остеоцити розміщувались нерівномірно, часто траплялися загиблі клітини.

При гістологічному дослідженні епіфіза було виявлено, що поверхня кісткових трабекул була резорбована, виявлено утворення лакун резорбції на поверхні ендоста поряд із трабекулами. Трабекули не з'єднувались з кортексом, що в свою чергу призводить до зниження міцнісних якостей кістки. Крім того, встановлено значне скорочення чисельності трабекул і майже повна їх відсутність у зоні первинної спонгіози. Поодинокі кісткові трабекули були стоншеними з нерівномірною щільністю остеоцитів у матриксі. Міжтрабекулярні простори

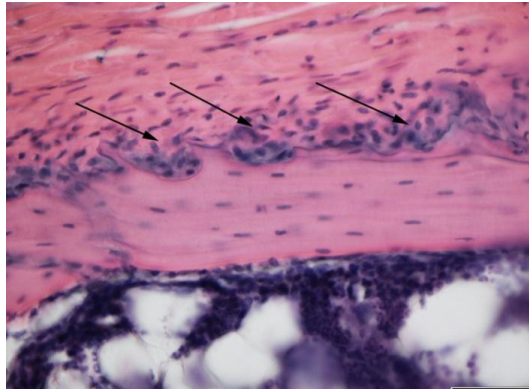
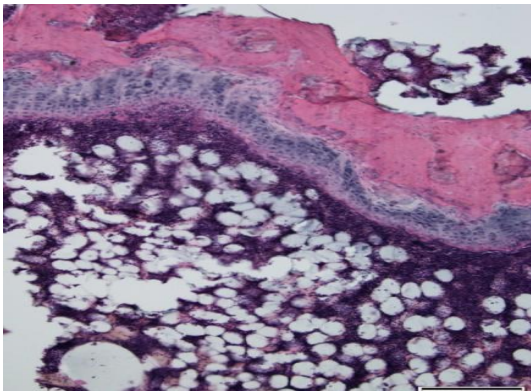
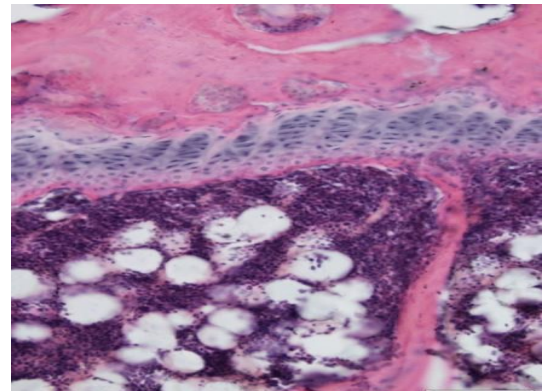


Рисунок 3.18 – Діафіз стегнової кістки щура молодого віку на 150-ту добу експерименту. Резорбційні лакуни у періості (стрілки). Збільшення $\times 400$, забарвлення гематоксилін та еозин



а



б

Рисунок 3.19 – Фрагмент дистального епіфіза стегнової (а) та плечової (б) щурів молодого віку на 150-ту добу експерименту. Епіфізарний хрящ (а, б) із порушенням структури в зоні проліферації, зона первинної та вторинної спонгіози (б). Відсутність кісткових трабекул у зоні первинної спонгіози (а). Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

заповнені червоним та жовтим кістковим мозком, що свідчить про зниження остеогенного потенціалу в молодому віці (рис 3.19).

Морфометричні показники ширини кісткових трабекул свідчать про глибокі зміни будови трабекулярної кісткової тканини в щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Середня ширина кісткових трабекул стегнової кістки зменшилася на 3,3 %, плечової кістки – на 4,7 %. Відносна величина площі губчастої тканини стегнової кістки зменшилась на 7,5 % і становили $(19,26 \pm 0,41)$ % ($p < 0,001$), середні показники площі губчастої тканини плечової кістки зменшились на 8,4 % і становили $(15,97 \pm 0,20)$ % ($p < 0,001$) відповідно.

На 150-ту добу експерименту, було зафіксовано структурні зміни в епіфізарному хрящі переважно в зоні проліферації (рис. 3.19), а саме загибель клітин та втрата структури. Середній показник ширини епіфізарного хряща обох кісток були достовірно меншим порівняно з контролем на 26 % та 29 % ($p < 0,001$).

На тлі виражених дегенеративних змін у різних локусах кістки імуногістохімічне дослідження показало збережені поодинокі клітини, що експресують остеопонтин. Відсоткове співвідношення позитивно забарвлених клітин діафіза складало $(24,38 \pm 1,61)$ %, епіфіза – $(27,54 \pm 1,45)$ % відповідно. Інтенсивність забарвлення визначається як слабка (+). Це може свідчити про поступову деградацію КТ. RANKL–позитивні клітини виявлено як у діафізі, так і в дистальному епіфізі трубчастих кісток. Проте його експресія переважала над попереднім показником і становила $(26,20 \pm 1,80)$ % та $(30,07 \pm 2,47)$ %. Інтенсивність забарвлення визначалась як помірна (++), що свідчить про переважання процесів резорбції над осифікацією (табл. А.3.2).

У результаті електронно-мікроскопічного аналізу стегнової та плечової кісток було виявлено, що профілі гЕПС були поодинокими, спостерігалися загиблі клітини з вираженою вакуолізацією цитоплазми та значна кількість загиблих остеобластів зі зруйнованими органелами та електронно-щільним ядром. Остеобласти мали ознаки деструкції органел. У деяких остеобластах було виявлено утворення залишкових тілець. Ядра клітин із гіпертрофією гЕПС були

гетерохромними, в багатьох виявлено розширення перинуклеарного простору, що свідчить про набряк.

Проведений аналіз показав зміни рівня макроелементів у досліджуваних кістках показав, що найбільші зміни спостерігаються в епіфізах трубчастих кісток та дещо менш інтенсивні – в діафізах. Вміст Са в діафізах обох кісток знизився на 23,8 % та 23,9 % до показника $(2174,17 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,001$) і $(1986,24 \pm 0,62)$ мкг/г ($p < 0,001$). Зміна рівня Р в зазначених ділянках становила відповідно $(745,24 \pm 19,24)$ мкг/г ($p < 0,001$) і $(703,12 \pm 12,90)$ мкг/г ($p < 0,001$). Відсотковий вміст води знизився до $(23,64 \pm 2,20)$ % ($p < 0,001$) та $(22,04 \pm 0,92)$ % ($p < 0,001$), різниця з контролем – 19 % та 23 %. У дистальному епіфізі стегнової кістки вміст Са знизився на 30 %, плечової – на 30,3 %. Зміна рівня Р в зазначених ділянках становила відповідно 20 % та 19,1 %. H_2O – 26,2 % і 26,1 %.

При дослідженні тривкісних параметрів кісток щурів ми виявили поступове зниження більшості біомеханічних показників. Навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки знизилося до $(362,15 \pm 19,14)$ Н, плечової кістки – до $(351,56 \pm 19,19)$ Н ($p < 0,001$). Межа міцності при стисненні стегнової кістки відповідала $(129,30 \pm 0,22)$ мПа ($p < 0,001$), плечової кістки – $(133,20 \pm 3,48)$ мПа ($p < 0,001$).

Тривкісні характеристики дистального епіфіза досліджуваних кісток змінювалися наступним чином: навантаження при стисненні стегнової кістки щурів зменшилося до $(234,51 \pm 12,87)$ Н ($p < 0,001$), плечової кістки – до $(224,17 \pm 12,80)$ Н ($p < 0,001$). Межа міцності при стисненні епіфізу стегнової кістки також була меншою порівняно з контролем і становила $(63,20 \pm 4,50)$ мПа ($p < 0,001$), плечової $(61,90 \pm 0,46)$ мПа ($p < 0,001$), відсоток зміни склав 18 % і 22 %.

3.2.6 Морфологія кісток щурів на 180-ту добу експерименту. На 180-ту добу експерименту вага щурів досягла $(133,60 \pm 2,90)$ г ($p < 0,001$), що на 42,6 % менше порівняно з контрольними щурами цього ж віку. Рівень глюкози залишився на стабільно високому рівні та становив $(13,20 \pm 2,26)$ %, що у два рази більше порівняно з контролем.

Остеометричні показники зберігають тенденцію до збільшення, проте мають значно менші показники порівняно з контролем. МДК стегнової кістки знизилася на 19,8 % та становили $(26,95 \pm 1,06)$ мм, плечової на 20,8 %, що відповідає показникам $(16,80 \pm 0,79)$ мм. Показники ШСД стегнової кістки відповідали $(1,72 \pm 0,42)$ мм, плечової кістки – $(1,15 \pm 0,32)$ мм, різниця з контролем – 7 % в обох кістках. ШПЕ та ШДЕ достовірно показників не відзначалися.

Морфометричне дослідження стегнової й плечової кісток щурів показало зростання щільності трабекул у зоні первинної та вторинної спонгіози порівняно з попереднім терміном. Однак ці показники були достовірно нижчі у порівнянні з контролем. В епіфізарному хрящі виявлено присутність деструктивних ділянок у вигляді гомогенних безклітинних осередків. Це може свідчити про припинення росту кістки в цих ділянках. У кортикальному шарі встановлено розширення судинних каналів, за рахунок чого зменшувалася площа кісткового матриксу та знижує міцність кістки (рис. 3.20).

Зі збільшенням терміну дії гіперглікемії спостерігається погіршення мікроструктури досліджуваних кісток. Середня величина площі діафіза стегнової кістки становила $(4,16 \pm 0,40)$ мм, плечової кістки – $(3,46 \pm 0,29)$ мм ($p < 0,05$). Також потрібно відзначити подальше розширення остеонів та каналів остеонів, що свідчить про дегенеративні зміни в кістковій тканині. Діаметр остеонів стегнової кістки становив $(33,24 \pm 0,33)$ мкм, плечової кістки – $(22,46 \pm 0,33)$ мкм ($p < 0,001$), діаметр каналів остеонів – $(11,81 \pm 0,31)$ мкм і $(9,81 \pm 0,87)$ мкм ($p < 0,001$), різниця з контролем – 37,8 % та 38 %. Це свідчить про порушення процесів перебудови діафіза.

Про переважання процесів резорбції над синтезом в обох кістках свідчить зменшення об'єму загальної спонгіози в стегновій кістці на 29,3 % ($p < 0,001$), у плечовій кістці – на 30,3 % ($p < 0,001$) за рахунок стоншення та руйнування кісткових трабекул. Ширина кісткових трабекул стегнової кістки у тварин експериментальної серії виявилася достовірно меншою порівняно з контролем на

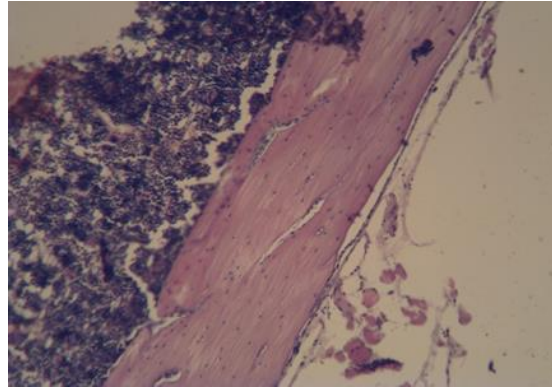


Рисунок 3.20 – Діафіз плечової кістки щура молодого віку на 180-ту добу експерименту. Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

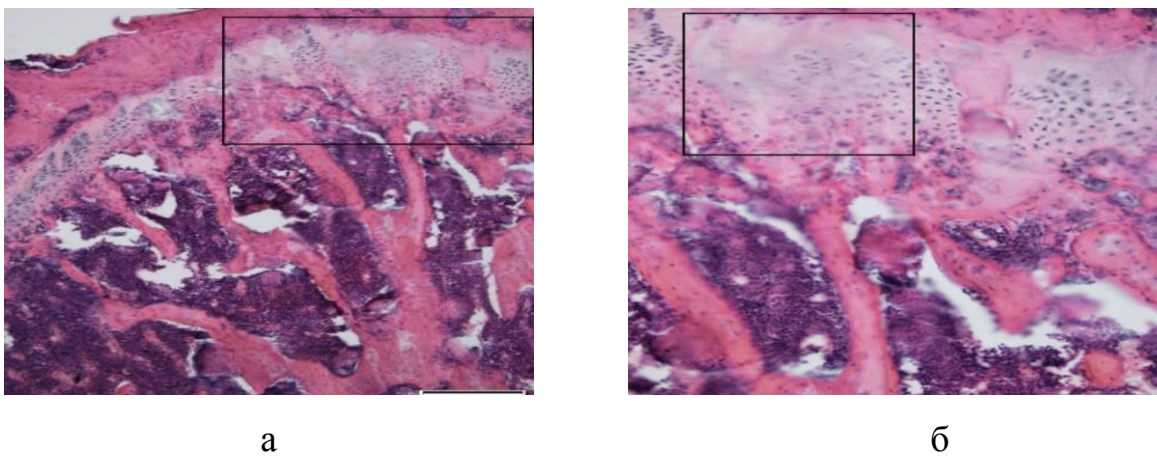


Рисунок 3.21 – Фрагмент дистального епіфіза та метафізу плечової кістки щурів молодого віку на 180-ту добу експерименту. Нерівномірна ширина епіфізарного хряща (а). Безструктурні ділянки на місці проліферативних колонок епіфізарного хряща (б). Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

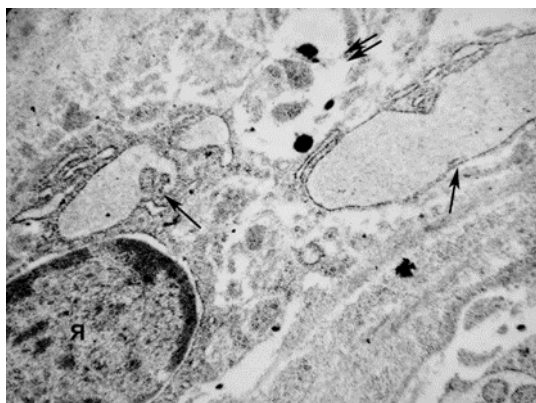


Рисунок 3.22 – Фрагмент остеобласта з гетерохромним ядром (Я) із великими розширеними профілями гЕПС (стрілка) та аутофагосою (дві стрілки). Щури молодого віку на 180-ту добу експерименту. Збільшення $\times 16800$, контрастування за Рейнольдсом

4,9 %, плечової кістки – 5,4 %. Відносна площі губчастої тканини стегнової кістки зменшилась до $(19,90 \pm 0,41) \%$ ($p < 0,01$), плечової $(16,55 \pm 0,24) \%$ ($p < 0,01$), що достовірно менше порівняно з контролем.

Епіфізарний хрящ досліджуваних кісток характеризується значним зменшенням ширини та зміною звичної будови. Кількість патологічно змінених клітин зростає зі збільшенням терміну дії патологічного чинника з найбільшим проявом на 180-ту добу спостереження (рис. 3.21). Середній показник ширини епіфізарного хряща стегнової кістки становив $(169,10 \pm 6,54)$ мкм ($p < 0,001$), плечової кістки – $(160,21 \pm 6,46)$ мкм ($p < 0,001$), різниця з контролем була меншою на 37% та 36,9 %, що значно менше за показники щурів попередньої підгрупи та вказує на зменшення ширини епіфізарного хряща зі збільшенням терміну спостереження.

ІГХ-дослідження виявило слабкий рівень інтенсивності забарвлення клітин та низький рівень експресії остепонтину як у діафізі, так і в епіфізі обох досліджуваних кісток, він становив $(24,42 \pm 1,60) \%$ і $(27,73 \pm 1,58) \%$. Інтенсивність забарвлення слабка (+). Проте показник RANKL був вищим, ніж у попередній підгрупі, і становив $(26,74 \pm 1,08) \%$ та $(30,36 \pm 1,47) \%$, це підтверджується розширенням судинних каналів і відносним зниженням МЦКТ як діафіза так і епіфіза. Інтенсивність забарвлення помірна (++).

На 180-ту добу після введення алоксану ультрамікроскопічний аналіз показав значну гіперфункцію остеобластів: гіпертрофію гЕПС – значне розширення цистерн та набухання мітохондрій. Ядра клітин із гіпертрофією гЕПС були гетерохромними, в багатьох було виявлено розширення перинуклеарного простору (рис. 3.22), що свідчить про набряк.

В остеоцитах та остеобластах дегенеративні зміни поглибилися, про що свідчать значно набухлі мітохондрії та редукція мембранних органел. Кістковий матрикс також містив осередки нерівномірної мінералізації та немінералізовані ділянки.

Проведений аналіз показав зміни рівня макроелементів у досліджуваних кістках, показав, що найбільші зміни спостерігаються в щурів експериментальної серії порівняно зі щурами серії контролю. Вміст Са в діафізі обох кісток зменшився на 36,8 %, в дистальному епіфізі – на 44,2 % та 45,3 % відповідно. Зміна рівня Р в діафізах обох кісток становила 19 % і 19,4 %, в епіфізах – 25,7 % та 24,8 %. Відсоткове співвідношення Zn в досліджуваних кістках достовірністю показників не відзначався.

При дослідженні тривкісних параметрів кісток щурів експериментальної серії ми виявили поступове зниження більшості біомеханічних показників. Навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки становило $(347,26 \pm 16,16)$ Н ($p < 0,001$), плечової кістки – $(337,98 \pm 19,51)$ Н ($p < 0,001$) відповідно. Межа міцності при стисненні діафіза стегнової кістки у була меншою порівняно з контролем на 23,2 %, плечової кістки – на 20,5 %. Тривкісні характеристики дистального епіфіза обох кісток змінювалися наступним чином: навантаження при стисненні стегнової кістки зменшилося до $(223,24 \pm 19,13)$ Н ($p < 0,001$), плечової $(213,03 \pm 12,79)$ Н ($p < 0,001$), що значно менше за показники контролю. Межа міцності при стисненні дистального епіфіза була меншою за відсотковим співвідношенням порівняно з контролем на 25 % та 30 % відповідно. Відповідні показники епіфізів обох кісток змінювалися прямо пропорційно до показників діафіза.

3.3 Морфофункціональні особливості кісток скелета щурів зрілого віку за умов хронічної експериментальної гіперглікемії

3.3.1 Морфологія кісток щурів на 30-ту добу експерименту. Середній показник концентрації глюкози в сироватці крові перевищував такий у тварин контрольної серії в 4,9 раза, середній показник концентрації HbA1c був більшим в 1,5 раза, але перебував у межах нормального діапазону (табл. Б.1.1). У подальшому до 180-ї доби експерименту у тварин експериментальної серії

зберігалась стійка гіперглікемія, глюкозурія та відзначалося поступове збільшення концентрації HbA1c (маркер величини й тривалості гіперглікемії), також було відзначено відсутність приросту маси тіла, на відміну від тварин серії контролю. Показники вуглеводного обміну в щурів експериментальної серії свідчили про наявність стійкої неконтрольованої гіперглікемії, а їх динаміка в ході експерименту відображала особливості компенсаторно–приспосувальних змін в організмі тварин за даних умов.

За даними остеометрії, лінійні показники стегнової кістки тварин відзначалися незначним відсотком приросту. Середній показник МДК стегнової та плечової кісток на 30-ту добу експерименту був дещо меншим за такий порівняно з контролем на 11,2 % та 5,2 %. МДК стегнової кістки становило ($30,04 \pm 1,07$) мм, плечової ($20,05 \pm 0,50$) мм ($p < 0,05$).

Зміни величин показників ШСД стегнової та плечової кісток у щурів упродовж експерименту відповідали змінам, описаним для показників довжини кісток. Відсоток зміни ШСД порівняно з контролем становив 5,34 % в стегновій кістці та 4,2 % в плечовій. Середні показники ШПЕ та ШДЕ стегнової та плечової кісток, а також показники їх приросту, також достовірно не відрізнялись. Різниця показників ШПЕ порівняно з контролем 6 % та 9,6 %, ШДЕ – 6,2 % та 8,4 %.

За середніми показниками площі поперечного перерізу діафіза, діаметра остеонів та їх каналів досліджуваних кісток у тварин експериментальної й контрольної серії достовірно не відрізнялися (табл. Б.3.1 та 3.2). При цьому у діафізах обох кісток було встановлено слабо виражені ознаки резорбції періоста. У матриці кортексу на рівні вторинної спонгіози виявлено немініралізовані ділянки, що свідчить про втрату тривкісних якостей кістки. У структурі діафіза як стегнової, так і плечової кісток тварин із гіперглікемією спостерігалася наявність ліній склеювання, що вказує на затримку періостального кісткоутворення. Також було виявлено порожнини остеокластичної резорбції. Відзначено появу порожніх остеоцитарних лакун, що, ймовірно, свідчить про загибель остеоцитів. В деяких

ділянках лінія склеювання мала неструктурований аморфний вигляд (рис. 3.23 а). Середня величина площі діафіза стегнової кістки у тварин із гіперглікемією була меншою порівняно з контролем і відповідала показникам ($5,10 \pm 0,15$) мм, плечової кістки – ($4,65 \pm 0,12$) мм. Натомість середній показник діаметра остеонів стегнової кістки виявився більшим у тварин експериментальної серії ($30,12 \pm 2,41$) мкм та ($21,40 \pm 1,46$) мкм – плечової кістки, різниця з контролем склала 0,1 % та 0,8 %. У тварин з гіперглікемією встановлено більший показник діаметра каналів остеонів – ($11,35 \pm 1,41$) мкм та ($8,45 \pm 0,09$) мкм. Щільність діафіза була порушеною, про що свідчить наявність у ньому тріщин і щілин. Також виявлялись ділянки резорбції та остецити з фрагментованими ядрами. Такі зміни можуть свідчити про запуск механізмів резорбції кісткової тканини та її переважання над процесами синтезу в умовах гіперглікемії, що призводить до активації патологічних структурних змін діафіза.

Епіфізи кісток тварин із гіперглікемією порівняно з контролем мали менш густу трабекулярну сітку, а в кістковому матриксі спостерігалась велика кількість ліній склеювання, що були розміщені хаотично. Остецити розміщувались нерівномірно, подекуди траплялися загиблі клітини з ознаками каріопікнозу. Середня ширина кісткових трабекул стегнової й плечової кісток виявилася меншою порівняно з контролем на 1 %, плечової – на 0,5 %. Також зафіксовано певну відсутність контактів трабекул із кортикальним шаром. Відносна величина площі губчастої тканини стегнової кістки у тварин з гіперглікемією також була меншою порівняно з контролем на 0,4 %, плечової кістки – на 0,9 %. Вказане є свідченням перебігу активних процесів патологічної перебудови губчастої кісткової тканини в умовах гіперглікемії.

При гістологічному дослідженні кісток було зафіксовано патологічні зміни в епіфізарному хрящі як стегнової, так і плечової кісток (рис. 3.23 б). Ширина епіфізарного хряща стегнової кістки становила ($231,31 \pm 14,57$) мкм і була значно меншою за такий порівняно з контролем на 0,4 %, показники плечової кістки були – ($218,30 \pm 4,77$) мкм, різниця з контролем – 0,6 %. У проліферативній зоні кісток

тварин з гіперглікемією спостерігалось зменшення чисельності та зниження щільності проліферативних колонок, а також зменшення їх висоти. В обох кістках у зоні первинної спонгіози виявлено велику кількість трабекул, які не утворювали трабекулярної мережі.

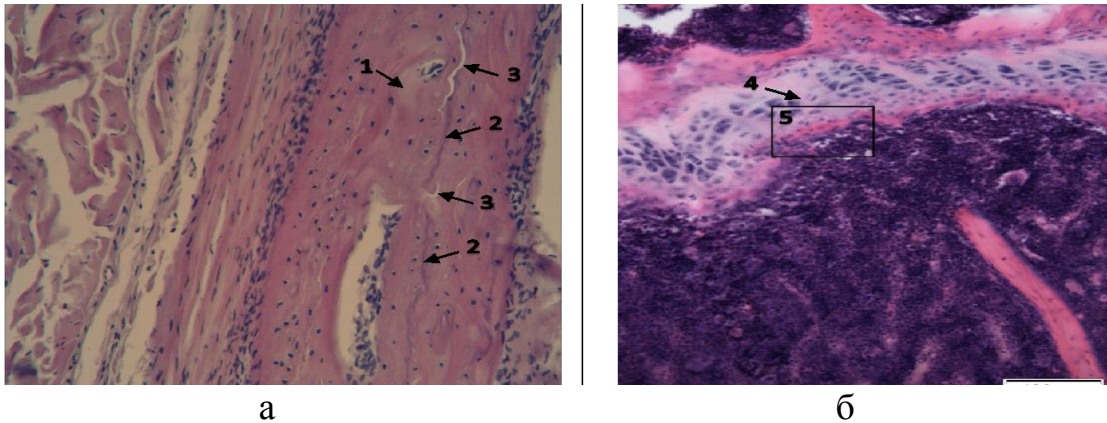


Рисунок 3.23 – Фрагмент діафіза плечової кістки щура зрілого віку на 30-ту добу експерименту (а): 1 – резорбована ділянка; 2 – лінії склеювання; 3 – тріщини та щілини в кістковій тканині. Фрагмент метафіза дистального відділу стегнової кістки щура (б): 4 – зменшення висоти проліферативних колонок в епіфізарному хрящі; 5 – відсутність трабекул у зоні первинної спонгіози. Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

Потрібно відзначити пригнічення мітотичної активності в клітинах порівняно з контролем та збільшення об'єму хрящового матриксу поміж колонками клітин. Колонки клітин були значно стоншені порівняно з контролем.

Унаслідок обробки даних імуногістохімічного дослідження було виявлено, що остецити в епіфізах обох кісток розміщувалися нерівномірно та спостерігалися нечисленні загиблі клітини. Показник експресії остеопонтину в діафізі був на 5 % та в епіфізі на 4,7 % менше порівняно з контролем. Інтенсивність забарвлення клітин діафіза середня (++) . Показник експресії RANKL значно більший ніж у щурів молодого віку, у діафізі він на 5,2 % та в епіфізі на 4,1 % більше за контроль. Це підтверджує активацію резорбційних процесів у щурів експериментальної серії з віком.

У щурів зрілого віку на 30-ту добу експерименту в результаті електронної мікроскопії встановлено схожі структурні зміни в остеобластах стегнової та плечової кісток порівняно з молодими щурами на цей термін спостереження, однак менш виражені. Так, остеобласти розміщувалися більш щільно на поверхні кісткових трабекул і мали краще розвинені органели. У цитоплазмі цих клітин були численні профілі гЕПС, невеликі щільні мітохондрії. Ядро переважно еухромне. У деяких клітинах виявляли набухлі просвітлені мітохондрії, що свідчить про дегенеративні зміни в цих клітинах. Крім того, зустрічали розширення цистерн гЕПС, що свідчить про гіпертрофію гЕПС.

Остеоцити в обох кістках мали гомогенізовану цитоплазму та гетерохромне ядро (рис. 3.24). Переважно зустрічалися загиблі клітини. Матрикс був рівномірно мінералізований.

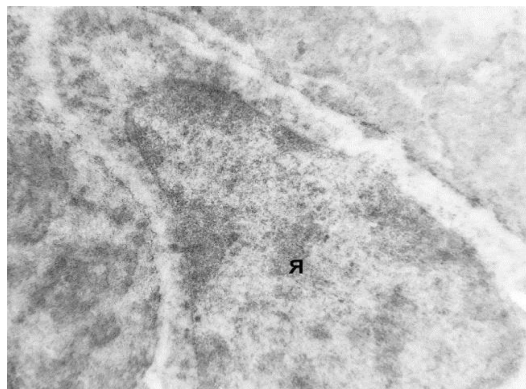


Рисунок 3.24 – Остеоцит із гетерохромним ядром (Я) та гомогенізованою цитоплазмою. Стегнова кістка щура зрілого віку на 30-ту добу експерименту. Збільшення×25200, контрастування за Рейнольдсом

У щурів зрілого віку встановлено, що остеобласти зазнали меншого негативного впливу порівняно зі щурами молодого віку та мали більший біосинтетичний потенціал через краще розвинену гЕПС. Однак наявність гіпертрофії гЕПС та збільшення в розмірах мітохондрій свідчить про дегенеративні зміни в клітинах. Ці зміни є адаптивними і мають оборотний характер, якщо усунути фактор, що їх спричинив.

Хіміко-аналітичний аналіз кісток за умов хронічної гіперглікемії доводить достовірне зменшення мікро- та макроелементного складу в обох кістках як у діафізах, так і в епіфізах обох кісток. Показники вмісту макроелементів у діафізі як стегнової, так і плечової кісток виявилися значно меншими у тварини з гіперглікемією порівняно з контролем. Вміст Са та Р у діафізі обох кісток складав Са – $(2570,77 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,05$) і $(2351,31 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,05$), різниця з контролем – 4,1 % та 4 %, Р – $(851,60 \pm 6,55)$ мкг/г ($p < 0,001$) і $(768,74 \pm 11,64)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця з контролем – 2,1 % та 3,5 %. Середні показники вмісту основних макроелементів в епіфізах обох кісток становили: Са – $(2343,51 \pm 0,68)$ мкг/г ($p < 0,05$) і $(2146,35 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,05$), Р – $(743,67 \pm 15,48)$ мкг/г ($p < 0,01$) та $(663,24 \pm 0,24)$ мкг/г ($p < 0,001$) відповідно, різниця з контролем: Са – 3,7 % та 4,5 %; Р – 15,8 % та 20 %.

Визначення хімічного складу кісток показало певні відмінності перерозподілу води. Відтак, вміст води є майже однаковим у діафізі стегнової та плечової кісток і зростає в епіфізах цих кісток в усіх вікових підгрупах, це може бути свідченням більшого об'єму губчастої КТ. Відсоток води в діафізі обох кісток становить $(26,63 \pm 0,26)$ % ($p < 0,05$) та $(25,19 \pm 0,10)$ % ($p < 0,001$) та дистальному епіфізі $(32,86 \pm 0,21)$ % ($p < 0,05$) та $(31,53 \pm 0,24)$ % ($p < 0,001$). У тварин цієї підгрупи спостерігається зменшення вологи у кістках порівняно зі щурами молодого віку. Вміст мікроелементів у діафізі та епіфізі обох кісток відповідав наступним показникам: уміст Zn в стегновій кістці становив $(6,94 \pm 0,33)$ мкг/г у плечовій – $(6,19 \pm 0,33)$ мкг/г, Cu – $(55,28 \pm 0,20)$ мкг/г ($p < 0,001$), $(52,16 \pm 0,46)$ мкг/г ($p < 0,001$), в епіфізі стегнової кістки вміст Cu становив $(54,87 \pm 1,13)$ мкг/г ($p < 0,001$), плечової кістки – $(53,41 \pm 0,88)$ мкг/г ($p < 0,001$), Zn – $(7,68 \pm 0,28)$ мкг/г і $(6,92 \pm 0,36)$ мкг/г.

Біомеханічні властивості стегнової кістки щурів у динаміці експерименту змінювались наступним чином. Починаючи з 30-ї доби тривкість стегнової кістки за показником навантаження при стисненні, становила до $(462,74 \pm 10,90)$ Н ($p < 0,001$), плечової кістки – $(430,29 \pm 6,45)$ Н ($p < 0,05$), різниця показників становила

8,2 % та 4,2 % в обох кістках. Показник міцності при стисненні стегнової та плечової кісток склав $(145,0 \pm 0,74)$ мПа і $(134,50 \pm 2,84)$ мПа ($p < 0,05$). Відповідний показник епіфізів досліджуваних кісток дорівнював $(77,20 \pm 0,44)$ мПа ($p < 0,05$) та $(64,80 \pm 0,38)$ мПа ($p < 0,05$), різниця показників 1 % у обох досліджуваних кістках.

Згідно з отриманими даними існують деякі відмінності щодо кількості неорганічних речовин у кортикальній та трабекулярній кістковій тканині. Це явище можна пояснити наступним чином, що кортикальна та трабекулярна тканина мають різну структуру та виконують в організмі дещо різні біомеханічні функції. Кортикальна тканина є механічно більш щільною та менш пружною внаслідок більшої мінералізації. Трабекулярна тканина має менше мінерального компонента та більше колагену, що в свою чергу збільшує її пружність.

3.3.2 Морфологія кісток щурів на 60-ту добу експерименту. Вага щурів становила $(161,30 \pm 12,60)$ г ($p < 0,001$), дефіцит маси тіла склав 20,3 %. Рівень глюкози знаходився на рівні $(10,20 \pm 1,20)$ ммоль/л, що значно перевищує показники в щурів серії контролю.

Остеометричні показники щурів зрілого віку відзначаються сповільненням ростових показників досліджуваних кісток. Відсутність значної реакції з боку остеометричних показників у щурів з гіперглікемією може бути результатом сповільнення росту організму та наявності адаптивних механізмів, що можуть компенсувати негативний вплив гіперглікемії. За даними остеометрії, показник МДК стегнової кістки – на 11,6 % був меншим порівняно з контролем, плечової на 6 %. Загальний показник приросту стегнової кістки становив 3,5 %, плечової кістки – 3,7 %. Зміни величин ШСД стегнової та плечової кісток відповідали описаним змінам для показників МДК. А саме середні показники приросту ШСД стегнової й плечової кісток збільшилися на 0,8 % та 0,7 %. Показники ШПЕ і ШДЕ досліджуваних кісток відрізнялися більшою інтенсивністю приросту в щурів серії контролю, ніж у тварин з гіперглікемією. Середні показники приросту ШПЕ та

ШДЕ стегнової кістки становили 0,6 %, та плечової – 1,4 % та 1 %, проте достовірністю показників не відзначалися.

Площа діафіза, діаметр остеонів та їх каналів в обох досліджуваних кістках у тварин експериментальної та контрольної серії достовірністю показників не відрізнялися (табл. Б.3.1.). У діафізах обох кісток було встановлено ознаки резорбції періоста. У матриксі кортексу було виявлено немінералізовані ділянки, які виконані хрящовою тканиною. У структурі діафіза як стегнової, так і плечової кісток тварин спостерігалась наявність ліній склеювання, порожнин остеокластичної резорбції та порожніх остеоцитарних лакун. На деяких ділянках лінія склеювання мала неструктурований аморфний вигляд. На деяких ділянках спостерігалось суттєве стоншення ширини кортексу. Структура періосту також була резорбована. Величина площі діафіза стегнової кістки становила ($5,54 \pm 0,07$) мм, плечової – ($4,87 \pm 0,09$) мм, діаметр остеонів обох кісток відповідав показникам ($30,64 \pm 0,96$) мкм та ($21,60 \pm 2,44$) мкм, різниця показників – 0,6 % та 0,9 %. Також у тварин з гіперглікемією встановлено більший середній показник діаметра каналів остеонів, які в стегновій кістці збільшилися – до ($11,72 \pm 1,15$) мкм, в плечовій до – ($8,53 \pm 0,15$) мкм.

Відповідні зміни відбулись і в трабекулярній кістковій тканині обох кісток, а саме новоутворені трабекули розміщувалися менш щільно, ніж у тварин попереднього терміну спостереження, однак були більшими за шириною й утворювали зв'язки між собою, утворюючи трабекулярну мережу. Поверхня трабекул вкрита остеобластами. Остеоцити в матриксі розміщені нерівномірно, більша щільність спостерігалася поблизу до поверхні трабекул, а в середній частині траплялися безклітинні ділянки.

У зоні вторинної спонгіози як стегнової, так і плечової кісток трабекули були розміщені більш відокремлено одна від одної порівняно із зоною первинної спонгіози. У центральній частині багатьох трабекул, як і у молодих тварин, траплялися немінералізовані ділянки. На поверхні багатьох трабекул визначали остеобласти. Міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим

мозком з осередками жовтого кісткового мозку, що свідчило про переродження червоного кісткового мозку та диференціацію мезенхімальних клітин замість остеобластів в адипоцити (рис. 3.25).

Середній показник ширини кісткових трабекул стегнової кістки у тварин з гіперглікемією виявився на 1,2 % меншим порівняно з контролем і становив ($65,05 \pm 2,37$) мкм, показники плечової кістки були меншими на 1 % відповідні показники становили ($55,88 \pm 2,52$) мкм.

Структура епіфізарного хряща зберігала зональність, як і в щурів попереднього терміну спостереження (рис. 3.26 а,б).

Поверхнева зона не відрізнялася за особливостями структури від попередньої підгрупи. Зона проліферації також була значною за висотою, однак деякі клітини в проліферативних стовпчиках були відсутні, що вказує на меншу їх проліферативну активність у цій підгрупі порівняно з попереднім терміном спостереження. Середній показник ширини епіфізарного хряща стегнової кістки виявився меншим порівняно з контролем і становив ($231,98 \pm 11,03$) мкм, показник плечової кістки – ($218,41 \pm 10,12$) мкм. Показник приросту склав лише 0,3 % та 0,05 %.

Згідно з ІГХ-дослідженням експресія остеопонтину в діафізі та епіфізі обох кісток була дещо нижчою порівняно з контролем, частка позитивно забарвлених клітин у діафізі становила ($23,53 \pm 1,34$) %, в зоні епіфіза – ($26,11 \pm 1,62$) %, подекуди траплялися немінералізовані ділянки, це може свідчити про слабку проліферативну активність остеобластів. Порівняно з контролем інтенсивність забарвлення цитоплазми була значно меншою й оцінювалась як середня (++) . Маркер кісткової резорбції RANKL як діафіза так і епіфіза в обох кістках був статистично більшим у щурів з гіперглікемією. Показник експресії RANKL у діафізі становив ($24,47 \pm 1,58$) %, в епіфізі – ($26,90 \pm 2,17$) %.

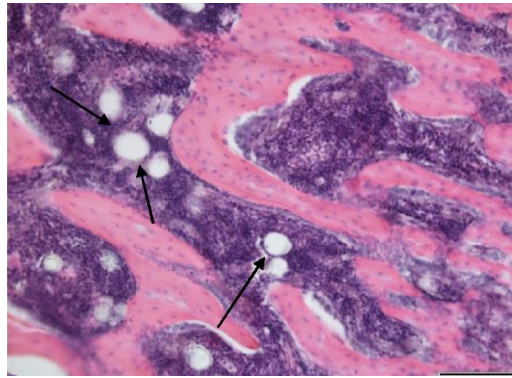
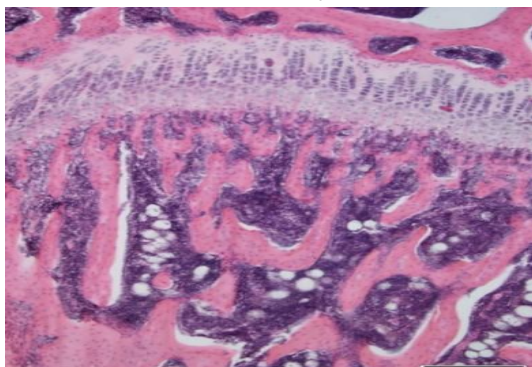
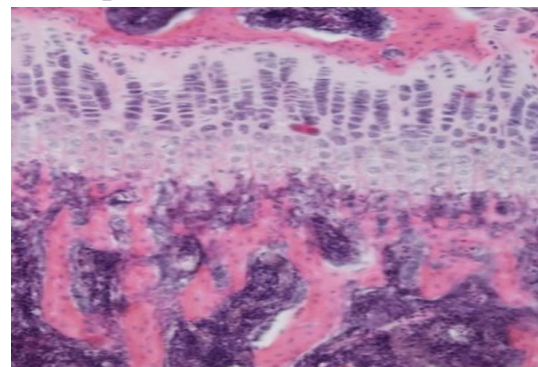


Рисунок 3.25 – Трабекули в зоні вторинної спонгіози щурів зрілого віку на 60-ту добу експерименту. Звивистість та відсутність зв'язків між табекулами. Осередки жовтого кісткового мозку. Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин.

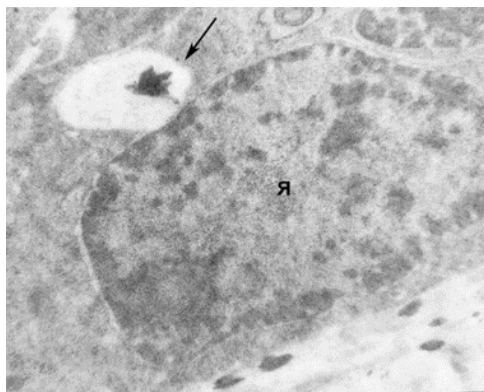


а

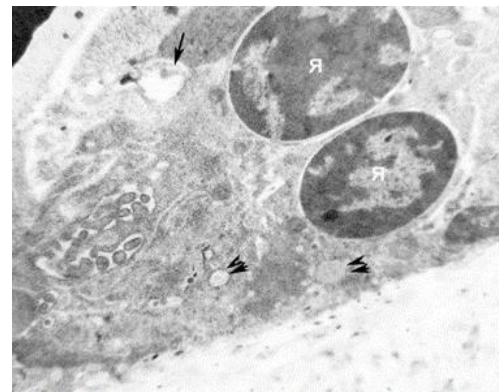


б

Рисунок 3.26 – Фрагмент дистального епіфіза стегнової кістки щура зрілого віку на 60-ту добу експерименту. Епіфізарний хрящ (а, б) та зона первинної і вторинної спонгіози (а, б). Зниження щільності хондроцитів у проліферативних колонках. Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин.



а



б

Рисунок 3.27 – Остеобласт із великим гетерохромним ядром (Я) та залишковим тільцем (стрілка). Збільшення $\times 15600$ (а). Остеобласт із двома овальними ядрами (Я), деструктивною порожниною (стрілка) та мітохондріями з гомогенізованим умістом (дві стрілки) у щурів зрілого віку на 60-ту добу експерименту. Збільшення $\times 8000$ (б), контрастування за Рейнольдсом

Інтенсивність забарвлення цитоплазми у щурів із гіперглікемією визначалась як сильна (+++). Це підтверджується наявністю резорбції судинних каналів кортикального шару та резорбованою структурою періосту.

У результаті електронно-мікроскопічного аналізу в остеобластах щурів зрілого віку також виявлено утворення залишкових тілець (рис. 3.27 а), що свідчить про компенсаторну реакцію в клітині та негативний вплив підвищеного рівня глюкози. Також в остеобластах виявлено вакуолізацію цитоплазми поблизу ядра, що свідчить про дегенеративні зміни в клітині. Зафіксовано остеобласти з двома ядрами, що вказує на можливість їх поділу (рис. 3.27 б). Аналогічне явище поділу спостерігали у молодих щурів на 30-ту добу експерименту. Однак на відміну від молодих щурів, в цих клітинах зафіксовано невеликі деструктивні порожнини та набухлі мітохондрії.

При дослідженні хімічного складу довгих трубчастих кісток були виявлені наступні зміни: достовірне зменшення мікро- та макроелементного складу в обох кістках як у діафізах, так і в епіфізах досліджуваних кісток. Середні показники вмісту Са та Р в діафізах обох кісток становили: Са-(2436,70 ± 0,64) мкг/г (p < 0,001) та (2250,23 ± 0,68) мкг/г (p < 0,001), Р – (832,54 ± 6,57) мкг/г (p < 0,001) і (753,21 ± 12,88) мкг/г (p < 0,001). Середні показники вмісту основних макроелементів в епіфізах становили: Са – (2220,34 ± 0,64) мкг/г (p < 0,001) та (2031,77 ± 0,44) мкг/г (p < 0,001), Р – (730,12 ± 12,80) мкг/г (p < 0,001) і (651,27 ± 0,31) мкг/г (p < 0,001), різниця з контролем склала 17,3 % та 21 % відповідно. Відсоток води в діафізі становив (26,19 ± 0,28) % (p < 0,05) та (24,76 ± 0,16) % (p < 0,001), в епіфізі – (32,24 ± 0,24) % (p < 0,05) і (30,91 ± 0,35) % (p < 0,001). У тварин зрілого віку спостерігалось зменшення вологи у кістках із поступовим зниженням із віком. Зміна значень Zn достовірністю показників не відзначалась.

Навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки на 60 добу експерименту було меншим порівняно з контролем на 7,8 % плечової – на 4,5 % (p < 0,001). Середній показник міцності при стисненні діафіза обох кісток у тварин з гіперглікемією був меншим порівняно з контролем на 0,4 % та 2,6 %.

Біомеханічні властивості епіфізів обох кісток у динаміці експерименту змінювалися схожим чином до описаних змін властивостей діафіза. Середнє значення показника навантаження при стисненні стегнової кістки зменшилося на 12,3 %, плечової – на 12,8%, межа міцності на стиснення дистального діафіза зменшилася на 2,1 % та 1,6 % відповідно.

3.3.3 Морфологія кісток щурів на 90-ту добу експерименту. Вага тварин становила ($169,50 \pm 17,30$) г. Глюкоза в крові відповідала показникам ($10,2 \pm 1,20$) ммол/л. Відмічається значне підвищення показника HbA1c до ($8,4 \pm 0,10$) %, що підтверджує наявність стійкої неконтрольованої гіперглікемії.

Остеометричні дані відзначалися затримкою лінійних показників досліджуваних кісток. На 90-ту добу експерименту загальний показник приросту МДК стегнової кістки становив 1 %, плечової – 1,1 %. Зміни величин показників ШСД стегнової та плечової кісток відповідали змінам, описаним для показників МДК. А саме показники ШСД діафіза обох кісток збільшилися лише на 0,8 % та 1,3 %. Середні показники приросту ШПЕ та ШДЕ стегнової кістки становили 0,9 %, плечової – 0,6 %, а середні показники ширини проксимального та дистального епіфізів плечової кістки склали – 1,1 % та 0,8 %. Проте ШПЕ, ШДЕ та ШСД достовірністю показників не відзначалися.

У кортикальному шарі стегнової кістки було встановлено ознаки резорбції періосту, як і у молодих щурів, однак менш виражені. У матриксі кортексу було виявлено немінералізовані ділянки (рис. 3.28), що є порушенням структури та свідчить про втрату міцнісних якостей кістки.

Показники діаметра остеонів та каналів остеонів у досліджуваних кістках були більшими у тварин з гіперглікемією порівняно з контролем. Різниця з контролем склала 0,7 % та 2,8 %, плечової – 1 % та 2,8 %, що говорить про розширення діаметра остеонів та їх каналів під дією патологічного фактору.

У зоні первинної спонгіози також, як і в молодих щурів, встановлено суттєве зниження кількості трабекул, що не утворювали трабекулярної мережі. У зоні вторинної спонгіози кількість трабекул також була невеликою, кістковий матрикс

містив значну кількість ліній склеювання, розміщених хаотично (рис. 3.29), що свідчить про активні процеси перебудови губчастої кісткової тканини. Остеоцити розміщувалися нерівномірно, подекуди траплялися загиблі клітини з каріопікнозом.

На 90-ту добу експерименту спостерігається стоншення кісткових трабекул як і у контрольних щурів так і в експериментальних, проте в останніх цей показник був значно меншим. Середній показник ширини кісткових трабекул стегнової кістки щурів з гіперглікемією становив $(65,12 \pm 3,41)$ мкм, плечової – $(55,97 \pm 2,33)$ мкм ($p < 0,05$), різниця показників у порівнянні з контролем склала: 1,3 % та 1,4 %.

Як у стегновій, так і в плечовій кістках було зафіксовано структурні зміни в епіфізарному хрящі, аналогічні виявленим у молодих щурів на цей термін спостереження (рис. 3.30 а). Відбувалося зниження щільності проліферативних колонок та їх висоти. В обох кістках у проліферативній зоні виявлено порушення структурної організації.

Так само, як і у молодих щурів на певних ділянках спостерігалось порушення зони дефінітивного хряща, що можливо пояснює майже повну відсутність трабекул у зоні первинної спонгіози (рис. 3.30 б). Кісткові порожнини були заповнені червоним кістковим мозком.

Середній показник ширини епіфізарного хряща стегнової кістки у тварин з гіперглікемією виявився меншим за такий порівняно з контролем та складав $(232,20 \pm 17,01)$ мкм ($p < 0,05$), плечової кістки – $(218,56 \pm 23,25)$ мкм ($p < 0,05$), відсоток зміни склав 0,7 % та 0,4 %.

Імуногістохімічне дослідження показало, що незначний відсоток клітин мають позитивну екскресію остепонтину. Відомо, що він бере участь у кальцифікації кістки. Відповідно зниження позитивно імунореактивних клітин негативно впливає на процес ремоделювання кістки та її метаболізм. Водночас відбувається відносно підвищення відсотка експресії показника кісткової резорбції RANKL у діяфізі до $24,10 \pm 1,48$ %, в епіфізі – до $26,66 \pm 1,57$ %.

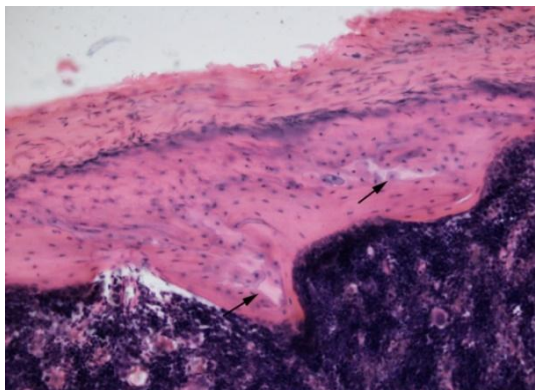


Рисунок 3.28 – Кортикальний шар стегнової кістки щура зрілого віку на 90-ту добу експерименту. Немінералізовані ділянки у матриксі (стрілки). Збільшення×200, забарвлення гематоксилін та еозин

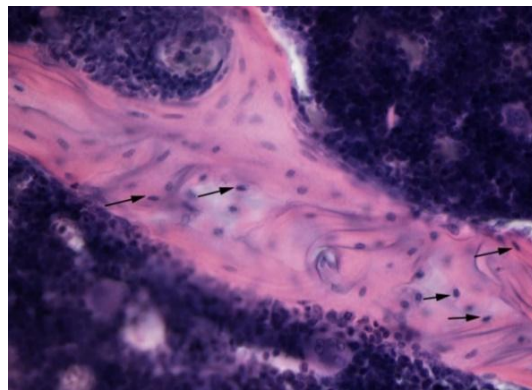
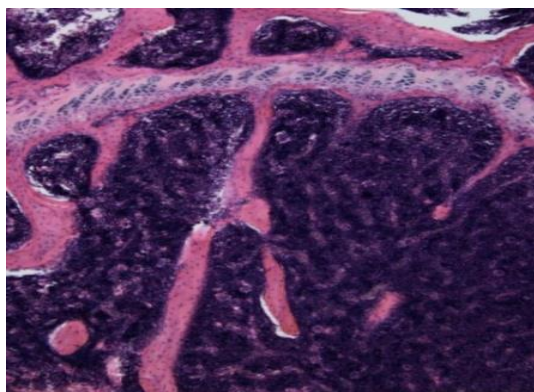
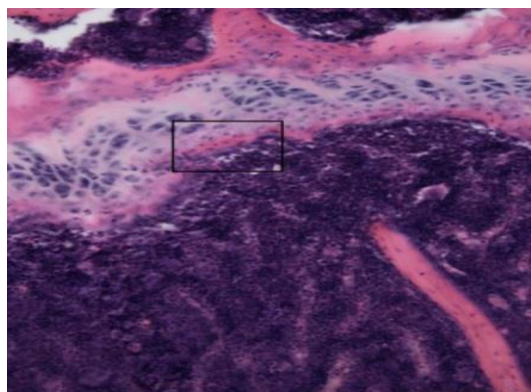


Рисунок 3.29 – Кісткова трабекула в зоні вторинної спонгіози щурів зрілого віку на 90-ту добу експерименту. Хаотичне розташування ліній склеювання. Osteоцити у лакунах (стрілки). Збільшення×400, забарвлення гематоксилін та еозин



а



б

Рисунок 3.30 – Фрагмент метафізу та діафізу дистального відділу стегнової кістки щура зрілого віку на 90-ту добу експерименту. Зниження висоти проліферативних колонок на ділянках в епіфізарному хрящі (а). Відсутність трабекул у зоні первинної спонгіози (б). Відсутність первинного остеогенезу (б, обведено). Збільшення: а) ×100; б) ×200, забарвлення гематоксилін та еозин

Це може свідчити про порушення нормальної взаємодії остеобластів та остеокластів у кістці, що може бути спричинене негативною дією хронічної гіперглікемії (табл. Б.1.2).

Згідно з електронною мікроскопією стегнової та плечової кісток щурів зрілого віку на 90-ту добу експерименту можна визначити, що остеобласти розміщувалися нерівномірно на поверхні кісткових трабекул та мали недорозвинені органели. У цитоплазмі цих клітин були численні профілі гЕПС та невеликі щільні мітохондрії. Ядро – еухромне. У багатьох клітин щурів цієї підгрупи було виявлено набухлі просвітлені мітохондрії, що може свідчити про дегенеративні зміни в цих клітинах (рис. 3.31). Також спостерігалось розширення цистерн гЕПС, що свідчить про гіпертрофію гЕПС.

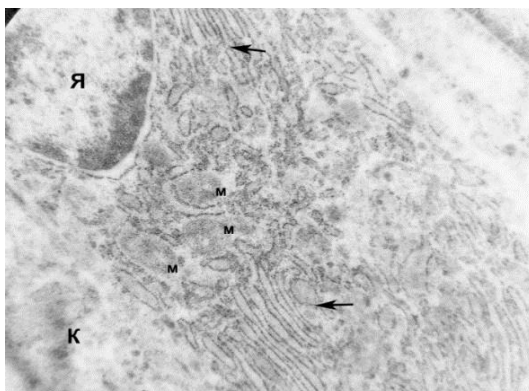


Рисунок 3.31 – Фрагмент остеобласта з дуже розвинутою гЕПС (стрілка) та набухлими мітохондріями (К). Щури зрілого віку на 90-ту добу експерименту. Збільшення×20400, контрастування за Рейнольдсом

Остеоцити мали еухромне ядро, зустрічались поодинокі профілі гЕПС. Часто траплялися загиблі клітини з вираженою вакуолізацією цитоплазми або її гомогенізацією. Однак спостерігались загиблі остеобласти зі зруйнованими органелами та електронно-щільним ядром. Кістковий матрикс містив осередки нерівномірної мінералізації та немінералізовані ділянки, це може свідчити про порушення нормального процесу роботи внаслідок зміненого функціонування остеобластів.

Показники макроелементного складу діафіза стегнової кістки змінювались наступним чином: середні показники вмісту Са та Р у стегнових та плечових кістках тварин з гіперглікемією виявилися достовірно меншими порівняно з контролем. Загалом упродовж 90-ї доби експериментальної гіперглікемії в діафізі стегнової кістки відбулося зменшення вмісту Са на 9,2 % та 8,8 %, Р – на 4,5 % та 5,2 %, Cu – 1,7 % та 3,3 %, Zn – 3,3 % та 2 % відповідно. Показники епіфіза зменшилися на Са на 8,3 % та 9,3 %, Р – на 18 % та 21,4 %, Cu – 5,1 % та 4,5 %, Zn – 2,2 % та 2,8 % відповідно, що підтверджує втрату неорганічного компонента під дією високих показників глюкози.

Відповідно до втрати хімічних елементів відбувається зміна біомеханічних властивостей досліджуваних кісток, а саме: навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки зменшилося на 8 % ($p < 0,001$), плечової кістки – 6,5 % ($p < 0,01$), епіфіза – на 12,6 % ($p < 0,001$) та 13,5 % ($p < 0,001$), що говорить про поступове зменшення опірності кістки до навантаження. Межа міцності на стиснення та мікротвердість досліджуваних кісток змінювались схожим до описаних змін навантаження при стисненні. Середнє значення показника міцності при стисненні діафіза стегнової кістки у тварин з гіперглікемією зменшилося 1 %, плечової кістки – на 3 % ($p < 0,05$), епіфізу обох кісток на 2,3 % ($p < 0,001$) та 2 % ($p < 0,05$) (табл. Б.4.1, Б.4.2).

3.3.4 Морфологія кісток щурів на 120-ту добу експерименту. Вага щурів на 120-ту добу експерименту становила ($168,00 \pm 25,20$) г, що на 19,3 % менше від маси контрольних щурів. Глюкоза в крові відповідала показникам ($13,50 \pm 1,0$) ммол/л, HbA1c – до ($9,1 \pm 0,10$) %, що підтверджує наявність стійкої гіперглікемії.

Остеометричні показники стегнової та плечової кісток на 120-ту добу змінювались наступним чином: МДК була меншою за таку у контрольних тварин та становила ($31,65 \pm 0,83$) мм ($p < 0,001$), плечової кістки – ($21,22 \pm 0,49$) мм ($p < 0,001$), різниця показників із контролем склала – 11,9 % та 7 %, загальний відсоток приросту стегнової кістки – 0,7 %, плечової – 0,8 %.

Показники приросту ШСД збільшилися на 0,7 % в обох досліджуваних кістках. Середні показники ширини проксимального та дистального епіфізів стегнової та плечової кісток достовірно відрізнялися порівняно з контролем. Середні показники ширини проксимального та дистального епіфізів стегнової кістки становили $(3,41 \pm 0,31)$ мм та $(3,50 \pm 0,34)$ мм, різниця показників – 9,7 % та 7,1 %. Показники приросту ширини проксимального та дистального епіфізів плечової кістки склали $(2,90 \pm 0,42)$ мм та $(4,05 \pm 0,26)$ мм, різниця показників – 9,6 % та 9,1 % відповідно.

Згідно з морфометричними показниками між діаметрами остеонів та їх каналів достовірної різниці між тваринами з гіперглікемією та контрольними щурами не встановлено. У діяфізі стегнової та плечової кісток було виявлено ознаки резорбції періосту у вигляді поодиноких резорбційних лакун, однак вони були менш вираженими порівняно з більш ранніми періодами спостереження. В епіфізах обох кісток було відзначено наявність поодиноких порожнин остеокластичної резорбції в усіх шарах компактної речовини. Траплялися поодинокі розриви між зовнішніми та внутрішніми генеральними пластинками. В окремих випадках виявлено мозаїчність звапніння та зменшення конусів ремоделювання. Показники площі діяфіза стегнової кістки становили $(6,74 \pm 0,15)$ мм ($p < 0,05$), плечової – $(5,96 \pm 0,03)$ мм ($p < 0,05$). Середня величина діаметра остеонів стегнової кістки збільшилася до $(31,84 \pm 2,42)$ мкм, плечової – $(22,93 \pm 2,12)$ мкм, показники діаметрів каналів остеонів: $(12,81 \pm 1,44)$ мкм та $(9,81 \pm 0,14)$ мкм. Середній показник ширини кісткових трабекул стегнової кістки був меншим порівняно з контролем на 1,4 % ($p < 0,001$), плечової – 1,6 % відповідно ($p < 0,05$).

Гістологічне дослідження діяфіза стегнової кістки на 120-ту добу виявило ознаки резорбції періосту у вигляді поодиноких резорбційних лакун. У діяфізах відзначені поодинокі порожнини остеокластичної резорбції в усіх шарах компактної речовини.

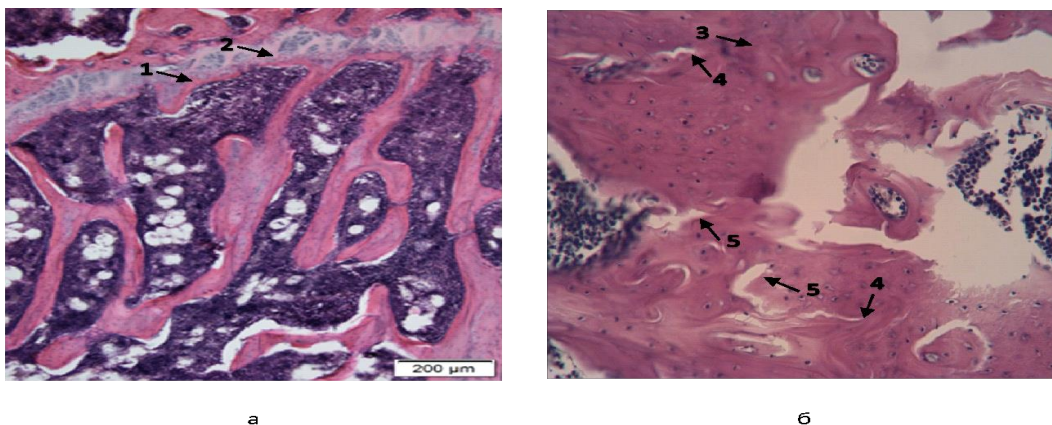


Рисунок 3.32 – Фрагмент дистального епіфізу стегнової кістки щура зрілого віку на 120-ту добу експерименту. Епіфізарний хрящ із зоною первинної та вторинної спонгіози (а): 1 – порушення орієнтації проліферативних колонок; 2 – відсутність проліферативних колонок в окремих ділянках. Фрагмент діафіза плечової кістки щура зрілого віку (б): 3 – зона гомогенізації; 4 – тріщини; 5 – щілини. Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

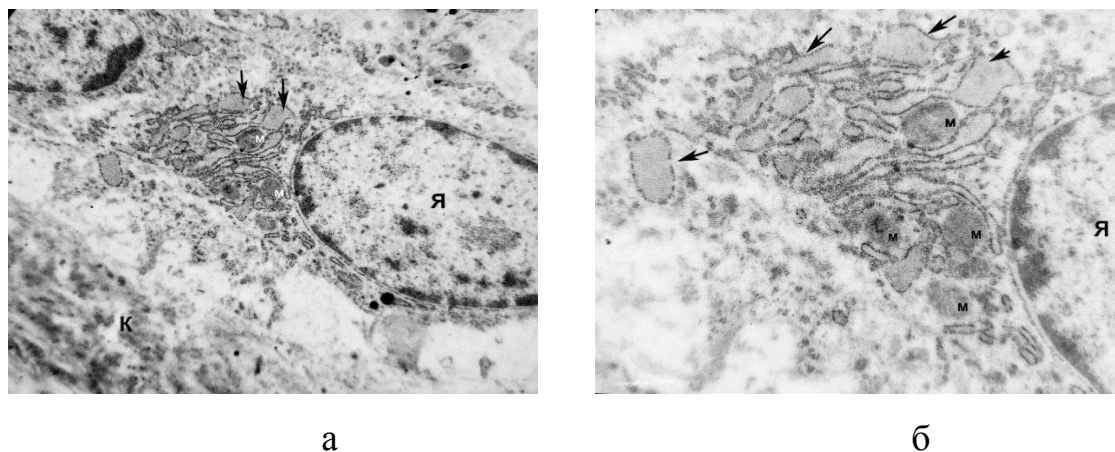


Рисунок 3.33 – Остеобласт з еухромним ядром (Я), розширеними цистернами гЕРС (стрілка) та мітохондріями (м) на поверхні кісткової трабекули (К): а-остеобласт; б-фрагмент остеобласта. У щурів зрілого віку на 120-ту добу експерименту. Збільшення а) $\times 8000$; б) $\times 20400$, контрастування за Рейнольдсом

В епіфізах стегнової та плечової кісток тварин з гіперглікемією трабекули були розташовані з невеликою частотою та мали ділянки немінералізованого матриксу в центральній частині. Міжтрабекулярні простори були заповнені червоним кістковим мозком з осередками жовтого кісткового мозку. В зоні вторинної спонгіози виявлено невелику кількість трабекул, розташованих поодинокі без формування трабекулярної мережі.

В епіфізарному хрящі стегнової та плечової кісток також було виявлено наявність ділянок, що вказують на зникнення хряща та пригнічення росту кістки. Проліферативні колонки часто розташовувалися поодинокі, їх висота відрізнялася неоднорідністю (рис. 3.32). Відповідно до порушень епіфізарного хряща значно зменшився показник його ширини. У стегновій кістці він становив $(233,34 \pm 13,21)$ мкм ($p < 0,05$), плечової – $(219,64 \pm 11,04)$ мкм ($p < 0,05$). Різниця показників порівняно з контролем була меншою на 0,5 % та 0,8 % відповідно.

Експресія остепонтину в діяфізі була слабо вираженою та становила $(23,05 \pm 1,22)$ %, різниця з контролем склала 6,8 %, інтенсивність забарвлення цитоплазми – середня (++)). Присутня резорбція періосту у вигляді поодиноких резорбційних лакун. Показники епіфізу становили $(25,87 \pm 1,87)$ % різниця з контролем – 5 %. Інтенсивність забарвлення цитоплазми – середня (++)). Показник експресії RANKL у діяфізі становив $(23,83 \pm 1,43)$ %, у дистальному епіфізі – $(26,40 \pm 1,49)$ %, різниця з контролем – 3,1 та 2,4 %, інтенсивність забарвлення цитоплазми – сильна (+++). Це говорить про переважання процесів резорбції над осифікацією.

Електронна мікроскопія досліджуваних кісток щурів показала, що остеобласти як і в попередній термін спостереження, були розміщені нерівномірно й мали недорозвинені органели, також було виявлено набухлі просвітлені мітохондрії та розширення цистерн гЕПС. Остеоцити мали також еухромнене ядро, зустрічались поодинокі профілі гЕПС. Часто траплялись загиблі клітини з вакуолізацією цитоплазми або її гомогенізацією. Також

виявлено значну кількість загиблих остеобластів зі зруйнованими органелами та електроно – щільним ядром. Кістковий матрикс містив осередки нерівномірної мінералізації та немінералізовані ділянки, як і в попередньому терміні спостереження (рис. 3.33).

У макроелементному складі досліджуваних кісток відбувалися подібні зміни, як і в попередні періоди спостереження: Са, Р та Си в діяфізі обох кісток прогресивно знижувалися та становили $(2329,41 \pm 0,62)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(2137,41 \pm 0,66)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця склала 10,8 % та 10,6 %; Р – $(813,71 \pm 6,53)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(737,42 \pm 12,85)$ мкг/г ($p < 0,001$), відсоток втрати – 5 % та 5,8 %, Си – $(54,15 \pm 0,56)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(51,26 \pm 0,81)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця з контролем 2,2 та 3,7 % відповідно, в дистальному епіфізі зміна показників була подібною: Са – $(2108,12 \pm 0,62)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(1925,63 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця показників – 10,1 % та 11,1 %; Р – $(703,31 \pm 19,12)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(626,50 \pm 0,16)$ мкг/г ($p < 0,001$), відсоток втрати – 19,3 % та 23 %; Си – $(53,80 \pm 0,81)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(52,25 \pm 0,83)$ мкг/г ($p < 0,001$) втрата відповідно 6,3% та 5,8 %.

При зменшенні хімічного компонента в кістці спостерігається стрімке зменшення біомеханічних показників. Навантаження при стисненні діяфіза стегнової кістки знизилося на 8,7 % ($p < 0,001$), плечової – на 8,5 % ($p < 0,001$). Межа міцності при стисненні стегнової кістки у тварин з гіперглікемією була меншою порівняно з контролем на 1 % ($p < 0,001$), плечової – на 3,4 % ($p < 0,05$). Тривкісні характеристики епіфіза досліджуваних кісток змінювалися наступним чином. Навантаження при стисненні стегнової кістки зменшилось на 12 % ($p < 0,001$), плечової – на 14 % ($p < 0,001$), показники міцності при стисненні епіфіза стегнової кістки виявилось на 1,6 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 3 % ($p < 0,001$).

3.3.5 Морфологія кісток щурів на 150-ту добу експерименту. Вага щурів знизилася до $(160,30 \pm 16,40)$ г, що на 19,3 % менше від маси

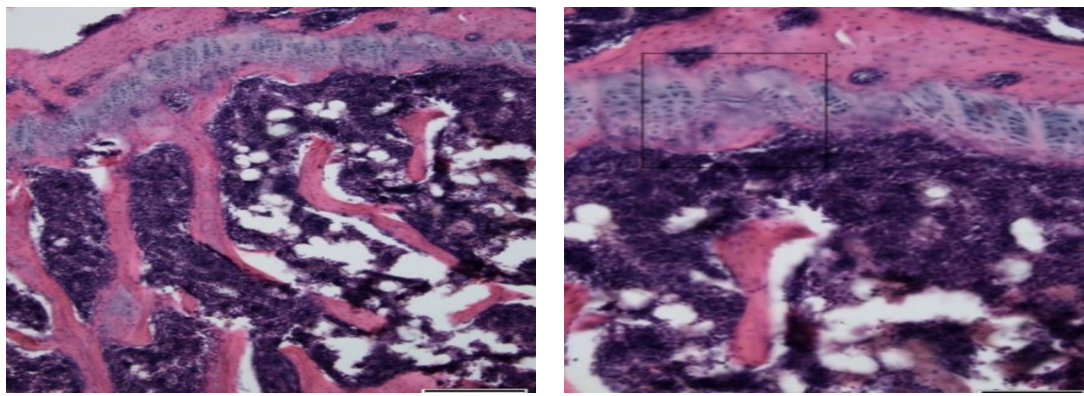
контрольних щурів. Глюкоза в крові відповідала показникам ($12,0 \pm 1,3$) ммол/л ($p < 0,001$).

Довжина стегнової кістки на 150-ту добу була меншою за довжину кісток контрольних щурів на 12,3 % ($p < 0,001$), загальний показник приросту стегнової кістки становив 1,9 %, МДК плечової кістки була меншою на 7,1 % ($p < 0,05$), загальний показник приросту склав 1,4 %.

Середні значення ШСД стегнової та плечової кісток у тварин із гіперглікемією збільшилися на 1,1 % та 0,7 %. Показники ширини проксимального й дистального епіфізів стегнової та плечової кісток також відрізнялися від показників контрольних щурів. Різниця порівняно з контролем склала 4,4 % та 2,3 %, а показник приросту ШПЕ та ШДЕ плечової кістки склала 1 % та 2,2 % відповідно. Показники площі діафіза стегнової кістки були ($6,95 \pm 0,32$) мм ($p < 0,05$), величина діаметра остеонів складала ($31,97 \pm 3,11$) мкм, діаметри остеонів – ($12,97 \pm 2,60$) мкм. Показники площі діафіза плечової кістки складала ($6,14 \pm 0,14$) мм ($p < 0,05$), величина діаметра остеонів – ($23,30 \pm 2,31$) мкм, діаметр каналів остеонів ($10,10 \pm 0,05$) мкм. Середній показник ширини кісткових трабекул досліджуваних кісток був меншим на 1,5 % ($p < 0,001$) та 1,8 % ($p < 0,05$) відповідно.

У кортикальному шарі виявлено немінералізовані ділянки, аналогічні до попереднього терміну дослідження цієї вікової групи. У структурі діафіза та епіфіза як стегнової, так і плечової кісток тварин із гіперглікемією виявили аналогічні зміни кісткової тканини, як і на 120-ту добу спостереження, проте з більшою інтенсивністю прояву.

На 150-ту добу було встановлено зміни в епіфізарному хрящі, а саме появу ділянок, що вказують на зникнення хряща та припинення росту кістки (рис. 3.34 б). Спостерігається наявність хондроцитів з різним ступенем інволютивних змін, аж до повного зникнення. У зоні первинної спонгіози спостерігається відсутність трабекул на значних ділянках (рис. 3.34 а) та закриття зони росту та наявність поздовжньо орієнтованих порожнин.



а

б

Рисунок 3.34 – Фрагмент діафіза дистального відділу плечової кістки щура зрілого віку на 150-ту добу експерименту. Відсутність трабекул на значних ділянках у зоні первинної спонгіози (а). Закриття зони росту (б, обведено). Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

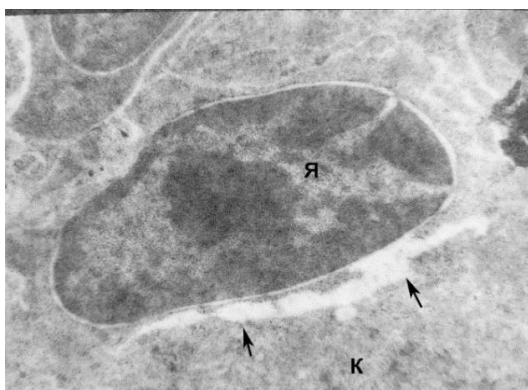


Рисунок 3.35 – Остеобласт із видовженою вакуолею (стрілка) поблизу гетерохромного ядра (Я). у щурів зрілого віку на 150-ту добу спостереження. Збільшення $\times 16800$, контрастування за Рейнольдсом

ІГХ-дослідження показало слабкий прояв експресії остеопонтину як у діафізі, так і в епіфізі обох кісток. Виявлялися поодинокі клітини з низькою інтенсивністю забарвлення. Наявність порожнин остеокластичної резорбції, тріщин та щілин вказує на порушення метаболізму кістки. Експресія RANKL-позитивних клітин була інтенсивною. В епіфізі спостерігалось стоншення кісткових балок та наявність ліній склеювання. Відсоток позитивно забарвлених клітин діафіза становив $(23,70 \pm 1,72) \%$, епіфіза $(26,20 \pm 1,40) \%$. Інтенсивність забарвлення сильна (+++) (таб. Б.1.2).

У результаті електронно-мікроскопічного аналізу стегнових та плечових кісток щурів було виявлено, що у структурі остеобластів щурів цього віку було виявлено утворення залишкових тілець, що свідчить про компенсаторну реакцію у клітинах та негативний вплив хронічної гіперглікемії. Органели в таких клітинах були також слаборозвинені. У багатьох остеобластах виявлено вакуолізацію цитоплазми поблизу ядра. В остеобластах зафіксовано невеликі деструктивні порожнини та набухлі мітохондрії (рис. 3.35). Зрідка зустрічались кісткові лакуни з клітинним детритом. Кістковий матрикс мав неоднорідну структуру.

На 150-ту добу експерименту зміни в макроелементному складі трубчастих кісток продовжували знижуватися аналогічно до показників у щурів на 120-ту добу спостереження, проте з більшим проявом (рис. 3.36).

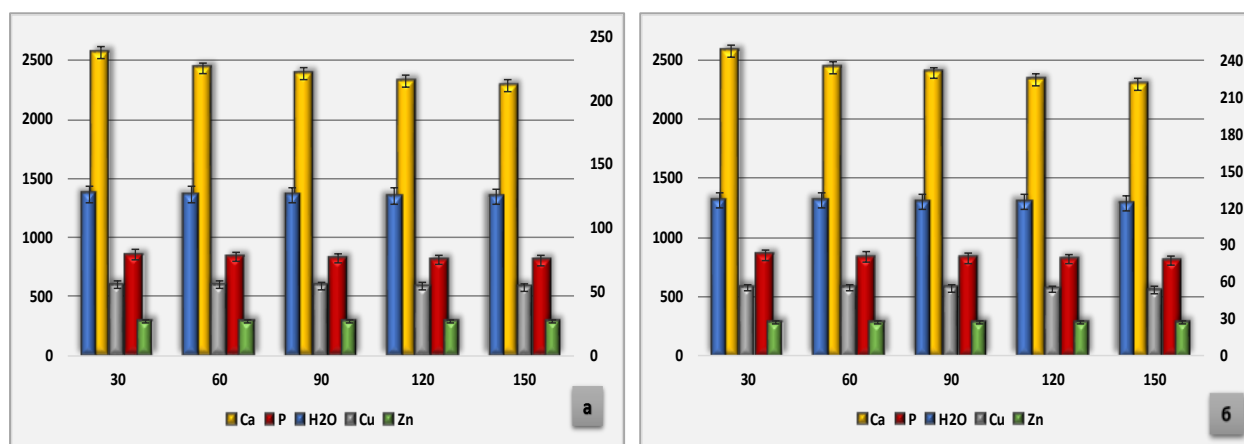


Рисунок 3.36 – Динаміка змін вмісту хімічних елементів у діафізі (а) та епіфізі (б) стегнової кістки в щурів зрілого віку в ході експерименту

Механічні властивості досліджуваних кісток продовжували активно знижуватися. Навантаження при стисненні стегнової та плечової кісток знизилося до $(436,74 \pm 12,20)$ Н ($p < 0,001$) та $(380,17 \pm 0,22)$ Н відповідно ($p < 0,001$), різниця з контролем склала 10 % та 10,5 %. Межа міцності при стисненні діафіза обох кісток була значно меншою порівняно з контролем, показники стегнової кістки були на рівні $(141,30 \pm 0,22)$ МПа ($p < 0,001$), плечової – $(130,60 \pm 0,61)$ МПа ($p < 0,05$), відсоток втрати – 1 % та 3,4 % відповідно. Навантаження при стисненні епіфіза стегнової кістки знизилась до $(290,74 \pm 6,64)$ Н ($p < 0,001$), плечової – $(226,09 \pm 6,57)$ Н ($p < 0,001$), різниця з контролем – 10 % та 14 %.

3.3.6 Морфологія кісток щурів на 180-ту добу експерименту. Вага щурів становила до $(167,20 \pm 21,30)$ г, що на 23,9 % менше від маси контрольних щурів. Глюкоза в крові відповідала показникам $(11,3 \pm 1,1)$ ммол/л, HbA1c – $(9,9 \pm 0,10)$ %, що свідчить про наявність стійкої, хронічної гіперглікемії.

Остеометричні показники продовжували знижуватися, що може свідчити про значні порушення метаболізму кістки за умов дії патологічного чинника. Показники площі діафіза стегнової кістки та плечової кістки порівняно з контролем були менші на 13,1 % ($p < 0,05$) та 11,5 % ($p < 0,05$). Діаметри остеонів та їх каналів продовжували активно збільшуватися та виявилися достовірно більшими в щурів із гіперглікемією, що говорить про активні резорбційні процеси в кістці. Показники діаметрів остеонів та їх каналів у стегновій кістці збільшилися на 1,5 % ($p < 0,05$) та 4,6 % ($p < 0,05$), у плечовій – на 1,7 % ($p < 0,05$) та 4,1 %.

У діафізах обох кісток у щурів на 180-ту добу експерименту було виявлено немінералізовані ділянки, а також чіткі ознаки резорбції періосту та зменшення кількості остеобластів у камбіальному шарі окістя. У шарах зовнішніх і внутрішніх генеральних пластинок відмічено наявність порожнин

резорбції та мікротріщини. Спостерігалися розширені канали остеонів, що були значно більшими порівняно з такими у контрольних щурів.

Морфометрія гістологічних препаратів діафіза показала значне зростання різниці з контролем до 180-ї доби спостереження. Так, у цей період показники об'єму загальної спонгіози стегнової кістки знизилися до $(24,37 \pm 0,40) \%$ ($p < 0,05$), плечової – до $(24,73 \pm 0,46) \%$ ($p < 0,05$) відповідно. Морфометрія епіфізу показала значне порушення будови трабекулярної речовини. Ширина кісткових трабекул стегнової кістки відповідала значенням $(66,54 \pm 0,78)$ мкм ($p < 0,001$), плечової кістки – $(57,24 \pm 3,03)$ мкм ($p < 0,05$), різниця з контролем склала 2 % в обох кістках.

Про значне виснаження кісткоутворювального потенціалу свідчило зменшення кількості остеобластів у камбіальному шарі окістя в обох зразках. Також було відмічено наявність порожнин резорбції та мікротріщин. Площа губчастої кістки у зоні первинної та вторинної спонгіози була меншою порівняно із 150-ю добою спостереження. Кісткові трабекули плечової та стегнової кістки в зоні вторинної спонгіози відрізнялися хаотичним розташуванням ліній склеювання. Остеоцити розміщувалися нерівномірно, подекуди траплялися загиблі клітини. В обох кістках у зоні первинної спонгіози виявлено велику кількість трабекул, які не утворювали трабекулярної мережі. В кортикальному шарі виявлено немінералізовані ділянки. Були наявні чіткі ознаки резорбції періосту.

В епіфізарному хрящі стегнової та плечової кісток відзначено появу ділянок, які вказують на зникнення хряща та припинення ростових процесів у кістках (рис. 3.37).

Середній показник ширини епіфізарного хряща стегнової кістки становив $(234,82 \pm 20,03)$ мкм ($p < 0,001$), плечової кістки – $(221,62 \pm 26,14)$ мкм ($p < 0,05$), що на 0,7 % та 0,8 % менше порівняно з контролем. На даному етапі спостереження чітко простежується зона деструкції в якій присутні поздовжньо орієнтовані порожнини, також спостерігаються хондроцити з

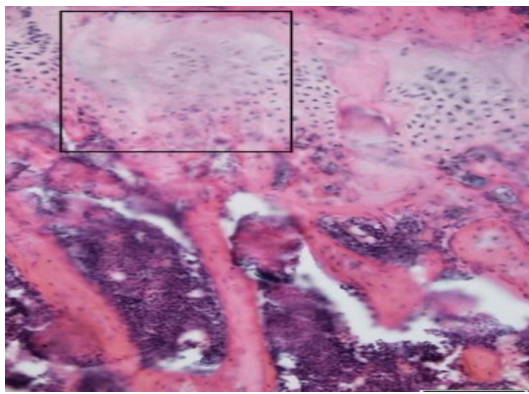
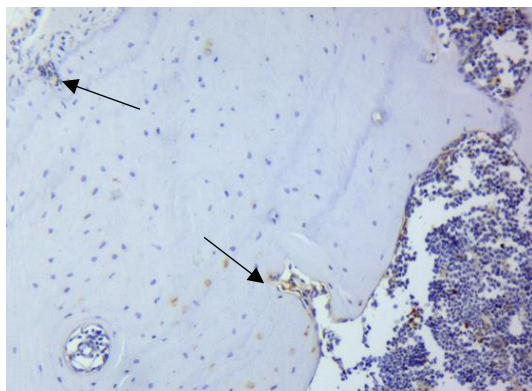
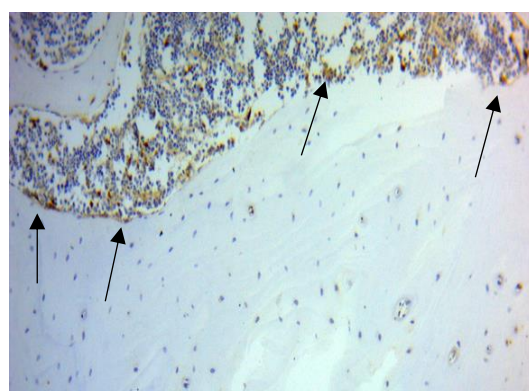


Рисунок 3.37 – Фрагмент дистального епіфізу стегнової кістки щура зрілого віку на 180-ту добу експерименту. Безструктурні ділянки на місці проліферативних колонок епіфізарного хряща (обведено). Збільшення×200, забарвлення гематоксилін та еозин.



а



б

Рисунок 3.38 – Позитивна експресія остепонтину (а) та RANKL (б) у щурів на 180-ту добу експерименту, ІГХ з гематоксиліном Майєра. Збільшення×200

різним ступенем інволютивних змін, аж до повного знищення.

За допомогою використання ІГХ-дослідження ми виявили, що експресія остеопонтину була значно нижчою порівняно з контролем, відзначалися поодинокі клітини з низькою інтенсивністю забарвлення як діафіза, так і епіфізу. Присутність численних ліній склеювання, порожнин остеокластичної резорбції, а також порожніх остеоцитарних лакун, тріщин та щілин вказує на затримку періостального кісткоутворення та порушення метаболізму кістки. Відзначається інтенсивна експресія показника RANKL. Відсоток позитивно забарвлених клітин діафіза становив $(23,56 \pm 2,05) \%$, епіфіза $(25,90 \pm 1,54) \%$. Інтенсивність забарвлення цитоплазми сильна (+++), що на 2,4 % та 1,2 % більше за показники контрольних щурів (рис. 3.38).

Електронно-мікроскопічний аналіз виявив значну гіперфункцію остеобластів: гіпертрофію гЕПС – розширення цистерн та набухання мітохондрій. У деяких остеобластах виявлено утворення залишкових тілець, у цитоплазмі цих клітин були численні профілі гЕПС та невеликі щільні мітохондрії. Ядро-еухромне, в багатьох клітин виявлено розширення перинуклеарного простору, що може свідчити про набряк.

Середній показник вмісту Са в діафізі стегнової кістки щурів із гіперглікемією зменшився на 23,5 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 11,8 % ($p < 0,001$). Схожі тенденції зафіксовані й для епіфіза досліджуваних кісток, відсоток Са знизився на 11,6 % ($p < 0,001$) та 12,4 % ($p < 0,001$). Вміст Р в діафізі стегнової кістки зменшився до $(786,47 \pm 6,54)$ мкг/г ($p < 0,001$), плечової – до $(711,74 \pm 12,88)$ мкг/г ($p < 0,001$). У дистальному епіфізі відповідно цей показник становив $(674,36 \pm 19,13)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(599,67 \pm 0,32)$ мкг/г ($p < 0,001$). Різниця показників склала 5,4 % ($p < 0,001$) та 6,8 % ($p < 0,001$) – у діафізі та 20 % ($p < 0,001$), 24,5 % ($p < 0,001$) – в епіфізі. Уміст Си знизився на 4,3 % ($p < 0,001$) – у стегновій кістці та 6,1 % ($p < 0,001$) у плечовій, Zn – на 3,5 % та 2,1 %, H_2O – на 5,5 % ($p < 0,001$) та 7,6 % ($p < 0,001$). В епіфізах цих кісток

відбувалось аналогічне поступове зменшення вмісту мікроелементів, як і в діафізі.

Показник межі міцності при стисненні діафіза стегнової кістки у тварин із гіперглікемією також достовірно зменшувався впродовж усього терміну експерименту на 11 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 14 % ($p < 0,001$). Середні величини міцності при стисненні дистального епіфізу стегнової кістки у тварин із гіперглікемією були достовірно меншими порівняно з контролем – на 1 % ($p < 0,001$), плечової кістки на 4 % ($p < 0,001$). У тварин із гіперглікемією впродовж терміну експерименту спостерігалось зменшення величини навантаження при стисненні епіфіза обох кісток: стегнової кістки – на 14 % ($p < 0,001$), плечової – на 15,5 % ($p < 0,001$), показники межі міцності на стиснення епіфіза змінилися на 1,5 % ($p < 0,001$) та 4,3 % ($p < 0,05$). Як бачимо з графіка (рис. 3.39), відбувається зростання різниці показників порівняно з контролем.

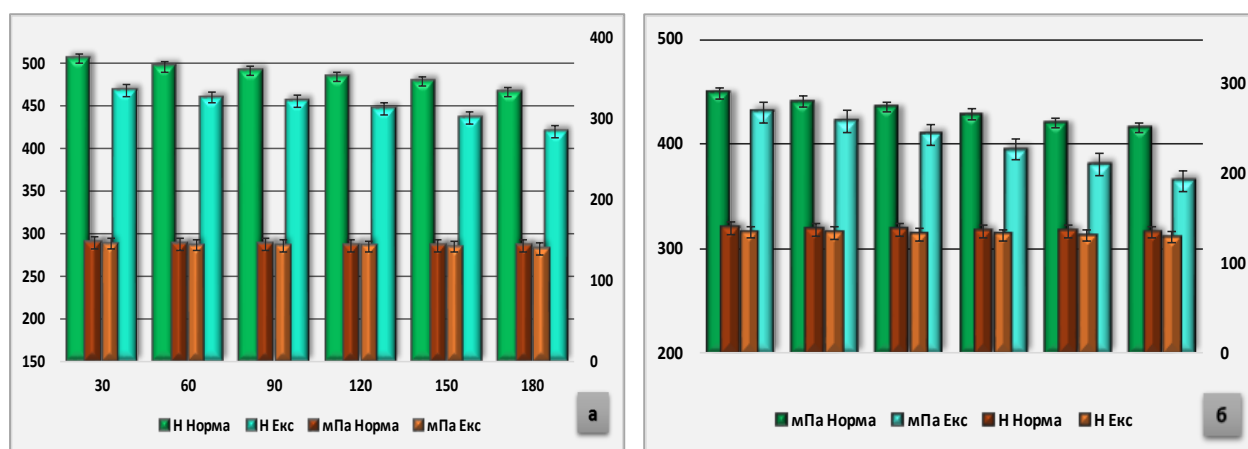


Рисунок 3.39 – Динаміка змін механічних показників діафіза стегнової (а) та плечової (б) кістки в щурів зрілого віку на 180-ту добу за умов хронічної гіперглікемії

3.4 Морфофункціональні особливості кісток скелета щурів старечого віку за умов хронічної експериментальної гіперглікемії

Формування пікової кісткової маси та вік в якому починається зниження мінеральної щільності кісткової тканини, є одними з важливих показників для

початку розвитку крихкості кісткової тканини [18]. З віком, незважаючи на стать, спостерігається втрата кісткової маси. Це відбувається із середньою швидкістю 1 % в рік. При гіперглікемії патогенез змін у кістках розвивається з більшою інтенсивністю та має багато різних аспектів [7].

3.4.1 Морфологія кісток щурів на 30-ту добу експерименту. Вага щурів старечого віку на 30-ту добу експерименту становила $(178,08 \pm 7,84)$ г ($p < 0,001$), різниця маси порівняно з контролем склала 23,7 %. Вміст глюкози в крові та глікозильованого гемоглобіну становив $(22,4 \pm 3,10)$ ммол/л, HbA1c – $(6,5 \pm 0,45)$ %, що свідчить про наявність гіперглікемії.

На 30-ту добу спостереження в щурів старечої групи спостерігається повільна зміна остеометричних показників. Проте варто зазначити, що більш інтенсивний ріст остеометричних показників спостерігався у контрольних щурів. Максимальна довжина стегнової кістки становила $(34,12 \pm 1,11)$ мм ($p < 0,001$), плечової – $(22,96 \pm 0,15)$ мм ($p < 0,001$), різниця показників порівняно з контролем склала 8,9 % та 3,3 %. ШСД стегнової кістки становила $(3,12 \pm 0,31)$ мм, плечової – $(2,04 \pm 0,23)$ мм, різниця показників порівняно з контролем – 3 % та 4,4 %

Відповідні зміни відбулись і в зміні середніх показників ШПЕ та ШДЕ обох кісток порівняно з контролем: ширина проксимального та дистального епіфізів стегнової кістки склала $(4,15 \pm 0,24)$ мм та $(4,80 \pm 0,33)$ мм, різниця показників із контролем становила 3,8 % та 3,3 %. Більш інтенсивно проявляється затримка лінійних показників у щурів усіх вікових груп порівняно з показниками контролю. Отже, у тварин старечого віку на 30-ту добу спостерігається незначна затримка показників поперечного та поздовжнього росту як епіфіза так і діафіза.

Вираженість патологічних змін у кістковій тканині залежить від тривалості впливу патологічного чинника. Вони проявляються в зниженні функції окістя та активації резорбційних процесів, а саме звуження шарів діафіза та остеонів з одночасним збільшенням діаметрів остеонів. У структурі

діафізу обох кісток щурів старечого віку на 30-ту добу спостереження достовірних структурних змін не виявлено. Середня величина площі діафіза стегнової кістки у тварин із гіперглікемією порівняно з відповідним показником у контрольних щурів становила ($7,47 \pm 0,36$) мм, плечової – ($6,87 \pm 0,26$) мм відповідно. Середня величина діаметра остеонів стегнової кістки була ($31,86 \pm 0,87$) мкм, плечової – ($28,02 \pm 0,35$) мкм. Схожа відповідність виявлена і в середніх показниках діаметрів каналів остеонів обох кісток була ($13,72 \pm 0,45$) мкм та ($11,56 \pm 0,32$) мкм.

У зоні первинної спонгіози розташовувалася велика кількість кісткових трабекул. Однак деякі з них мали сліпі закінчення й не утворювали з'єднань з іншими трабекулами, розташованими нижче (рис. 3.40). У зоні вторинної спонгіози спостерігали те саме, відсутність контакту між трабекулами, але їх кількість була іншою порівняно зі щурами попередньої групи (рис. 3.41 а). Відбувається більш інтенсивне стоншення кісткових трабекул у щурів із гіперглікемією порівняно з контролем. Середня ширина кісткових трабекул стегнової кістки становила ($66,28 \pm 0,38$) мкм ($p < 0,05$), різниця показників порівняно з контролем – 1,2 %. (рис. 3.41 б). Середній показник ширини кісткових трабекул плечової кістки становив ($56,87 \pm 0,35$) мкм ($p < 0,05$), різниця – 1,3 %.

Експресія остепонтину в зоні діафіза становила ($15,06 \pm 1,48$) %, що на 8 % менше порівняно з показниками контролю, інтенсивність забарвлення цитоплазми слабка (+), в зоні епіфізу – ($17,26 \pm 1,44$) %, різниця з контролем – 10,7 %, інтенсивність забарвлення цитоплазми слабка (+). Що може свідчити про гальмування процесів мінералізації в кістці. RANKL-позитивні клітини виявлено як у діафізі, так і в епіфізі обох кісток. Експресія даного показника в діафізі була більш інтенсивнішою за вищезгаданий та становила ($26,58 \pm 1,40$) %, в епіфізі – ($28,61 \pm 1,64$) %, що на 9,2 % та 10 % більше за контроль, інтенсивність позитивно забарвлених клітин була помірною (++) . Резорбційні процеси проявлялись у звуженні шарів діафіза та остеонів з одночасним

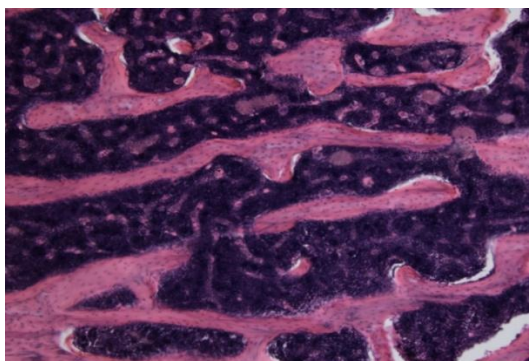
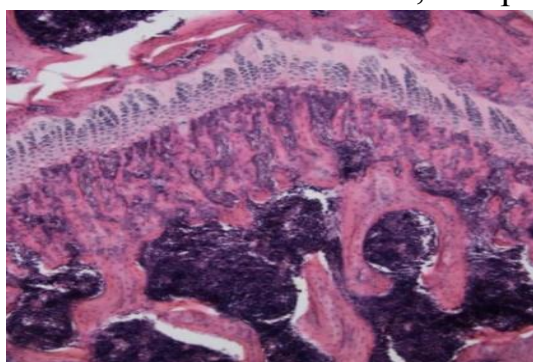
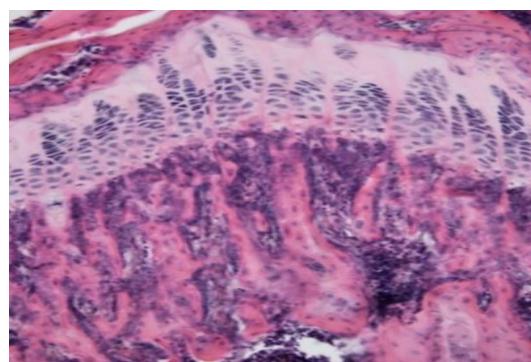


Рисунок 3.40 – Зона вторинної спонгіози стегнової кістки щурів старечого віку на 30-ту добу експерименту. Кісткові трабекули зі сліпими закінченнями. Збільшення $\times 100$, забарвлення гематоксилін та еозин

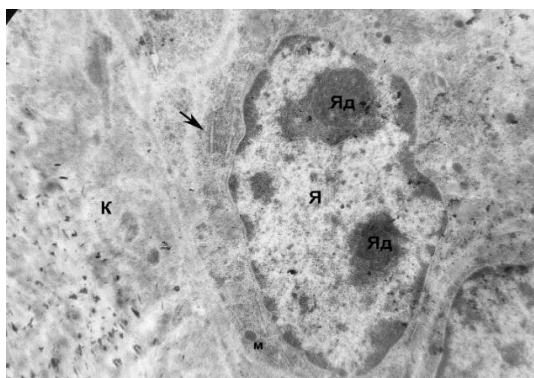


а

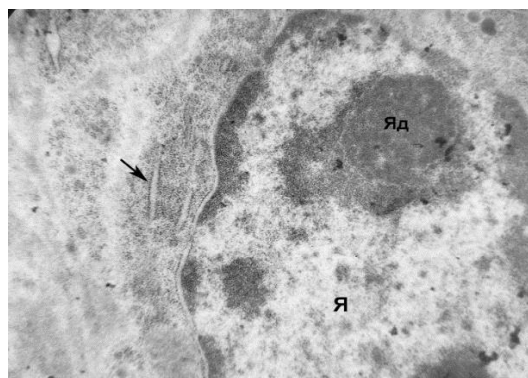


б

Рисунок 3.41 – Фрагмент дистального епіфіза стегнової кістки щура старечого віку на 30-ту добу експерименту. Епіфізарний хрящ (а, б) та зона первинної і вторинної спонгіози (а, б). Збільшення а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин



а



б

Рисунок 3.42 – Остеобласт із двома ядерцями (Яд) у ядрі (Я) на поверхні кісткової трабекули (К): а) остеобласт із гЕПС (стрілка) та мітохондрією (м); б) фрагмент остеобласта, одиничні профілі гЕПС (стрілка). Щури старечого віку на 30-ту добу експерименту. Збільшення а) $\times 8000$; б) $\times 16800$, контрастування за Рейнольдсом

збільшенням діаметрів остеонів. В епіфізах спостерігалась відсутність контакту між трабекулами, деякі з них мали сліпі закінчення та не контактували один з одним.

У щурів старечого віку особливістю структури остеобластів, порівняно з щурами молодого та зрілого віку на 30-ту добу експерименту було зафіксовано збільшення кількості ядерць у ядрі (рис. 3.42 а). Це свідчить про гіперфункцію клітини, спрямовану на синтез білків та нуклеїнових кислот. Одночасно з цим мембранні органели були слабо розвинені: поодинокі профілі гЕПС та зрідка – мітохондрії (рис. 3.42 б). Клітини розміщувалися щільно на поверхні кісткових трабекул. Також зустрічалися загиблі остеобласти. Матрикс мав нерівномірну електронну щільність. Остеоцити мали слаборозвинені органели та розміщувалися нерівномірно в кістковому матриксі.

Вивчення хімічного складу кісток показало певні відмінності розподілу макро- та мікроелементів у різних її ділянках. Проте вміст мінеральних речовин у кістках має виражену вікову залежність та відрізняється залежно від типу кісткової тканини. Відтак більший рівень мінералізації характерний для діафіза, який має пластинчасту компактну будову і дещо менший рівень мінералізації спостерігається в епіфізах досліджуваних кісток. Середні показники вмісту Са та Р у діафізах обох кісток становлять: Са – $(2302,04 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,05$), у плечовій кістці – $(2034,57 \pm 0,24)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця з контролем – 4,5 % та 7,3 %, Р – $(805,26 \pm 0,25)$ мкг/г ($p < 0,05$) та $(750,07 \pm 1,41)$ мкг/г ($p < 0,05$), відсоток зміни – 2 % та 0,3 %. Середні показники вмісту основних макроелементів в епіфізах становлять: Са в сегновій кістці – $(1914,62 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,001$), у плечовій кістці – $(1876,17 \pm 0,66)$ мкг/г ($p < 0,05$), Р – $(769,31 \pm 12,20)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(729,54 \pm 12,89)$ мкг/г ($p < 0,05$). У тварин старечого віку спостерігається зменшення води в кістках. Відсоток води у діафізах обох кісток становив $(22,16 \pm 0,53)$ % ($p <$

0,001) та $(21,68 \pm 0,19) \%$ ($p < 0,001$) втрата скала 7 % та 4 %, в епіфізах $(26,65 \pm 0,28) \%$ ($p < 0,001$) та $(20,41 \pm 0,94) \%$ ($p < 0,05$), втрата – 3,1 % та 9 %.

У тварин старечого віку відбуваються значні порушення міцності досліджуваних кісток, що обумовлено порушенням як мінеральної, так і органічної фаз кісткової речовини. Упродовж спостереження стегнова та плечова кістки відзначалися втратою мінеральної щільності кісткової тканини та площі кісткової тканини, процеси мінералізації відбувались еквівалентно вказаним показникам. Середнє значення показника навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки у тварин із гіперглікемією склало $(476,92 \pm 12,95)$ Н, плечової кістки – $(409,78 \pm 17,03)$ Н. Показники дистального епіфіза стегнової кістки відповідали значенням $(310,64 \pm 6,63)$ Н ($p < 0,05$), плечової кістки – $(273,71 \pm 6,57)$ Н ($p < 0,001$). Межа міцності при стисненні діафіза стегнової кістки становила $(144,50 \pm 1,10)$ мПа ($p < 0,05$), плечової кістки – $(134,0 \pm 0,75)$ мПа ($p < 0,05$). Різниця між середніми значеннями показника міцності при стисненні діафіза обох кісток у щурів із гіперглікемією та контролем становила 0,3 % та 3 %. Відповідні показники епіфіза досліджуваних кісток становили: стегнової – $(75,40 \pm 0,45)$ мПа ($p < 0,001$), плечової – $(73,80 \pm 0,39)$ мПа ($p < 0,05$), різниця з контролем – 2 % та 1 %.

3.4.2 Морфологія кісток щурів на 60-ту добу експерименту. Маса тварин складала $(188,2 \pm 7,07)$ г ($p < 0,001$), що на 19,5 % менше порівняно з показниками контролю. Рівень глюкози в крові та глікозильованого гемоглобіну становили $(15,90 \pm 2,74)$ ммоль/л, що у 2,5 раза більше за норму та $(7,04 \pm 0,12) \%$, що свідчить про наявність гіперглікемії.

У тварин цього віку спостерігаються повільні, незначні зміни ростових показників кісток щурів, що, ймовірно, є наслідком порушення процесів ремоделювання КТ. Сповільнення утворення КТ та переважання процесів резорбції над кісткоутворенням призводять до сповільнення лінійного й поперечного росту досліджуваних кісток, що підтверджується у відповідні строки. Остеометричні показники МДК стегнової кістки – $(34,30 \pm 0,71)$ мм (p

$< 0,001$), плечової – $(23,07 \pm 0,57)$ мм ($p < 0,001$). Загальний показник приросту обох кісток склав лише 0,5 %. Середні показники ШСД стегнової та плечової кісток у тварин із гіперглікемією збільшилися на 0,6 % та 0,5 %. Відповідні показники ШПЕ та ШДЕ стегнової кістки склали $(4,20 \pm 0,21)$ мм та $(4,84 \pm 0,26)$ мм, плечової кістки – $(3,80 \pm 0,33)$ мм, $(4,69 \pm 0,23)$ мм. Середні показники приросту ширини проксимального та дистального епіфізів достовірністю показників не відзначалися.

Зона первинної спонгіози містила велику кількість новоутворених трабекул, які були довшими за описані в попередніх вікових групах та потовщувалися з утворенням зв'язків між собою. У зоні вторинної спонгіози кількість трабекул була незначною, вони розміщувалися поодинокі. Також відмічено наявність ділянок жовтого кісткового мозку, як і в щурів зрілого віку. Губчаста речовина кістки, що представлена первинною та вторинною спонгіозою, відзначається зменшенням їх об'ємної щільності, зменшенням довжини та ширини трабекул. Середній показник ширини кісткових трабекул стегнової кістки становив $(66,09 \pm 0,37)$ мкм ($p < 0,05$) та виявився на 1,3 % меншим порівняно із показниками тварин контролю. Ширина кісткових трабекул плечової кістки була $(5670 \pm 0,51)$ мкм ($p < 0,05$), різниця з контролем – 1,5 %.

Кортекс зберігав цілісність, при цьому поверхня ендосту була нерівною (рис. 3.43). Середні показники площі діафіза стегнової кістки знизилися до $(7,51 \pm 0,39)$ мм ($p < 0,05$) плечової кістки до $(6,68 \pm 0,26)$ мм ($p < 0,05$). Діаметр остеонів та каналів остеонів стегнової кістки збільшився до $(32,60 \pm 0,66)$ мкм та $(13,89 \pm 0,36)$ мкм, що на 1,6 % та 2,4 % більше порівняно з контролем, плечової кістки – $(28,45 \pm 0,28)$ мкм та $(11,70 \pm 0,36)$ мкм, різниця з контролем склала 1 % та 2,5 %. У щурів із гіперглікемією спостерігається більш стрімке розширення діаметра остеонів та їх каналів порівняно з контролем, це може бути результатом дії гіперглікемії на кістки.

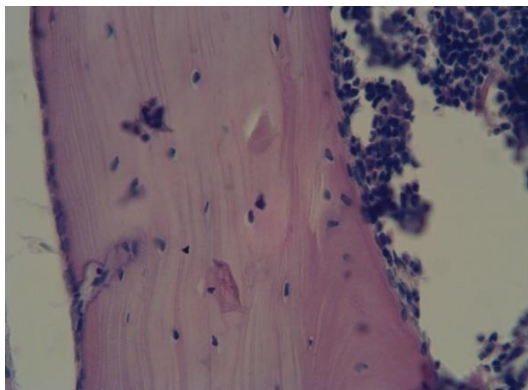
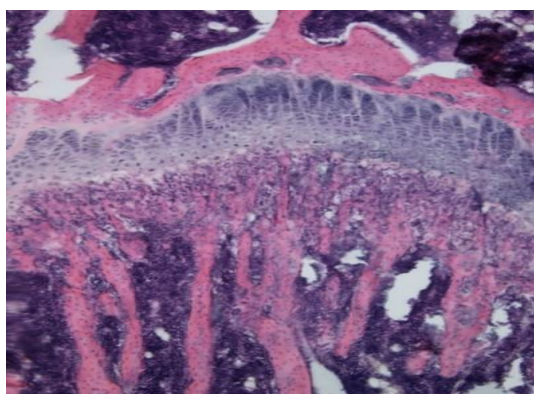
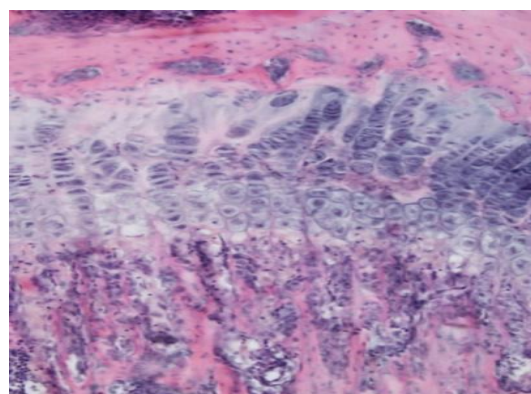


Рисунок 3.43 – Кортикальний шар стегнової кістки щура старечого віку на 60-ту добу експерименту. Ділянка збереженої нормальної структури. Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин



а



б

Рисунок 3.44 – Фрагмент дистального епіфіза стегнової кістки щурів старечого віку. Епіфізарний хрящ (а, б) та зона первинної і вторинної спонгіози (а). Зниження щільності клітин у проліферативних колонках, порушення їх структурної орієнтації (б). Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

При гістологічному дослідженні кісток було зафіксовано структурні зміни в епіфізарному хрящі як стегнової, так і плечової кісток. Було відмічено майже повну відсутність зони індиферентного хряща, що вказує на пригнічення ростових процесів (рис. 3.44 а), клітини проліферативної зони розміщувались переважно в стовпчиках паралельно центральній вісі кістки, але на ділянках утворювали скупчення, що нагадували великі ізогенні групи. Матрикс на таких ділянках мав еозинофільне забарвлення, що також є притаманним суглобовому хрящу, а не епіфізарному. Подекуди стовпчики були повністю відсутні або склалися з гіпертрофованих клітин (рис. 3.44 б).

Сповільнення процесів кісткоутворення характеризується також зменшенням ширини епіфізарного хряща. Показники стегнової кістки були $(209,43 \pm 0,42)$ мкм ($p < 0,001$) та плечової кістки – $(207,30 \pm 0,30)$ мкм ($p < 0,001$). Порівняно зі щурами попередньої підгрупи ширина епіфізарного хряща стегнової кістки зменшилася на 1,5 %, плечової – на 2,9 %.

На тлі виражених дегенеративних змін у різних локусах кісток імуногістохімічне дослідження показало наявність поодиноких клітин що експресують остеопонтин. Відсоткове співвідношення позитивно забарвлених клітин у діяфізі становило $(14,92 \pm 1,64)$ %, в епіфізі – $(17,11 \pm 1,60)$ %, що на 8,2 % та 11,3 % менше порівняно з контролем. Інтенсивність забарвлення цитоплазми визначається як слабка (+). Це може свідчити про деградацію остеоцитів в зв'язку з порушенням ремоделювання кістки. RANKL-позитивні клітини були наявні як у діяфізах, так і в епіфізах трубчастих кісток. Проте його експресія в діяфізі значно переважала над попереднім показником на 9 %, в епіфізі на 11 % ($p < 0,05$). Інтенсивність забарвлення цитоплазми визначалась як помірна (++).

У щурів старечого віку на 60-ту добу експерименту в остеобластах виявлено зміну форми ядра (утворення вигинів), що свідчить про гіперфункцію клітини шляхом збільшення ядерної поверхні та посилення біосинтезу білків (рис. 3.45 а). У цитоплазмі остеобластів виявлені

дегенеративні зміни – ділянки гомогенізації та набухлі мітохондрії (рис. 3.45 б). гЕПС у клітинах була добре розвинена, що вказує на активний синтез компонентів матриксу.

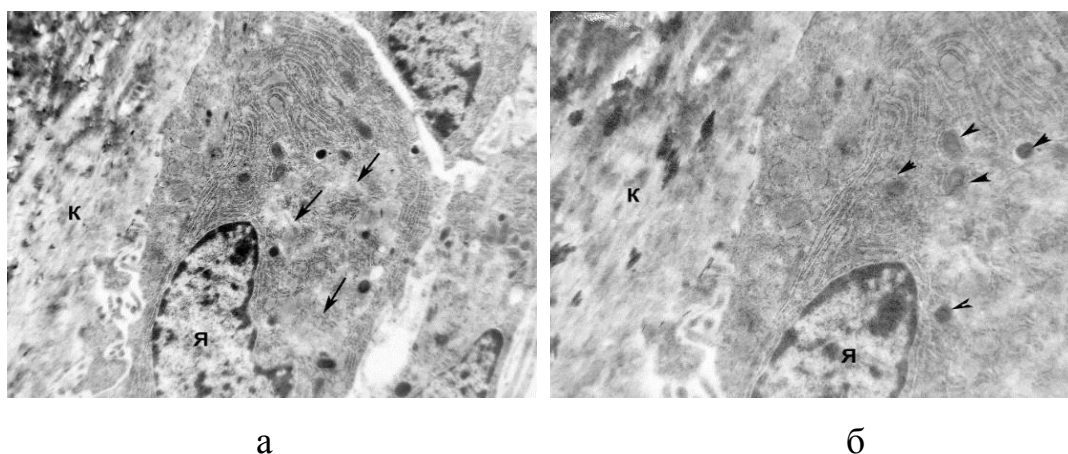


Рисунок 3.45 – Остеобласт із підковоподібним ядром (Я) на поверхні кісткової трабекули (К): а) – остеобласт; ділянки гомогенізації цитоплазми (стрілка); б) – фрагмент остеобласта; набухлі мітохондрії (стрілка). Щури старечого віку на 60-ту добу експерименту. Збільшення: а) $\times 6000$; б) $\times 10000$, контрастування за Рейнольдсом

Остеоцити мали слабо розвинені органели та розміщувалися в лакунах із нерівномірним контуром, зрідка траплялися клітини з вираженими дегенеративними змінами. Кістковий матрикс мав осередки нерівномірної мінералізації.

Тривала дія гіперглікемії на кістки викликає істотне зменшення рівня хімічних елементів, що свідчить про значні зміни метаболізму в кістках. У макроелементному складі обох кісток відбувалися подібні зміни, як і на 30-ту добу спостереження, проте з більшим відсотком зміни: Са, Р та Си в діяфізі обох кісток продовжували знижуватися та становили $(2276,62 \pm 0,64)$ мкг/г ($p < 0,001$) у стегновій кістці та $(2010,26 \pm 0,28)$ мкг/г ($p < 0,001$) – у плечовій, Р – $(796,43 \pm 12,81)$ мкг/г ($p < 0,05$) та $(742,29 \pm 0,21)$ мкг/г ($p < 0,05$), Си – $(53,04 \pm 0,41)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(49,14 \pm 0,80)$ мкг/г ($p < 0,05$) відповідно, показники дистального епіфіза була відповідно: Са – $(1890,45 \pm 0,67)$ мкг/г ($p < 0,001$) у

стегновій кістці та $(1852,31 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,05$) – у плечовій, P – $(775,26 \pm 9,61)$ мкг/г ($p < 0,05$) та $(718,56 \pm 0,37)$ мкг/г ($p < 0,001$), Cu – $(54,46 \pm 0,83)$ мкг/г ($p < 0,05$) та $(51,73 \pm 0,94)$ мкг/г ($p < 0,05$) відповідно.

Механічні показники досліджуваних кісток змінювалися наступним чином: значення показника навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки склало $(465,46 \pm 13,0)$ Н ($p < 0,05$), плечової кістки – $(398,21 \pm 23,82)$ Н. Показники епіфіза відповідали: $(304,73 \pm 0,30)$ Н ($p < 0,05$) та $(265,64 \pm 6,30)$ Н ($p < 0,001$). Межа міцності при стисненні діафіза стегнової кістки становила $(142,70 \pm 0,66)$ мПа ($p < 0,001$), плечової кістки – $(131,0 \pm 3,35)$ мПа ($p < 0,001$). Різниця між середніми значеннями показника міцності при стисненні діафіза стегнової кістки у тварин із гіперглікемією та контролем становила 1,4 %, плечової – 5,2 %. Відповідні показники епіфізу обох кісток становили: стегнової $(74,30 \pm 0,79)$ мПа ($p < 0,001$), плечової – $(72,0 \pm 0,38)$ мПа ($p < 0,001$), різниця показників 2,3 % та 1,5 % відповідно.

3.4.3 Морфологія кісток щурів на 90-ту добу експерименту. Вага тварин змінилася до $(214,30 \pm 6,39)$ г. Глюкоза в крові – $(12,30 \pm 1,92)$ ммол/л. Відмічається також підвищення показника HbA1c до $(8,22 \pm 0,27)$ %, що підтверджує наявність стійкої гіперглікемії.

За даними остеометрії, лінійні показники стегнової кістки щурів відзначалися незначним збільшенням ростових показників. Тривала дія гіперглікемії призводить до достовірної зміни лише деяких остеометричних показників досліджуваних кісток. Середній показник МДК стегнової та плечової кісток були меншим за такий порівняно з контролем на 8,8 % та 3,3 %. Показники ШСД стегнової та плечової кісток змінилися до $(3,17 \pm 0,33)$ мм та $(2,07 \pm 0,28)$ мм, відсоток зміни порівняно з показниками контролю склав 3,2 % та 4,8 % відповідно. Показники ШПЕ та ШДЕ стегнової та плечової кісток, а також показники їх приросту достовірно не відзначалися. ШПЕ епіфізів стегнової кістки змінилась до $(4,25 \pm 0,29)$ мм, плечової – до $(3,84 \pm 0,25)$ мм, різниця з контролем – 4 % та 3,6 %, ШДЕ – $(4,90 \pm 0,18)$ мм та $(4,72$

$\pm 0,33$) мм, різниця з контролем 4,1 % та 6,5 %. Відсоток зміни ШПЕ та ШДЕ стегнової кістки склав 1,2 %, плечової кістки на – 1 %.

Гістологічне дослідження дистального епіфіза, що представлений кістковими трабекулами переважно поздовжнього напрямку, спостерігається також зниження щільності остеоцитів у певних локусах епіфіза. Площа діафіза стегнової та плечової кісток у щурів із гіперглікемією була дещо меншою порівняно з контролем та становила $(7,30 \pm 0,36)$ мм ($p < 0,001$) та $(6,49 \pm 0,27)$ мм ($p < 0,001$), різниця з контролем склала 16,4 % та 16,6 %. Діаметр остеонів стегнової кістки був значно більшим у тварин із гіперглікемією порівняно з показниками щурів контролю та відповідав показникам $(32,20 \pm 0,31)$ мкм, плечової кістки – $(28,31 \pm 0,24)$ мкм, відсоток зміни склав 1,5 % та 1 %. Подібна відмінність була виявлена і для середніх показників діаметрів каналів остеонів стегнової кістки $(14,02 \pm 0,35)$ мкм та плечової кістки $(11,80 \pm 0,33)$ мкм, що на 2,8 % та 2,6 % більше за показники щурів контролю. Ширина кісткових трабекул стегнової та плечової кісток виявився на 1,4 % та 1,6 % меншими за такий у контрольних щурів та становила $(65,89 \pm 0,35)$ мкм ($p < 0,001$) та $(56,53 \pm 0,41)$ мкм ($p < 0,05$) відповідно.

Гістологічне дослідження зафіксувало значне скорочення чисельності кісткових трабекул у зоні первинної спонгіози (рис. 3.46 а). Поодинокі кісткові трабекули в цій зоні розміщувалися на значній відстані одна від одної та були дуже короткими, та не утворювали зв'язків між собою. У зоні вторинної спонгіози кількість трабекул була більшою, але вони також розміщувались на значній відстані, не утворюючи трабекулярної мережі (3.46 б) .

Ширина епіфізарного хряща продовжувала стрімко знижуватися та становила у стегновій кістці $(205,78 \pm 3,59)$ мкм ($p < 0,001$), у плечовій – $(203,34 \pm 1,57)$ мкм відповідно, $p < 0,001$), порівняно з контролем ШЕХ стегнової кістки зменшилася на 17,5 %, плечової на 10,5 %.

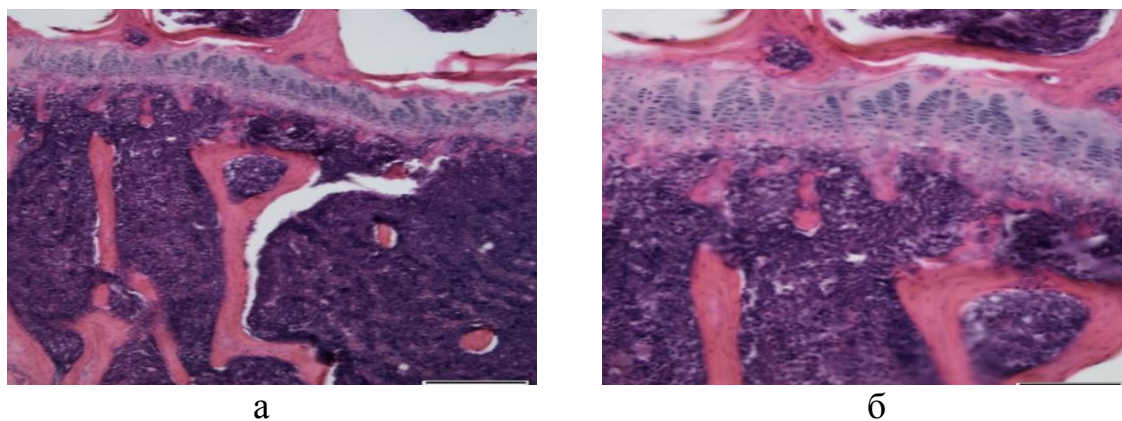


Рисунок 3.46 – Фрагмент епіфіза плечової кістки щура старечого віку на 90-ту добу експерименту. Епіфізарний хрящ (а, б) та зона первинної і вторинної спонгіози (а, б). Відсутність кісткових трабекул у зоні первинної спонгіози (а, б). Збільшення: а) $\times 100$; б) $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

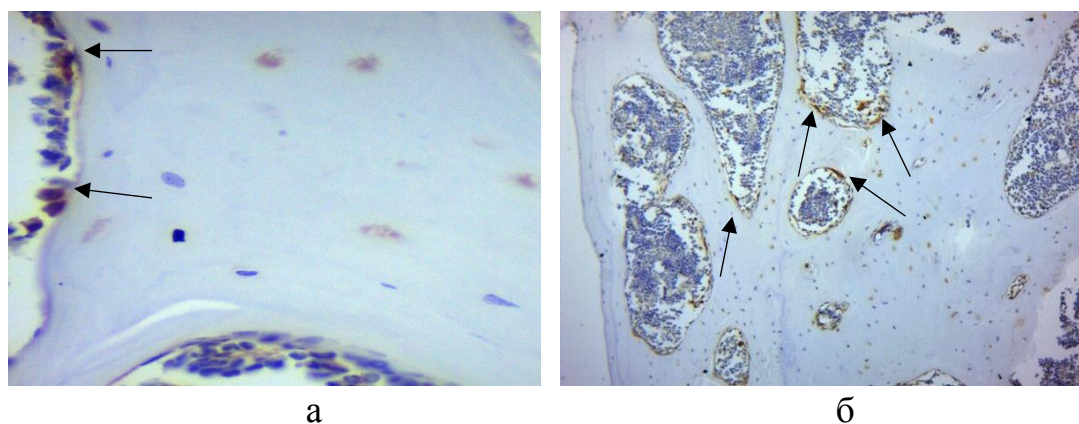


Рисунок 3.47 – Позитивна експресія остепонтину (а) та RANKL (б) в епіфізі плечової кістки на 90-ту добу експерименту, ІГХ з гематоксиліном Майєра. Збільшення а) $\times 400$ та б) $\times 200$.

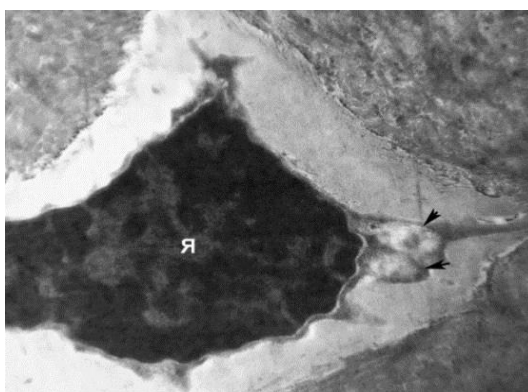


Рисунок 3.48 – Остеоцит із гіперхромним ядром (Я) та набухлими мітохондріями (стрілка) у розширеній кістковій лакуні у щурів старечого віку на 90-ту добу експерименту. Збільшення $\times 16800$, контрастування за Рейнольдсом

У діяфізі піддослідних щурів імуногістологічна експресія показника остеопонтину визначалась у вигляді поодиноких низькоінтенсивних клітин. Більш інтенсивна локалікалізація експресованих клітин спостерігалась у ділянці живильних каналів. Тут також були виявлені численні тріщини та щілини, навколо яких експресії клітин не спостерігалися. Спостерігалася значна експресія показника RANKL, що на 9 % та 11,6 % більше порівняно з контролем. Інтенсивність забарвлення цитоплазми визначалась як сильна (+++). Можна відзначити присутність численних ліній склеювання, порожнин остеокластичної резорбції, порожніх остеоцитарних лакун, тріщин та щілин, що вказують на порушення ремоделювання кістки (рис. 3.47).

На 90-ту добу експерименту в щурів старечого віку в остеобластах було також виявлено зміну форми ядра (утворення вигинів). У цитоплазмі остеобластів були виявлені дегенеративні зміни, а саме ділянки гомогенізації та набухлі мітохондрії. гЕПС у клітинах була добре розвинена, що вказує на активний синтез компонентів матриксу. Як і в попередньому терміні, остеоцити мали слаборозвинені органели та розміщувалися в лакунах із нерівномірним контуром, траплялися клітини з вираженими дегенеративними змінами (рис. 3.48). Кістковий матрикс мав осередки нерівномірної мінералізації.

Проведений мікроаналіз стегнової та плечової кісток показав зменшення рівня Са та Р у досліджуваних кістках, при цьому найбільші зміни спостерігаються в діяфізах порівняно з епіфізом. На 90-ту добу у діяфізах обох кісток щурів вміст Са у стегновій кістці зменшується на 6 % ($p < 0,001$), у плечовій – на 8,3 % ($p < 0,001$), Р – на 3,9 % ($p < 0,001$) та 2 % ($p < 0,001$), Си – на 2,2 % ($p < 0,001$) та 2,3 % ($p < 0,001$), H₂O – на 8,2 % ($p < 0,001$) та 4,5 % ($p < 0,001$). Відповідна динаміка спостерігається також для макроелементів у дистальних епіфізах, рівень яких активно зменшується зі збільшенням терміну гіперглікемії: Са – на 10 % ($p < 0,001$) та 6,4 % ($p < 0,001$), Р – на 2 % ($p < 0,05$)

та 4,5 % ($p < 0,001$), Cu – на 3,5 % ($p < 0,001$) та 3,6 % ($p < 0,001$), H₂O – на 4 % ($p < 0,001$) та 10 % ($p < 0,001$) відповідно.

Зростання виведення вологи з організму призводить до зменшення вмісту всіх досліджуваних хімічних елементів, при цьому дещо інтенсивніші зміни можна відмітити в епіфізах досліджуваних кісток.

3.4.4 Морфологія кісток щурів на 120-ту добу експерименту. Дефіцит маси тіла щурів склав 31,4 %, глюкоза в крові відповідала показникам ($11,40 \pm 1,51$) ммол/л ($p < 0,001$), HbA1c – ($9,10 \pm 0,72$) % ($p < 0,001$).

Гіперглікемія призводить до значних змін остеометричних параметрів стегнової та плечової кісток. Найбільша різниця з контролем відмічається для МДК обох кісток на 8,7 % ($p < 0,001$) та 4,5 % ($p < 0,05$). Середні значення ШСД стегнової та плечової кісток зменшуються порівняно з контролем відповідно на 3,1 %, та 4,8 %. Показники ширини проксимального й дистального епіфізів стегнової та плечової кісток також відрізнялися порівняно з контролем. Показники площі діафіза стегнової кістки становили ($7,07 \pm 0,36$) мм ($p < 0,001$), величина діаметра остеонів продовжувала інтенсивно збільшуватися та складала ($32,42 \pm 0,55$) мкм, діаметр каналів остеонів – ($14,15 \pm 0,34$) мкм ($p < 0,05$). Показники площі діафіза плечової кістки становили ($6,28 \pm 0,54$) мм ($p < 0,001$), величина діаметра остеонів збільшилася до ($28,53 \pm 0,24$) мкм, діаметрів каналів остеонів – до ($11,97 \pm 0,52$) мкм. Проте показники ширини кісткових трабекул продовжували тенденцію до зменшення та становили ($65,69 \pm 0,36$) мкм ($p < 0,001$) та ($56,376 \pm 0,18$) мкм ($p < 0,001$) відповідно, що на 0,3 % менше порівняно з попереднім періодом.

Змодельована гіперглікемія спричинює значне порушення обміну речовин. Проведені дослідження діафіза стегнової та плечової кісток на 120-ту добу експерименту свідчать про наявність у структурі діафіза обох кісток численних ліній склеювання та порожнини остеокластичної резорбції. Щільність кісткової тканини значно порушена, про це свідчить наявність

тріщин та щілин у кістковій тканині. На певних ділянках ширина кортексу стоншена. Ендост та періост мали нерівні контури, але були вкриті остеобластами. Розташування остеоцитів на поверхні КТ нерівномірне. У діяфізі виявлено виражену резорбцію періосту, що призвело до його стоншення (рис. 3.49 а). Установлено зниження щільності остеоцитів. На ділянках матрикс періосту мав базофільне забарвлення, що свідчить про його демінералізацію та втрату характерної структури (рис. 3.49 б). Траплялися ділянки хрящового матриксу, що також є нехарактерним для кортикального шару та свідчить про зниження міцності.

Зниження продуктивності роботи остеобластів та посилення патологічних порушень метаболічних процесів в кістках проявляються у зменшенні об'єму загальної спонгіози в стегновій кістці на 4 %, в плечовій – на 5 %. Трабекули в епіфізах стоншені та утворюють ніби хаотичне мереживо, поміж них спостерігаються елементи жовтого кісткового мозку. Також було виявлено, що трабекулярна кісткова тканина щурів старечого віку мала значні морфологічні порушення, такі як: значне скорочення кількості кісткових трабекул у зоні первинної спонгіози, кісткові трабекули розміщувалися далеко одна від одної й були дуже короткими та не утворювали зв'язків між собою. У зоні вторинної спонгіози кількість трабекул була дещо більшою, але вони також розміщувалися на значній відстані, не утворюючи трабекулярної мережі.

Імуногістохімічна експресія остепонтину в діяфізі в зазначений термін спостереження була слабо вираженою та становила ($14,51 \pm 0,49$) %, інтенсивність забарвлення цитоплазми слабка (+). Наявна резорбція періосту, що відзначається в його стоншенні. В епіфізі містилися поодинокі клітини з проявами реакції. Частка позитивно забарвлених клітин становила ($16,53 \pm 1,47$) %, інтенсивність забарвлення цитоплазми слабо виражена (+). Спостерігаються численні ділянки немінералізованого матриксу.

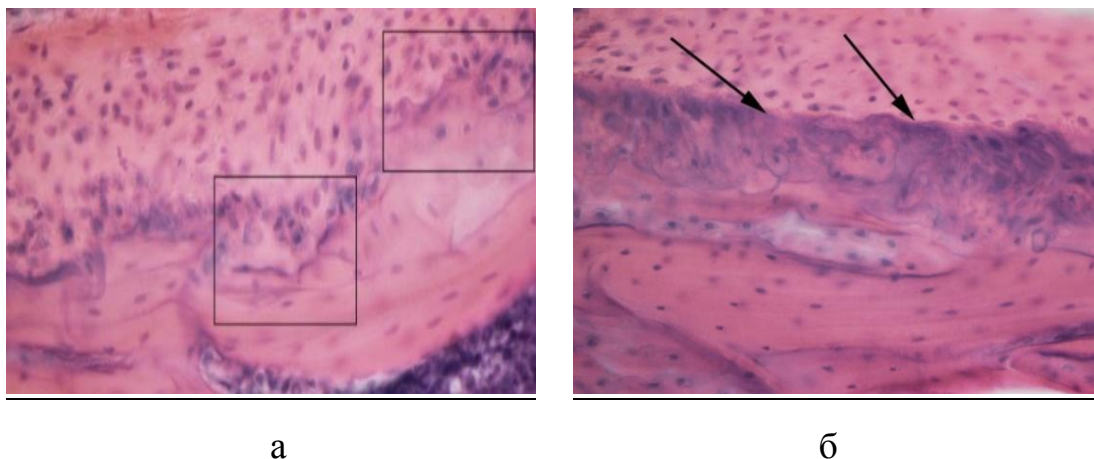


Рисунок 3.49 – Діафіз стегнової кістки щура старечого віку на 120-ту добу експерименту. Стоншення кортикального шару за рахунок резорбції періосту (а, обведено). Активна перебудова матриксу періосту (б, стрілки). Збільшення $\times 400$, забарвлення гематоксилін та еозин

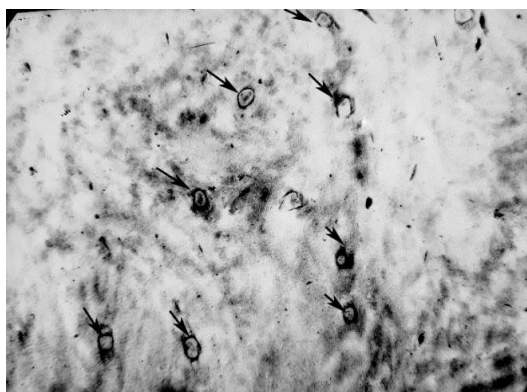


Рисунок 3.50 – Кістковий матрикс із численними відростками остеоцитів (стрілка) та нерівномірною мінералізацією у щурів старечого віку на 120-ту добу експерименту. Збільшення $\times 16800$, контрастування за Рейнольдсом

Показник експресії RANKL у щурів із гіперглікемією значно переважав над контрольними щурами, різниця з контролем склала в діяфізі 10,3 %, в епіфізі 11,4 %, інтенсивність забарвлення цитоплазми – сильна (+++). Це свідчить про переважання процесів резорбції над кісткоутворенням.

В досліджуваних кістках спостерігалися слабо розвинені мембранні органи: поодинокі профілі гЕПС та зрідка – мітохондрії. Клітини розміщувалися щільно на поверхні кісткових трабекул. Часто зустрічалися загиблі остеобласти. Матрикс мав нерівномірну електронну щільність. Остеоцити мали слаборозвинені органи та розміщувалися нерівномірно в кістковому матриксі (рис. 3.50).

У макроелементному складі відбувалося прогресуюче зменшення вмісту Са в діяфізі стегнової кістки на 6,1 % ($p < 0,001$), плечової на 8,7 % ($p < 0,001$), Р стегнової кістки – на 5 % ($p < 0,001$), плечової – на 3 % ($p < 0,001$). Прогресувало зменшення H_2O на 9,4 % ($p < 0,001$) та 6 % ($p < 0,001$) відповідно. Мікроелементний склад обох кісток також характеризується втратою хімічних елементів кісткової тканини. Найменші зміни відмічаються з боку Сu та Zn, їх рівень на 120-ту добу експерименту зменшується в плечових кістках на 2,4 % ($p < 0,001$), 2,5 % ($p < 0,001$) та 3,8 %, 3,7 % відповідно. Аналогічні зміни показників макроелементного складу відмічались і у епіфізах обох кісток. Уміст Са зменшився на 11,6 % ($p < 0,001$) та 8 % ($p < 0,001$), Р – на 4,1 % ($p < 0,001$) та 5,6 % ($p < 0,001$), Сu – 3,4 % ($p < 0,001$) та 4 % ($p < 0,001$), H_2O – 5,2 % ($p < 0,001$) та 11 % ($p < 0,001$). Таким чином, спостерігається стрімка втрата мінеральної насиченості досліджуваних кісток й основних хімічних елементів – кальцію та фосфору, рівень яких починає зменшуватися починаючи з 30-ї доби експерименту.

Відповідно до одержаних механічних показників кісток щурів старечого віку можна спостерігати значні порушення міцності як стегнової, так і плечової кісток, це може бути обумовлено порушенням як мінеральної, так і органічної фаз кісткової тканини. Зниження МЦКТ у зазначений період

виявляється більше в епіфізах досліджуваних кісток, ніж у діафізах за рахунок меншої мінералізації епіфіза.

3.4.5 Морфологія кісток щурів на 150-ту добу експерименту. Вага щурів становила ($221,40 \pm 0,99$) г ($p < 0,001$). Рівень глюкози в крові та глікозильованого гемоглобіну становили ($11,07 \pm 1,31$) ммоль/л що у 1,9 раза більше за норму, що свідчить про наявність прогресуючої гіперглікемії.

Остеометричні показники кісток показують затримку інтенсивності приросту показників порівняно з попередніми віковими групами. Характерних змін зазнають МДК, ШСД, ШПЕ та ШДЕ. Відсоток приросту МДК стегнової та плечової кісток становив 1,1 %, ШСД – 0,3 % та 0,5 %, показники ШПЕ та ШДЕ достовірністю показників не відзначалися (рис. 3.51). Потрібно також відмітити більш інтенсивний приріст остеометричних показників у контрольних щурів порівняно зі щурами із гіперглікемією.

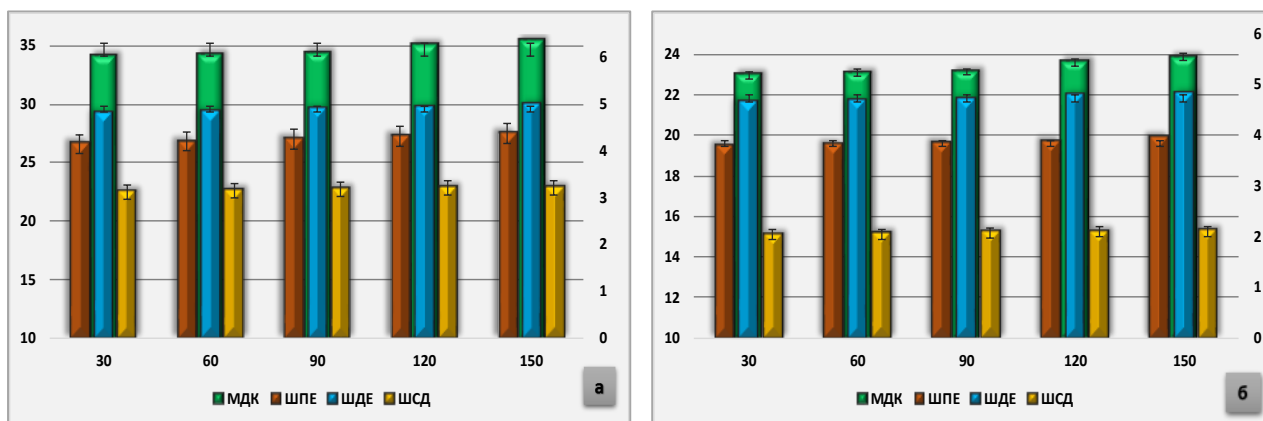


Рисунок 3.51 – Динаміка змін остеометричних показників стегнової (а) та плечової (б) кісток щурів старечого віку за умов гіперглікемії на 150-ту добу експерименту

Гістологічне дослідження діафіза виявило ділянки стоншення та немінералізовані ділянки, ймовірно, за рахунок резорбції періосту. Аналіз гістологічних препаратів епіфізів стегнової та плечової кісток щурів показав стоншення кісткових балок та наявність ліній склеювання. Збільшення діаметру Гаверсових каналів. Кісткові трабекули розташовані нерівномірно, деякі роз'єднані, водночас зменшується кількість трабекулярних з'єднань.

Площа губчастої кістки в цьому віці була більшою порівняно зі щурами молодого віку в зоні первинної та вторинної спонгіози. У цій віковій групі в епіфізарному хрящі було встановлено появу деструктивних ділянок, що вказують на зникнення хряща та припинення росту кістки.

ІГХ-дослідження показало слабку експресію остеопонтину в щурів із гіперглікемією як у діафізах, так і в епіфізах обох кісток (+). Ми виявили поодинокі клітини з низькою інтенсивністю забарвлення цитоплазми. Наявність порожнин остеокластичної резорбції, порожніх остеоцитарних лакун, тріщин та щілин вказує на порушення метаболізму кістки. Також у щурів із гіперглікемією було відмічено інтенсивнішу експресію RANKL порівняно з контролем як і в попередні періоди спостереження у цій віковій групі. В епіфізі відзначалося стоншення кісткових балок, наявність численних ліній склеювання та зменшення кількості трабекулярних з'єднань переважно за рахунок руйнації поперечних балок. Інтенсивність забарвлення цитоплазми – сильна (+++).

Методом світломікроскопічного дослідження кісток було зафіксовано гіперфункцію остеобластів у вигляді розширення цистерн гЕПС та набухання мітохондрій. Однак також виявлено утворення численних деструктивних порожнин. У кістковому матриксі виявлено загиблі остеоцити (рис. 3.52).

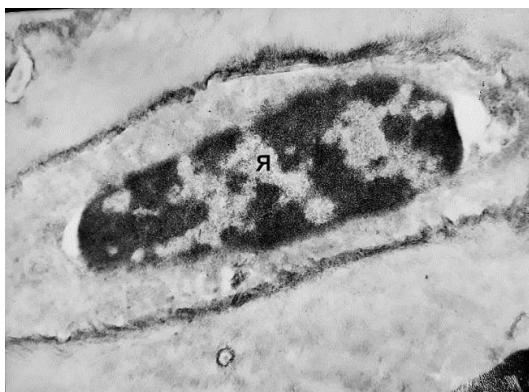


Рисунок 3.52 – Остеоцит в лакуні із зазубреними краями у щурів старечого віку на 150-ту добу експерименту. Збільшення $\times 16800$, контрастування за Рейнольдсом

Прогресуюча гіперглікемія призводить до достовірного зменшення вмісту Са та Р у досліджуваних кістках: у діафізі стегнової кістки – на 6,1 % ($p < 0,001$), плечової – на 8,7 % ($p < 0,001$), Р стегнової кістки – на 5 % ($p < 0,001$), плечової – на 3 % ($p < 0,001$). Прогресувало зменшення H_2O на 9,4 % ($p < 0,001$) та 6 % ($p < 0,001$) відповідно. Мікроелементний склад обох кісток також характеризується втратою хімічних елементів кісткової тканини. Найменші зміни відмічаються з боку Сu та Zn, їх рівень на 150-ту добу експерименту зменшується в плечових кістках на 2,4 % ($p < 0,001$), 2,5 % ($p < 0,001$) та 3,8 % і 3,7 % відповідно.

Механічні показники щурів старечого віку мають значні порушення мінеральної щільності кісткової тканини, це може бути пов'язано з порушенням мінералізації кісток. Середнє значення показника навантаження при стисненні діафіза стегнової кістки склало $(431,18 \pm 13,06)$ Н ($p < 0,001$), плечової кістки – $(370,10 \pm 12,94)$ Н ($p < 0,001$). Показники дистального епіфіза стегнової кістки відповідали значенням $(280,25 \pm 6,50)$ Н ($p < 0,001$), плечової кістки – $(241,35 \pm 6,50)$ Н ($p < 0,001$). Межа міцності при стисненні діафіза стегнової кістки становила $(135,20 \pm 3,62)$ мПа ($p < 0,001$), плечової кістки – $(125,0 \pm 5,31)$ мПа ($p < 0,001$). Різниця між середніми значеннями показника міцності при стисненні діафіза стегнової кістки – 6 %, плечової – 3,6 %, відповідні показники епіфіза склали 6 % та 4 %.

3.4.6 Морфологія кісток щурів на 180-ту добу експерименту. Маса тварин складала $(223,02 \pm 0,96)$ г ($p < 0,001$), що на 3 % менше за масу контрольних щурів. Глюкоза в крові та глікозильованого гемоглобіну становили $(11,3 \pm 2,13)$ ммоль/л та $(9,62 \pm 0,64)$ %, що підтверджує наявність хронічної гіперглікемії.

На 180-ту добу спостереження у тварин старечого віку спостерігається призупинення ростових процесів, про що свідчить сповільнення показників приросту лінійних розмірів кісток наприкінці експерименту. МДК стегнової кістки становила $(36,23 \pm 0,75)$ мм ($p < 0,001$), плечової – $(24,40 \pm 0,38)$ мм (p

< 0,05), різниця з контролем склала 10 % та 5 %. Варто відзначити більш інтенсивний ріст МДК у контрольних щурів порівняно зі щурами із гіперглікемією. Аналогічні зміни відбулись і в зміні середніх показників ширини проксимального та дистального епіфізів обох кісток. Різниця порівняно з контролем ШПЕ та ШДЕ стегнової кістки становила 0,2 % та 1,2 %, плечової – 1 % та 1,6%., що значно менше порівняно з показниками щурів молодого та зрілого віку.

Гістологічно можна відзначити сотоншення кортикального шару діафіза, ймовірно за рахунок резорбції періосту (рис. 3.53).

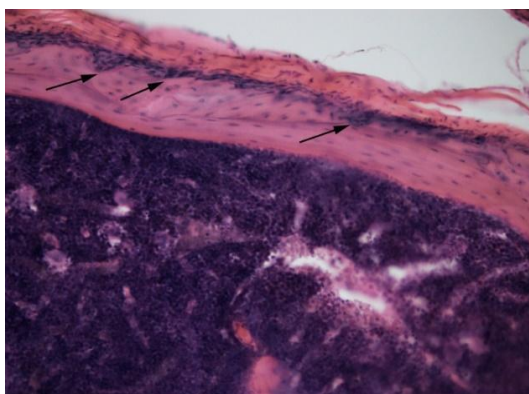


Рисунок 3.53. – Кортикальний шар стегнової кістки щура старечого віку на 180-ту добу експерименту. Резорбція періосту (стрілки). Збільшення $\times 200$, забарвлення гематоксилін та еозин

Виявлені зміни структури діафіза та епіфіза подібні до встановлених на термін 150 діб спостереження в цій віковій групі, однак із більшим проявом на 180-ту добу. Також спостерігали виражене скорочення чисельності кісткових трабекул у первинній та вторинній спонгіозі обох кісток. Значно зростає кількість мікротріщин та порожнин остеокластичної резорбції, що свідчить про зменшення активності процесів синтезу КТ. Це, можливо, через зменшення кількості остеоцитів на поверхні трабекул. У епіфізах було відзначено значне зменшення щільності трабекул у зоні первинної та вторинної спонгіози в обох кістках порівняно з попереднім терміном. Характерним є також значне зменшення ширини епіфізарного хряща стегнової

кістки на 25,7 %, плечової – на 18 %. В епіфізарному хрящі зафіксовано значні порушення структури кісткової тканини як стегнової, так і плечової кісток. Тут виявлено присутність деструктивних ділянок, у вигляді гомогенних безклітинних осередків. Це свідчить про припинення росту кістки на цих ділянках. Потрібно відзначити значну кількість патологічно змінених клітин, які перевищують відсоток нормальних, що може свідчити про значне порушення обміну зони росту епіфізарного хряща.

ІГХ-дослідження зафіксувало значні порушення структури кісткової тканини як стегнової, так і плечової кісток. У діафізі остеопонтин експресували поодинокі клітини. Частка позитивно забарвлених клітин у діафізі становила ($14,13 \pm 1,45$) %, в епіфізі – ($16,02 \pm 1,42$) % ($p < 0,05$), що на 8 % та 13,1 % менше порівняно з контролем, інтенсивність забарвлення цитоплазми переважно слабка (+) (рис. 3.54 а). Аналіз інтенсивності показників RANKL свідчать про продовження посиленої експресії. Відсоток позитивно забарвлених клітин у діафізі становив ($28,16 \pm 1,56$) %, в епіфізі – ($30,38 \pm 1,77$) % ($p < 0,05$), що на 10,4 % та 11,2 % більше порівняно з контролем, інтенсивність забарвлення цитоплазми сильна (+++) (рис. 3.54 б). Було відзначено значне зменшення щільності трабекул, наявність численних щілин та тріщин, а також присутність деструктивних ділянок, та наявність зруйнованих без'ядерних клітин. Це свідчить про пригнічення ремоделювання кістки в цих ділянках.

Дослідження напівтонких зрізів зафіксувало порушення будови остеобластів у вигляді розширення цистерн гЕПС та набухання мітохондрій. Також виявлено утворення деструктивних порожнин (рис. 3.55), що свідчить про неуспішність компенсаторної реакції клітин у відповідь на високий рівень глюкози. У кістковому матриксі виявлено загиблі остеоцити, які знаходилися в розширених лакунах з нерівномірними контурами.

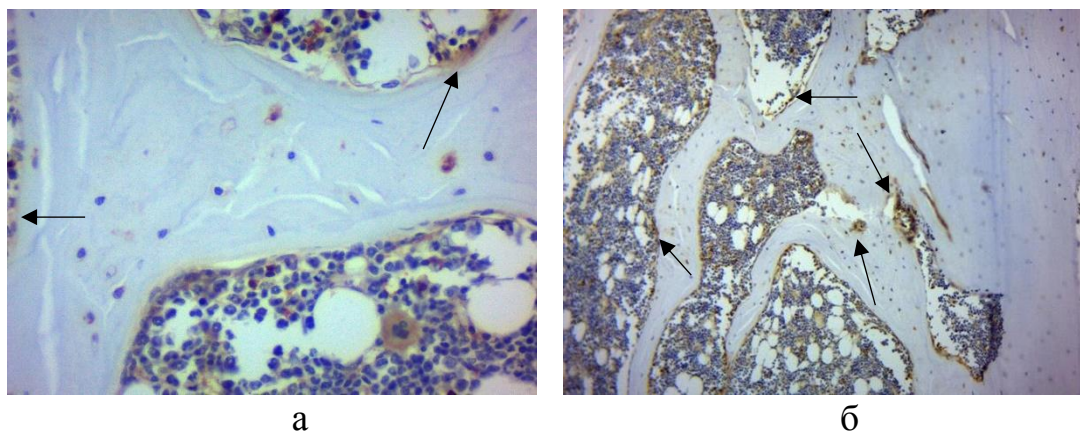


Рисунок 3.54 – Позитивна експресія остепонтину (а) та RANKL (б) на 180-ту добу експерименту, ІГХ з гематоксиліном Майєра. Збільшення: а) $\times 400$, б) $\times 100$

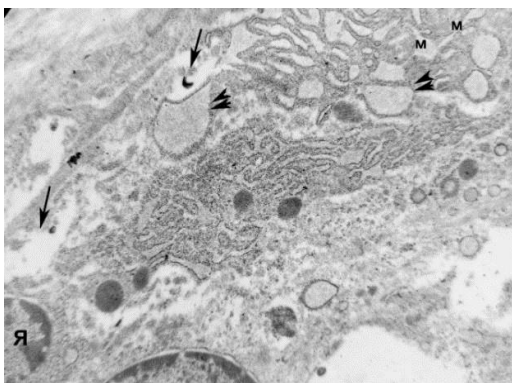


Рисунок 3.55 – Фрагмент остеобласта з деструктивними порожнинами (стрілка), розширеними цистернами гЕПС (дві стрілки) та набухлими мітохондріями (м). Щури старечого віку на 180-ту добу спостереження. Збільшення $\times 10000$, контрастування за Рейнольдсом

Зміни в біоелементному складі досліджуваних кісток продовжували прогресивно знижуватися аналогічно до показників у щурів попередніх підгруп спостереження. Показники вмісту макроелементів у діафізі як стегнової, так і плечової кісток виявилися значно меншими в щурів із гіперглікемією порівняно з контролем. Вміст Са та Р у діафізах обох кісток становив: Са – $(2020,14 \pm 0,21)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(1784,31 \pm 0,95)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця із контролем склала 10 % та 12 %, Р – $(758,70 \pm 19,17)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(706,14 \pm 0,25)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця з контролем – 5,3 % та 3,2 %. Аналогічні показники вмісту основних макроелементів в епіфізах цих кісток становили: Са – $(1662,34 \pm 0,66)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(1620,46 \pm 0,47)$ мкг/г ($p < 0,001$) втрата – 15 % та 11 %, Р – $(708,32 \pm 0,20)$ мкг/г ($p < 0,001$) та $(674,10 \pm 0,24)$ мкг/г ($p < 0,001$), втрата хімічних елементів становила 7,3 % в обох кістках. Уміст води є майже однаковим у діафізах досліджуваних кісток та дещо більшим в епіфізах в усіх вікових групах. Відсоток води в діафізах досліджуваних кісток зменшився на 12,1 % ($p < 0,001$) та 9 % ($p < 0,001$) та епіфізах – на 9 % ($p < 0,001$) та 15 % ($p < 0,001$). Уміст мікроелементів у діафізі та епіфізі обох кісток відповідає наступним показникам: Zn у діафізі стегнової кістки знизився до $(6,20 \pm 0,31)$ мкг/г, плечової кістки – $(5,74 \pm 0,35)$ мкг/г різниця із контролем – 4,7 % та 4,3 %; Cu – $(51,78 \pm 0,86)$ мкг/г ($p < 0,05$) та $(48,02 \pm 0,78)$ мкг/г ($p < 0,001$), відмінність із контролем – 3 % та 2,7 %, у епіфізі стегнової кістки, Cu – $(52,43 \pm 0,86)$ мкг/г ($p < 0,001$), плечової – $(49,84 \pm 0,92)$ мкг/г ($p < 0,001$), відсоток втрати – 4,4 % в обох кістках; Zn – $(6,08 \pm 0,17)$ мкг/г та $(5,06 \pm 1,13)$ мкг/г, відсоток втрати – 4,3 % та 7 %.

Дія гіперглікемії на кістки скелета виявляється в зниженні їх мінеральної щільності та порушенні структури неорганічного матриксу. Установлено, що в щурів старечого віку мінеральна щільність як діафіза, так і епіфіза достовірно зменшувалася в обох кістках (рис. 3.56).

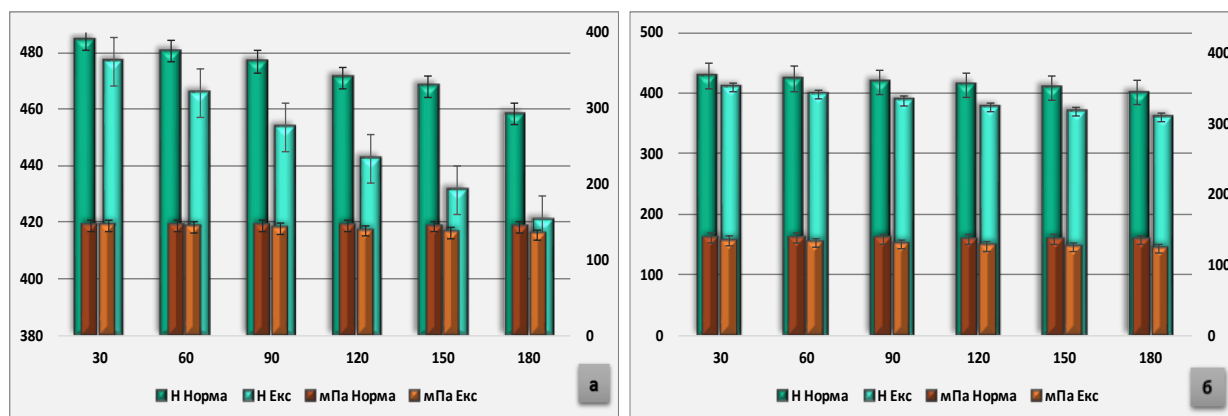


Рисунок 3.56 – Динаміка змін механічних показників діафіза стегнової (а) та плечової (б) кісток щурів старечого віку на 180-ту добу експерименту за умов хронічної гіперглікемії

Відтак навантаження при стисненні діафіза стегнової та плечової кісток зменшилося до $(420,56 \pm 6,80)$ Н ($p < 0,001$) та $(360,30 \pm 12,90)$ Н ($p < 0,001$). Різниця з контролем – 9 % та 11 %. Межа міцності при стисненні становила $(133,10 \pm 4,18)$ мПа ($p < 0,001$) та $(123,40 \pm 5,33)$ мПа ($p < 0,001$). Відмінність показників порівняно з контролем склала 7,2 % та 9,4 % відповідно. Навантаження при стисненні дистального епіфіза стегнової кістки знизилось аж до показника $(273,14 \pm 6,67)$ Н ($p < 0,001$), плечової – до $(235,22 \pm 6,48)$ Н ($p < 0,001$) відповідно. Межа міцності при стисненні дистального епіфіза стегнової кістки знизилася до $(68,60 \pm 0,28)$ мПа ($p < 0,001$), плечової – до $(66,20 \pm 1,63)$ мПа ($p < 0,05$). Різниця з контролем склала 6,1 % та 4 %.

Висновки до розділу 3

1. Таким чином, зміни остеометричних показників досліджуваних кісток за умов хронічної гіперглікемії виражаються у вигляді сповільнення ростових показників обох досліджуваних кісток поряд з тенденцією до наростання деструктивних змін у будові остеогенних клітин, що проявляється у збільшенні резорбційних процесів за рахунок чого порушується щільність кісткової тканини.

2. Імуногістохімічне дослідження показало, що найбільший відсоток клітин що мали позитивну експресію остепонтину спостерігається в щурів молодого віку, найменший – відмічається у щурів старечого віку. Відповідно зниження позитивно імунореактивних клітин негативно впливає на процес ремоделювання кістки та її метаболізм. Водночас відбувається відносно підвищення відсотка експресії показника RANKL у досліджуваних кістках усіх вікових груп із найбільшим проявом у щурів старечого віку.

3. Дія хронічної гіперглікемії на організм щурів молодого, зрілого та старечого віку призводить до порушення мінералізації досліджуваних кісток з найбільшим проявом на 180 добу, про це свідчить зниження концентрації Ca, P, Cu та Zn у діафізах і епіфізах досліджуваних кісток. Деяко інтенсивніша втрата вказаних елементів спостерігається в епіфізах досліджуваних кісток, це свідчить про більшу метаболічну активність губчастої речовини.

4. У результаті тривалої дії гіперглікемії на кістки відзначаються значні порушення міцнісних характеристик як стегнової, так і плечової кісток, що обумовлено порушенням, як мінеральної, так і органічної фаз кісткової тканини. Зниження МЩКТ в досліджуваних кістках виявляється більш інтенсивно у епіфізах ніж у діафізах, що пов'язано з меншою мінералізацією епіфізу.

Результати досліджень розділу 3 наведено в таких публікаціях:

1. Понирко А. О., Рябенко Т. В. Порівняльна характеристика стану кісткової тканини у щурів різних вікових груп за умов індукованої гіперглікемії. *Український журнал медицини, біології та спорту (УЖМБС)*. 2019. Т. 4, №

- 5 (21). С. 67–71. (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному обробленні матеріалу). DOI: 10.26693/jmbs04.05.067.
2. Понирко А. О. Мікроскопічна будова та морфометричні показники довгих трубчастих кісток щурів старечого віку з індукованою гіперглікемією. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2019. Т. 19, вип. 3 (67). С. 151–155. (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному опрацюванні матеріалу). DOI: 10.31718/2077-1096.19.3.151.
 3. Понирко А. О. Вплив хронічної гіперглікемії на стан опорно-рухового апарату (огляд літератури). *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2021. Т. 21, вип. 1 (73). С. 184–187 (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному обробленні матеріалу). DOI: 10.31718/2077-1096.21.1.184.
 4. Понирко А. О., Дмитрук С. М., Бумейстер В. І. Біомеханічні властивості та макроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. № 2 (76). С. 232–238. (Особистий внесок: брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів, статистичному опрацюванні даних). DOI: 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.
 5. Ponyrko A. O., Bumeister V. I., Dmytruk S. M., Yarmolenko O. S., Teslyk T. P., Riabenko T. V., Shkolna I. I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021. № 74 (9 p.I). P. 2052–2059 (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). PMID: 34725275.
 6. Понирко А. О., Бумейстер В. І., Дмитрук С. М., Теслик Т. П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. № 2 (160). С. 231–235. (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). DOI: 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

7. Понирко А. О., Теслик Т. П., Рябенко Т. В. Структурно-функціональні зміни остеобластів за умов дії хронічної гіперглікемії. *Нотатки сучасної біології. Notes in Current Biology*. 2021. № 1 (1). С. 85-92. (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). DOI: <https://doi.org/10.29038/NCBio.21.1.85-92>.
8. Понирко А. О., Бойко В. О. Мінеральна щільність стегнових кісток щурів під час експериментального алоксанового діабету. *V Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини* : зб.тез.доп. (Суми, 20-21 квітня, 2017 р.) С. 75–76.
9. Понирко А. О. Динаміка ростових показників кісток щурів молодого віку під час індукованого цукрового діабету 1 типу. *Всеукраїнська науково-методична конференція, присвячена 25-річчю медичного інституту Сумського державного університету* : зб.тез.доп. (Суми.16–17 листопада 2017 р.) С.31.
10. Pomyrko A. O. Changing the chemical composition of long tubular bones of rats with diabetes mellitus type I. *International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists*. (Sumy, 2018). Sumy: Sumy state University, 2018. P.101.
11. Понирко А.О. Особливості морфологічних змін проксимального епіфізу стегнових кісток щурів зрілого віку за умов індукованої гіперглікемії. *Збірник тез доповідей VII конгресу наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топанатомів України* (Одеса, 2–4 жовтня. 2019 р.). Одеса, 2019. С. 272–273.
12. Понирко А. О. Зміни мінеральної щільності кісткової тканини у щурів з хронічною гіперглікемією. *Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині* (24–25 жовтня 2019 р.). Чернівці, 2019. С. 88–90.
13. Понирко А. О., Сулим Л. Г. Вплив гіперглікемії на ультраструктурну організацію довгих кісток щурів. *Priority directions of science development* :

the 5th International scientific and practical conference. (Lviv, 2020, March 2–3) 2020. P. 98.

- 14.Понирко А. О., Бумейстер В. І., Теслик Т. П. Морфофункціональна оцінка стану довгих трубчастих кісток у щурів молодого віку під впливом хронічної гіперглікемії. *Сучасні проблеми морфології людини* : зб. тез доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. (Харків, 23–25 вересня 2020 р.). Харків, 2020. С. 69.
- 15.Понирко А. О., Бумейстер В. І. Морфометричні зміни показників епіфізарного хряща щурів старечого віку за умов експериментальної гіперглікемії. *Фундаментальні науки – практичній медицині: морфо–функціональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів, при захворюваннях внутрішніх органів*: Науково–практична конференція, присвяченої 80-річчю з Дня народження професора Шутки Б. В.). (Івано-Франківськ, 30 вересня – 2 жовтня 2020 р.). Івано-Франківськ, 2020. С 41–43.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ураховуючи наявність певної кількості результатів клінічних та експериментальних досліджень, присвячених вивченню діабетичних порушень структури кісток скелету, потрібно відзначити недостатню вивченість особливостей впливу гіперглікемії на ріст та структурно-функціональні зміни остеогенних клітин в довгих трубчастих кістках щурів залежно від віку та тривалості впливу патологічного чинника. Результати досліджень в даному напрямку були представлені в нечисленних публікаціях, які доводять діабетичне ураження кісток скелету щурів, що обумовлене впливом на структуру і функцію як діяфіза та епіфіза так і будову наросткового хряща [6; 7; 8; 62; 82].

Отже, наше експериментальне дослідження було спрямоване на встановлення особливостей впливу хронічної гіперглікемії на ріст та зміну структурних змін у довгих трубчастих кістках щурів різних вікових груп.

Відзначене в нашому дослідженні сповільнення росту та порушення ремоделювання довгих трубчастих кісток щурів є результатом впливу комплексу негативних чинників, серед яких дефіцит інсуліну та гіперглікемія є основними, що визначають напрямок та особливості розвитку подальших морфологічних змін.

Отримані нами результати остеометрії стегнових та плечових кісток щурів з гіперглікемією та дані про зміни в діяфізі та дистальних епіфізах цих кісток свідчать про сповільнення їх і доповнюють накопичені відомості стосовно впливу тривалої гіперглікемії на систему скелета взагалі та довгі трубчасті кістки зокрема.

За даними остеометрії, лінійні ростові показники стегнових досліджуваних кісток щурів експериментальної та контрольної серії найбільш інтенсивно збільшувались у щурів молодого віку. Однак середній показник МДК стегнової

кістки у тварин експериментальної серії був достовірно меншим за такий у тварин контрольної.

Відтак МДК стегнової кістки на 30-ту добу експерименту в молодих щурів була достовірно меншою на 18 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 19 % ($p < 0,001$), показники ШПЕ – відповідно на 4,8 % та 4,3 %, ШДЕ на 2,1 % та 3,8 %, ШСД – на 5 % та 4,8 %. У зазначений термін спостереження відмічено менші показники МДК як стегнової, так і плечової кістки порівняно з контролем. Це свідчить про затримку лінійних показників кісток щурів із гіперглікемією. Зі зростанням терміну гіперглікемії затримка ростових показників проявлялася дедалі сильніше. Значення МДК обох кісток на 60-ту добу експерименту були достовірно менші: стегнової кістки – на 7,3 % ($p < 0,001$), плечової – на 7 % порівняно з 30-ю добою, на 90-ту добу – 6,1 % ($p < 0,001$) та 6 % ($p < 0,001$), на 120-ту добу – 11,8 % ($p < 0,001$) та 11 % ($p < 0,001$), на 150-ту добу – на 4 % ($p < 0,001$) та 3,8 % ($p < 0,001$), на 180-ту добу – на 7,3 % ($p < 0,001$) та 8 % ($p < 0,001$). Зазначена тенденція до уповільнення росту кісток щурів із гіперглікемією, зберігалась до закінчення експерименту.

За даними остеометрії, лінійні показники стегнової кістки тварин зрілого віку відзначалися незначним відсотком приросту порівняно з показниками щурів молодого віку. Середній показник МДК стегнової та плечової кісток на 30-ту добу експерименту був дещо меншим за такий порівняно з показниками контролю – на 11,2 % ($p < 0,001$) та 5,2 % ($p < 0,05$). Зміни величин показників ШСД стегнової та плечової кісток у щурів упродовж експерименту відповідали змінам, описаним для показників довжини кісток, а саме: відсоток зміни ШСД порівняно з контролем склав 5,34 % та 4,2 % відповідно. Середні показники ШПЕ й ШДЕ стегнової кістки порівняно з контролем склали 6 % та 9,6 %, плечової кістки – 6,2 % та 8,4 %.

У подальшому відсоткове співвідношення різниці показників щурів із гіперглікемією продовжувало збільшуватися порівняно з контролем. Відтак уже наприкінці експерименту, на 180-ту, добу остеометричні показники

досліджуваних кісток були значно менші порівняно з показниками контролю, що може свідчити про значні порушення метаболізму кістки за умов дії патологічного чинника. Показники МДК стегнової та плечової кістки у порівнянні з контролем були меншими – на 13 % ($p < 0,001$) та 7 % ($p < 0,05$). ШПЕ досліджуваних кісток була меншою за контроль на 8 % та 11 %, ШДЕ – на 8,5 % та 11 %.

На 30-ту добу спостереження в щурів старечого віку спостерігається повільна зміна остеометричних показників. Проте варто зазначити, що більш інтенсивне зростання остеометричних показників спостерігалось у тварин серії контролю. За показником максимальна довжина стегнової кістки різниця порівняно з щурами контролю склала 8,9 % та плечової – 3,3 %, ШСД - різниця показників порівняно зі щурами контролю становила 3 % та 4 %. Відповідні зміни відбулись і в зміні середніх показників ШПЕ та ШДЕ обох кісток: ширина проксимального та дистального епіфізів стегнової кістки становила 3,8 % та 3,3 %, плечової – 4,2 % та 4,7 % відповідно. Більш інтенсивно проявляється затримка лінійних показників у щурів усіх вікових груп порівняно з іншими остеометричними параметрами. У подальші періоди спостереження затримка ростових показників продовжувала прогресувати, та вже на 180-ту добу експерименту можна підсумувати, що гіперглікемія призводить до значних змін остеометричних параметрів стегнової та плечової кісток. На цьому етапі спостереження у щурів цієї вікової групи спостерігається призупинення ростових процесів, про що свідчить сповільнення показників приросту лінійних розмірів кісток. За показником МДК стегнової кістки різниця з контролем склала 10 % та плечової – 5 %. Варто відзначити більш інтенсивний лінійний ріст МДК у контрольних щурів порівняно з експериментальними. Приріст ШСД стегнової кістки становив лише 0,6 %, плечової – на 0,5 % відповідно. Аналогічні зміни відбулись і щодо зміни середніх показників ширини проксимального та дистального епіфізів обох кісток. Приріст ШПЕ та ШДЕ стегнової кістки збільшився на 0,2 % та 1,2 %, плечової – 1 % та 1,6 %, що значно менше порівняно з показниками приросту щурів молодого та зрілого віку. Отже, у тварин із

гіперглікемією з 30-ї до 180-ї доби спостерігалася затримка лінійних показників як епіфіза, так і діафіза з найбільшим проявом у щурів молодого віку.

У результаті проведеного гістологічного дослідження на 30-ту добу експерименту в щурів молодого віку було встановлено, що епіфізарний хрящ зберігав характерну структуру, а в щурів старечого віку відмічено появу гіпертрофованих клітин у проліферативних колонках, що свідчить про пригнічення процесів поділу клітин. Виразніші зміни зафіксовано в зоні вторинної спонгіози в молодих щурів, а саме значне зниження кількості трабекул, не дивлячись на їх наявність у зоні первинної спонгіози. Середня ширина кісткових трабекул стегнової кістки у тварин із гіперглікемією виявилася меншою порівняно з контролем на 1,1 %, та становила $(57,09 \pm 0,20)$ мкм відповідно ($p < 0,05$). Відповідний показник плечової кістки був меншим на 1,5 % та відповідав значенню $(48,05 \pm 0,36)$ мкм ($p < 0,05$). Аналогічна тенденція відмічена й у двох інших вікових групах, із найменшим проявом у щурів старечого віку. Показник діаметра остеонів стегнової кістки виявився більшим у тварин із гіперглікемією на 2,5 % та становив $(27,83 \pm 0,55)$ мкм ($p < 0,05$) та плечової кістки – на 2,6 % та відповідав показникам $(18,86 \pm 0,40)$ мкм ($p < 0,05$) відповідно. Також у тварин із гіперглікемією встановлено більший середній показник діаметра каналів остеонів порівняно з контролем – $(9,30 \pm 0,27)$ мкм та $(7,70 \pm 0,40)$ мкм.

Натомість у щурів зрілого віку середній показник діаметра остеонів стегнової кістки виявився більшим у тварин із гіперглікемією, що становив $(30,12 \pm 2,41)$ мкм та $(21,40 \pm 1,46)$ мкм – плечової кістки, відсоток зміни склав 0,1 % та 0,8 %. Також встановлено більший показник діаметра каналів остеонів $(11,35 \pm 1,41)$ мкм та $(8,45 \pm 0,09)$ мкм; щурів старечого віку – діаметри остеонів стегнової кістки були $(31,86 \pm 0,87)$ мкм, плечової – $(28,02 \pm 0,35)$ мкм, діаметр каналів остеонів обох кісток був $(13,72 \pm 0,45)$ мкм та $(11,56 \pm 0,32)$ мкм. У кортексі тварин усіх вікових груп відмічено виражену зміну структури з найбільшим проявом у молодому віці, що можливо, є результатом резорбції в каналах остеонів. Установлено також зникнення зони індіферентного хряща на певних ділянках в

епіфізарному хрящі, що можливо, і є причиною зниження численності кісткових трабекул, зафіксоване на наступні терміни спостереження.

На 60-ту добу експерименту було встановлено достовірні виражені структурні зміни в щурів молодого та зрілого віку. Це виражалось в порушенні зональності епіфізарного хряща та скороченні щільності кісткових трабекул. Упродовж 90-ї доби було зафіксовано виражену резорбцію періосту кортикального шару кістки молодих щурів, що є суттєвим з точки зору виникнення переломів через втрату товщини кортексу. У щурів зрілого віку структурні порушення в кістковій тканині та епіфізарному хрящі протікали більш повільно та менш виражено. Установлені зміни в щурів молодого та старечого віку свідчать, що зниження щільності кісткових трабекул, можливо, викликане порушенням механізму гіпертрофії хондроцитів та наступною неможливістю мінералізації цих ділянок.

На 120-ту добу експерименту у щурів усіх вікових груп зафіксовані зміни в кортикальному шарі, найбільш виражені в щурів молодого та старечого віку. У молодих тварин резорбція відбувалася як із боку періосту, так і ендосту, а в щурів старечого віку – лише з боку періосту, що призводить до його стоншення та рарефікації. Середня ширина кісткових трабекул стегнової кістки щурів молодого віку у тварин із гіперглікемією виявилася меншою порівняно з контролем на 2 %. Відповідні показники ширини кісткових трабекул плечової кістки знаходились на рівні ($50,59 \pm 0,26$) мкм ($p < 0,001$). Відносна величина площі губчастої тканини обох кісток зменшилася на 16,8 % та 17 % відповідно. У щурів зрілого віку показник ширини кісткових трабекул стегнової кістки був також меншим порівняно з контролем на 1,4 % ($p < 0,001$), плечової 1,6 % відповідно ($p < 0,05$); старечого - на 1,6 % та 1,7 % менше порівняно з контролем. Крім того, виявлено скорочення кількості кісткових трабекул в зоні первинної спонгіози в щурів молодого та старечого віку, з більшим проявом у тварин старечого віку. У структурі епіфізарного хряща в щурів зрілого віку виявлено значні порушення

структури у вигляді скорочення кількості проліферативних колонок на деяких ділянках.

На 150-ту добу експерименту найбільші структурні зміни встановлено у молодих щурів, а саме: зниження кісткової маси у вигляді скорочення кількості кісткових трабекул у зоні первинної спонгіози та стоншення кортикального шару внаслідок резорбції періосту. У тварин зрілого віку також зафіксовано ділянки під епіфізарним хрящем без кісткових трабекул, проте у кортикальному шарі виявлено численні порушення. У щурів зрілого віку структурні зміни були подібними до встановлених у тварин молодого віку, однак мали менший прояв. Так відбувалася активізація резорбції кортексу, однак лише з боку періосту, тоді як у молодих тварин це встановлено ще й із боку ендосту. У щурів цього віку максимальний прояв структурні зміни мали на початку дослідження в компактній кістковій тканині та поступове скорочення чисельності кісткових трабекул в губчастій кістковій тканині.

На 180-ту добу експериментально встановлено, що виразніші порушення структури мали місце в старечому віці порівняно з молодими. Так само, як і в попередні терміни спостереження, зафіксовано припинення утворення кісткових трабекул, ймовірно внаслідок загибелі клітин та стоншення кортексу. Про переважання процесів резорбції над синтезом у щурів молодого віку в обох кістках свідчить зменшення об'єму загальної спонгіози в стегновій кістці на 29,3 % ($p < 0,001$), у плечовій кістці – на 30,3 % ($p < 0,001$) за рахунок стоншення кісткових трабекул. Ширина кісткових трабекул стегнової кістки була достовірно меншою порівняно з контролем на 4,9 %, плечової – 5,4 %. Відносна площа губчастої тканини стегнової кістки зменшилася до $(19,90 \pm 0,41)$ % ($p < 0,001$), плечової – до $(16,55 \pm 0,24)$ % ($p < 0,01$), що достовірно менше за показники контрольних щурів, в щурів зрілого віку значення епіфіза вказують на значне порушення будови трабекулярної речовини кістки. Ширина кісткових трабекул стегнової кістки відповідала значенню $(66,54 \pm 0,78)$ мкм ($p < 0,001$), плечової кістки – $(57,24 \pm 3,03)$ мкм ($p < 0,05$), різниця показників склала 2 % в обох кістках, показники

об'єму загальної спонгіози стегнової кістки знизилася до $(24,37 \pm 0,40) \%$ ($p < 0,05$), плечової – до $(24,73 \pm 0,46) \%$ ($p < 0,05$) відповідно; у щурів старечого віку ширина кісткових трабекул стегнової кістки була $(64,93 \pm 0,39)$ мкм ($p < 0,001$), плечової – $(55,67 \pm 0,25)$ мкм ($p < 0,001$), що на 2,1 % та 2,5 % відсотка менше порівняно з контролем. У щурів старечого віку можна відзначити зниження щільності клітин у проліферативних колонках та порушення їх структурної орієнтації.

Відомо, що інсулін сприяє проліферації хондроцитів, диференціації та формуванню ними хрящового матриксу [142]. Установлене поступове зниження кількості кісткових трабекул губчастої кістки, що, можливо, є результатом зниження рівня інсуліну та реакції хондроцитів на це. Також установлене повільне стоншення кортикального шару протягом усього дослідження, внаслідок резорбції періосту кортикального шару. Максимальний прояв структурні зміни мали на кінець дослідження (180 діб).

Таким чином, у результаті гістологічного аналізу встановлено, що гіперглікемія спричинює зміни як у кортикальній, так і в трабекулярній кістковій тканинах у всі терміни спостереження. Найвиразніші структурні зміни зафіксовано в молодих тварин, починаючи з 30-ї доби спостереження і до 180-ї доби включно. Відтак структурні зміни виявлено в діафізах, обох кісток можна відмітити наявність численних ліній склеювання та порожнини остеокластичної резорбції, що вказує на затримку періостального кісткоутворення. Численні порожні остеоцитарні лакуни, тріщини та щілини, що присутні в цій зоні свідчать про загибель остеоцитів шляхом апоптозу. Протягом експерименту також було виявлено пригнічення росту кістки, про що свідчить значне скорочення чисельності кісткових трабекул під епіфізарним хрящем. Це відбувалося, ймовірно, внаслідок пригнічення процесу гіпертрофії хондроцитів що спричинює припинення мінералізації епіфізарного хряща, затримує проростання судин та порушує формування первинних кісткових трабекул. Так, установлено зникнення зони індиферентного хряща на певних ділянках в епіфізарному хрящі щурів

молодого та зрілого віку на 30-ту добу експерименту. Крім того відзначалось пригніченням гіпертрофії хондроцитів в результаті чого спостерігалось пригнічення формування кісткової тканини та її мінералізації, це може бути реакцією остобластів на зниження рівня глюкози. У дослідженні загоєння перелому у щурів з індукованим діабетом виявлене зниження експресії колагену X-типу, що свідчить про затримку дозрівання та гіпертрофії хондроцитів [143; 144; 145], можливо, це підтверджує гіпотезу про механізм пригнічення формування кісткової тканини в щурів молодого та зрілого віку.

Виявлена в усіх вікових групах резорбція кортексу пояснюється посиленням остеокластогенезу, яке виникає при гіперглікемії, внаслідок зниження рівня інсуліну. Відомо, що інсулін сприяє формуванню кісткової тканини шляхом посилення проліферації остеобластів та зниження частоти їх апоптоза, в свою чергу, підвищення рівня глюкози може порушувати процес мінералізації шляхом дії на остеобласти, внаслідок пригнічення їх проліферації а також зниженням активності лужної фосфатази [146; 147; 148]. Крім того, у щурів молодого віку зафіксовано підвищення кількості жовтого кісткового мозку у міжтрабекулярних просторах, що свідчить про зниження кількості мезенхімальних клітин, та вірогідну їх диференціацію замість остеобластів в адипоцити. Виявлене поступове стоншення кортикального шару, особливо у щурів старечого віку є суттєвим з огляду на те, що клінічно встановлено зростання ризику перелому шийки стегнової кістки у індивідів з цукровим діабетом I типу. Тобто посилена резорбція кортикального шару може спричиняти підвищення ризику переломів, особливо у людей похилого віку.

Таким чином хронічна гіперглікемія викликає пригнічення формування губчастої кісткової тканини стегнової та плечової кісток та стоншення кортексу, внаслідок резорбції, особливо в щурів молодого віку, що може бути причиною формування низького піку кісткової маси та підвищувати ризик виникнення остеопорозу та переломів у майбутньому. У даному контексті можна погодитися з думкою J. Starup-Linde, який вважає, що оцінка трабекулярного компартменту

кісток може стати одним із найбільш цінних предикторів переломів у пацієнтів із ЦД, адже за нашими даними порушення в трабекулярній тканині, зокрема довгих трубчастих кісток, з'являються раніше і мають більший ступінь вираженості, порівняно з порушеннями в мікроархітектурі кортикальної тканини [149; 150].

У процесі імуногістохімічного аналізу ми спостерігали високий рівень експресії остеопонтину як в діяфізі, так і в епіфізах досліджуваних кісток у щурів молодого віку. У подальшому інтенсивність прояву лише зменшувалась у щурів зрілого віку, та найменший прояв був у щурів старечого віку. Показники експресії RANKL навпаки – найменший показник прояву спостерігався в щурів молодого віку з подальшим посиленням у щурів зрілого та старечого віку.

Проаналізувавши остеокластичну та остеобластичну активність в трьох вікових групах щурів можна зробити висновок, що підвищена кісткова резорбція спостерігається здебільшого в щурів старечого віку, найменш виражена експресія притаманна щурам молодого віку. Визначено, що в умовах індукованої гіперглікемії в щурів різних вікових груп експресія остеопонтину та RANKL відмічається як у діяфізі, так і в епіфізі трубчастих кісток, проте з різною інтенсивністю і з переважанням у трабекулярній кістковій тканині.

Різні механізми впливають на процеси ремоделювання кісткової тканини. До них можна віднести фактори росту і гормони (ПТГ, естрогени, ГК), здатні стимулювати чи пригнічувати експресію RANKL і тим самим активувати або пригнічувати кістковий метаболізм [151; 152; 153]. Підвищена кісткова резорбція та зниження формування КТ у щурів старечого віку може бути спричинено дефіцитом естрогенів та порушенням експресії ПТГ та ГК. Адже ці гормони мають значний вплив на процеси ремоделювання кістки. За дефіциту остеопонтину в щурів молодого та зрілого віку спостерігали сповільнення утворення КТ та прискорення втрати кісткової маси.

Ультрамiкроскопія виявила структурні зміни на 30-ту добу експерименту в клітинах кісткової тканини молодих щурів. Однак виявлені двоядерні остеобласти, можливо, вказують на адаптаційну реакцію клітин у відповідь на дію

підвищеного рівня глюкози. Було встановлено, що гіперглікемія спричинює більш виражені структурні зміни в остеобластах, пригнічення клітин КТ, їх диференціацію та порушення мінералізації кісткового матриксу.

Відомо, що остеобласти мають інсулін – специфічні рецептори, через це інсулін безпосередньо впливає на їх функціонування – диференціацію, синтез колагену та ін. [154, 155, 156]. Згідно з недавніми дослідженнями одним із важливих факторів впливу на клітини кісткової тканини за умов гіперглікемії є склеростин, який секретується остеоцитами та пригнічує диференціацію остеобластів. Експериментально на щурах встановлено, що підвищення рівня глюкози стимулює експресію склеростину в остеоцитах [157; 158; 159]. Клінічно спостерігається підвищення рівня склеростину лише в молодих пацієнтів, а в старих цього не виявлено [160; 161; 162], що може свідчити про порушення функціонування остеобластів.

У проведеному нами дослідженні було виявлено виражену реакцію остеобластів у молодих щурів на 60-ту добу експерименту у вигляді значної гіпертрофії гЕПС, деструкції органел у цитоплазмі та набухання мітохондрій. Водночас компенсаторна реакція у вигляді гіпертрофії гЕПС спостерігалася в щурів зрілого та старечого віку вже на 30-ту добу експерименту, а в молодих пізніше – на 60-ту добу. Особливістю є те, що на всі терміни спостереження в щурів молодого та зрілого віку гіперфункція остеобластів проявлялася у вигляді гіпертрофії гЕПС, а в щурів старечого віку – зміною структури ядра – появою ядерця та зміною форми ядра для збільшення периметру ядерної мембрани. Також у щурів зрілого віку на 60-ту добу встановлено формування залишкових тілець, що також є ознакою компенсаторної реакції.

В експериментальному дослідженні доведено, що за умов дії гіперглікемії відбувається скорочення кількості остеоцитів вже на 30-ту добу експерименту. Крім того, встановлено, що лакуни остеоцитів втрачають округлу форму вже через 30 діб після початку моделювання діабету. Нами також встановлено загибель остеоцитів у щурів усіх вікових груп, починаючи з 30-ї доби дослідження

в молодих тварин і активним прогресуванням аж до 180-ї доби в усіх вікових групах. Крім того, виявлено зміну форми лакун у щурів старечого віку на 60-ту, 90-ту та 150-ту добу експерименту.

Таким чином, за умов гіперглікемії вже на 30-ту добу експерименту виникає порушення остеобластів та деструктивні зміни в остеоцитах у молодих щурів, а на 60-ту добу – в щурів зрілого та старечого віку в усіх вікових групах у остеобластах виявлено компенсаторну реакцію у вигляді гіпертрофії гЕПС, однак утворення деструктивних порожнин у цитоплазмі на 60-ту добу експерименту свідчить про розвиток деструктивних змін.

З віком відбувається зміна рівня мінералізації кісткової тканини, цей процес є наслідком зміни вмісту органічних речовин та вологи в кістках скелета [163; 164; 165; 166]. Аналізуючи хімічний склад кісток щурів серії контролю усіх вікових категорій, було встановлено, що концентрація макро- та мікроелементів мала чітку тенденцію до накопичення в щурів молодого віку, повільне та поступове зменшення у тварин зрілого віку і досить активне виведення хімічних елементів у щурів старечого віку. Кількісне співвідношення вмісту Са в діафізі стегнової кістки щурів зрілого віку на 30-ту добу спостереження становило $(2676,30 \pm 0,19)$ мкг/г ($p < 0,05$), на 180-ту добу цей показник дещо знизився – до $(2507,32 \pm 0,63)$ мкг/г ($p < 0,001$). Загальний показник зменшення вмісту Са в діафізі стегнової кістки становив 6,7 %. Кількісні показники вказаного елемента в діафізі плечової кістки становили $(2445,26 \pm 0,17)$ мкг/г на початку експерименту та $(2284,34 \pm 0,68)$ мкг/г – ш у кінці, відсоток зміни склав 7 %. Аналогічні показники можна відмітити й у зміні відсоткового вмісту Р у діафізах досліджуваних кісток: стегнова кістка – $(869,40 \pm 5,88)$ мкг/г на початку експерименту та $(829,32 \pm 10,94)$ мкг/г – у кінці, плечова кістка – $(796,18 \pm 3,85)$ мкг/г та $(760,58 \pm 6,55)$ мкг/г, відсоток зміни в обох досліджуваних кістках склав 5 %. Дещо вищий відсоток зміни відзначається у епіфізах досліджуваних кісток, а саме: вміст Са у стегновій кістці зменшився на 8,6 %, плечовій – на 8,8 %, вміст Р – на 6 % в обох досліджуваних кістках. Проте в щурів старечого віку спостерігається більш

інтенсивне виведення досліджуваних елементів, а саме: Са в діафізах зменшився на 8,4 % та 9 %, Р – на 3 % та 3,1 %, в епіфізах цей показник був значно вищим: Са – 9,3 % та 10 %, Р – 4 % в обох кістках. У віковому аспекті була відмічена також різниця вмісту мікроелементів Cu та Zn, найбільший відсоток втрати яких спостерігається також у щурів старечого віку: Cu у діафізах – на 1,7 % та 1,8 %, в епіфізах на 2,4 та 2,6 %; Zn у діафізах обох кісток – на 1 %, в епіфізах – 1,6 % та 1,7 % відповідно. Таким чином, при дослідженні макро- та мікроелементів у щурів серії контролю в діафізах обох кісток було визначено поступове зниження вмісту хімічних елементів зі збільшенням терміну дії гіперглікемії в усіх вікових групах, із найбільшим проявом у щурів старечого віку. Вивчення хімічного складу кісток показало певні відмінності перерозподілу води в різних частинах трубчастої кістки. Відзначалася значна втрата води у кістках із віком у щурів зрілого та старечого віку. Відсоток втрати води в діафізах обох кісток щурів зрілого віку становить 7 %, в епіфізах – 8,2 %. У щурів старечого віку показник зміни в діафізі стегнової кістки становив 7,2 % та 6,6 %, в епіфізі цей показник знизився на 9 % та 9,3 % відповідно. У підсумку необхідно відзначити, що вищезазначені явища посилюються зі збільшенням терміну спостереження в усіх вікових групах.

У кістках щурів молодого віку на 30-ту добу експерименту спостерігається зменшення мінеральної насиченості. Показники вмісту Са в діафізі стегнової та плечової кісток виявилися дещо меншими у тварин експериментальної серії порівняно з контролем на 2,3 % ($p < 0,001$) та 2,5 % ($p < 0,001$), Р – на 0,3 % ($p < 0,001$) між всіма показниками. Відповідні зміни показників можна спостерігати й у різниці Cu та Zn в обох кістках: Cu зменшився в діафізах на 5,9 % та 6,6 %, в епіфізах – на 5,6 % та 6,1 %, Zn – на 0,7 %, 0,6 % та 0,4 %, 0,5 % відповідно. Рівень Са та Р прогресивно знижувався протягом всього експерименту на 60-ту добу: Са в діафізі – на 6,1 % ($p < 0,001$) і 5,8 % ($p < 0,001$) та в епіфізі – на 6,5 % ($p < 0,001$) і 6,7 % ($p < 0,001$); Р – 2,5 % ($p < 0,001$) і 2,6 % ($p < 0,001$) та 5 % ($p < 0,001$) і 5,6 % ($p < 0,001$) відповідно. Уміст мікроелементів змінювався подібно до вищезазначених. Показники зміни Cu та Zn зменшилися: Cu – на 7,6 % ($p < 0,001$)

і 8,5 % ($p < 0,001$) та 7,4 % ($p < 0,001$) і 8,1 % ($p < 0,001$); Zn – на 1,6 % в діафізах обох кісток та 1,1 % і 1,2 % – в епіфізах досліджуваних кісток. Проте вже на 180-ту добу показники значно відрізнялися порівняно з контролем: вміст Са в діафізі обох кісток знизився – на 36,8 %, у дистальному епіфізі – на 44,2 % та 45,3 % відповідно. Зміна рівня Р в діафізах обох кісток становила 19 % та 19,4 %, в епіфізах – 25,7 % і 24,8 %. Відсоткове співвідношення Zn у досліджуваних кістках достовірністю показників не відзначалося.

У щурів зрілого віку на 30-ту добу експерименту показники вмісту макроелементів у діафізі як стегнової, так і плечової кісток виявилися значно меншими у тварин експериментальної серії порівняно з контролем. Вміст Са був меншим порівняно з контролем на 4,1 % ($p < 0,05$) та 4 % ($p < 0,05$), Р – 2,1 % ($p < 0,001$) та 3,6 % ($p < 0,001$). Середні показники вмісту основних макроелементів в епіфізах обох кісток становили: Са – 3,7 % ($p < 0,05$) та 4,5 % ($p < 0,05$), Р – 15,8 % ($p < 0,001$) та 20 % ($p < 0,001$) відповідно. У тварин цієї групи спостерігається зменшення вологи у кістках порівняно зі щурами молодого віку. Вміст мікроелементів у діафізі та епіфізі обох кісток відповідав таким показникам: Zn у стегновій кістці становив $(6,94 \pm 0,33)$ мкг/г, у плечовій – $(6,19 \pm 0,33)$ мкг/г, Си – $(55,28 \pm 0,20)$ мкг/г ($p < 0,001$), $(52,16 \pm 0,46)$ мкг/г ($p < 0,001$), відмінність показників становила 2 % ($p < 0,001$) та 3,1 % ($p < 0,001$), в епіфізі стегнової кістки Си становив $(54,87 \pm 1,13)$ мкг/г ($p < 0,001$), плечової – $(53,41 \pm 0,88)$ мкг/г ($p < 0,001$), різниця порівняно з контролем 6,1 % ($p < 0,001$) та 6 % ($p < 0,001$), Zn – $(7,68 \pm 0,28)$ мкг/г та $(6,92 \pm 0,36)$ мкг/г. На 180-ту добу експерименту загальний показник зміни склав: Са –15,3 % ($p < 0,001$) та 15 % ($p < 0,001$), Р – 8,3 % ($p < 0,001$) та 8 % ($p < 0,001$) відповідно. У дистальному епіфізі загальний відсоток зміни Са – 17 % ($p < 0,001$) в обох досліджуваних кістках, Р – 10,3 % ($p < 0,001$) та 10,5 % ($p < 0,001$). Вміст Си знизився на 7 % ($p < 0,001$) в обох кістках, Zn – на 3,5 % та 3,3%, H₂O – на 14% ($p < 0,001$) у обох кістках.

Уміст мінеральних речовин у кістках має виражену вікову залежність та відрізняється залежно від типу кісткової тканини [167; 168; 169]. Відтак більший

рівень мінералізації характерний для діафіза, який має пластинчасту компактну будову і дещо менший рівень мінералізації, спостерігається в епіфізах досліджуваних кісток. У щурів старечого віку показник зміни Са у діафізах досліджуваних кісток становив 4,5 % та 7,3 %, Р – 2 % та 0,3 %, в епіфізах обох кісток Са в сегновій кістці – 9,2 % ($p < 0,001$), у плечовій кістці – 5,3 % ($p < 0,05$), Р – 2,9 % ($p < 0,001$) та 3,1 % ($p < 0,05$). У тварин старечого віку спостерігається зменшення вмісту води в кістках. Показник втрати води в діафізах досліджуваних кісток становив 7,2 % ($p < 0,001$) та 4 % ($p < 0,001$), епіфізах 3,1 % ($p < 0,001$) та 8 % ($p < 0,05$). Зі збільшенням терміну гіперглікемії вміст макроелементів у кістках продовжував активно знижуватися та на 180-ту добу загальний відсоток зміни показників у діафізі становив: Са – 10 % ($p < 0,001$), Р – 5,3 % ($p < 0,001$). Аналогічні показники зміни вмісту основних макроелементів в епіфізах цих кісток становили: Са 15 % ($p < 0,001$) та 11 % ($p < 0,001$), Р – 7,3 % ($p < 0,001$) в обох досліджуваних кістках. Втрата вологи в діафізах становила 12,1 % ($p < 0,001$) та 9 % ($p < 0,001$), у епіфізах – 9 % ($p < 0,001$) та 15,6 % ($p < 0,001$). Зміна вмісту мікроелементів у діафізах та епіфізах відповідає таким показникам: Си у діафізі стегнової кістки знизився на 3 % ($p < 0,05$), плечової кістки – 2,7 % ($p < 0,05$), Zn – на 4,7 % та 4,3 %, в епіфізах Си знизився на – 4,4 % ($p < 0,001$) в обох кістках, Zn – на 4,3 % та 7 %, що є значно менше за показники щурів молодого та зрілого віку.

Дані, які ми одержали, підтверджують факт впливу віку щурів на вміст мінеральних речовин у кістках. Водночас значний вплив на рівень вказаних показників у щурів експериментальної серії має гіперглікемія та термін її дії на кісткову тканину, сила дії якої значно перевищує віковий фактор.

Оскільки механічні властивості кісток визначаються сукупністю взаємоз'язаних факторів співвідношенням трабекулярного і кортикального компартментів [170; 171; 172; 173], структурних особливостей діафіза, то за умов гіперглікемії дослідження цих факторів має істотне значення [174; 175; 176].

Механічні властивості досліджуваних кісток щурів молодого віку в динаміці експерименту змінювалися наступним чином. Починаючи з 30 до 180 доби експерименту тривкість діафіза стегнової кістки за показником навантаження при стисненні, у тварин експериментальної серії зменшилася на 18 % ($p < 0,001$) в обох кістках. Водночас середня величина зазначеного показника дистального епіфізу знизилась на 23 % ($p < 0,001$) та 24 % ($p < 0,001$). Аналогічні показники діафіза щурів зрілого віку знизилися на 11 % ($p < 0,001$) та 18 % ($p < 0,001$), дистального епіфіза – на 15 % ($p < 0,001$), та 16 % ($p < 0,001$); у щурів старечого віку – на 13 % ($p < 0,001$), 14 % ($p < 0,001$) та дистального епіфізу - на 14 % ($p < 0,001$), 16 % ($p < 0,001$) відповідно. Різниця між середніми значеннями показника межі міцності при стисненні діафіза стегнової кістки в щурів молодого віку становила 29 % ($p < 0,001$), плечової кістки – 25 % ($p < 0,001$), у щурів зрілого віку відсоток зміни склав 11 % ($p < 0,001$) та 10 % ($p < 0,001$), у щурів старечого віку цей показник становив 8,6 % ($p < 0,001$) у обох досліджуваних кістках. Аналогічні зміни відбувались і в епіфізах досліджуваних кісток упродовж усього експерименту. Межа міцності на стиснення дистального епіфіза стегнової кістки щурів молодого віку знизилася на 32 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 35 % ($p < 0,001$), у щурів зрілого віку – на 6,2 % ($p < 0,001$) та 8 % ($p < 0,001$), у щурів старечого віку – на 10 % ($p < 0,001$) та 11,4 % ($p < 0,05$) відповідно.

Під час дослідження механічних властивостей стегнових та плечових кісток щурів молодого віку спостерігається значне зменшення міцнісних властивостей. У щурів зрілого та старечого віку спостерігається поступове, повільне зниження показників мінеральної насиченості досліджуваних кісток на тлі зменшення мінеральної насиченості кісткової тканини. Достовірне зниження показників мінеральної щільності кісткової тканини у цей період спостерігається як у кортикальній, так і в трабекулярній кістці. Зазначеним змінам механічних характеристик відповідає поступове зниження процесу мінералізації кісток.

Таким чином, проведені дослідження доводять, що хронічна гіперглікемія спричинює затримку росту, формування, мінеральної насиченості та зниження

механічних якостей довгих трубчастих кісток. Найбільш уразливий до збільшення глюкози скелет лабораторних щурів молодого віку. Можливо, що кістки цієї вікової групи перебувають в стані росту та розвитку.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено комплексне дослідження довгих трубчастих кісток скелета присвячене визначенню морфологічних особливостей остеогенезу за умов експериментальної хронічної гіперглікемії у віковому аспекті.

1. Ріст та формування довгих трубчастих кісток щурів молодого віку у фізіологічному стані характеризується прогресивним збільшенням величин всіх досліджуваних показників а саме: діаметра остеонів та їх каналів, об'єму загальної спонгіози, ширини епіфізарного хряща та ширини кісткових трабекул. Хімічний склад кісток щурів молодого віку характеризується поступовим збільшенням вмісту Ca, P, Zn та Cu; у щурів зрілого віку та старечого вміст зазначених хімічних елементів поступово знижувався. Максимальні значення тривкісних показників кісток відзначаються у щурів зрілого віку, а найменші – у щурів молодого віку.

2. Хронічна гіперглікемія спричиняє порушення росту кісток щурів усіх вікових груп. При цьому у щурів молодого та зрілого віку достовірні зміни виникають вже на 30 добу спостереження. Так у щурів молодого віку максимальна довжина стегнової й плечової кісток до кінця експерименту збільшилась – на 41 % ($p < 0,001$) порівняно з контролем, у щурів зрілого віку довжина стегнової кістки збільшилась на 8,8 % ($p < 0,001$), плечової кістки – на 9,1 % ($p < 0,001$), у щурів старечої групи – на 6,1 % ($p < 0,001$) та 6,2 % ($p < 0,05$) відповідно. У щурів експериментальної серії спостерігається уповільнення процесів апозиційного росту порівняно з контролем. Показники ширини проксимального й дистального епіфізів стегнової кістки були меншими порівняно із контролем в щурів молодого віку – на 8,1 % ($p < 0,05$) та 6,7 %, плечової кістки – на 9,0 % та 9,7 %, в щурів зрілого віку – на 7,7 % та 8,5 % для стегнової кістки та на 11 % та 11,2 % - для плечової кістки, в щурів старечого віку - на 5,3 %, 5 % та 5,3 %, 5,7 % відповідно.

3. Хронічна гіперглікемія призводить до розвитку деструктивних змін кісток щурів усіх вікових груп; найбільші порушення спостерігались у тварин

молодого та старечого віку. Описані зміни проявлялися у сповільненні ремоделювання кісткової тканини, порушенні структури компактної речовини діафіза й будови епіфізарного хряща, зменшенні міцнісних характеристик діафіза. Більш інтенсивні зміни виникають в епіфізах, що свідчить про вищу чутливість трабекулярної кісткової тканини. Морфологічні зміни за умов дії гіперглікемії полягають у відносному зменшенні площі губчастої речовини стегнової кістки в щурів молодого віку на 17,0 % ($p < 0,001$), зрілого віку – на 10 % ($p < 0,05$), старечого віку – на 18,0 % ($p < 0,001$), розширенні остеонів та їх каналів в стегновій кістці щурів молодого віку – на 19 % ($p < 0,001$) та 27 % ($p < 0,001$); в плечовій – на 19,0 % ($p < 0,001$) та 27,0 % ($p < 0,001$), в щурів зрілого віку ці показники знизились у стегновій кістці – на 17,0 % ($p < 0,05$) та 21,0 % ($p < 0,05$), плечовій – на 16,0 % ($p < 0,05$) та 20,0 %, в щурів старечого віку – на 3,2 % і 11,0 % ($p < 0,001$) – в стегновій кістці та – на 3,6 % і 12,0 % ($p < 0,001$) – в плечовій. Найбільша різниця з контролем визначається у будові епіфізарного хряща щурів молодого віку, де під впливом хронічної гіперглікемії спостерігається зменшення майже всіх досліджуваних морфометричних показників.

4. Імуногістохімічне дослідження активності остеогенних клітин в трьох вікових групах щурів свідчить про підвищену кісткову резорбцію в щурів старечого віку, найменш виражена експресія спостерігається в щурів молодого віку. Визначено, що в умовах хронічної гіперглікемії в щурів різних вікових груп експресія остепонтину та Rankl відмічається як в діафізі, так і в епіфізі трубчастих кісток, проте з різною інтенсивністю і з переважанням у трабекулярній кістковій тканині.

5. Результати електронно-мікроскопічного аналізу свідчать, що гіперглікемія викликає пригнічення клітин кісткової тканини та їх диференціації, на що вказує низький рівень розвитку органел у клітинах та порушення мінералізації матриксу внаслідок низької біосинтетичної активності остеобластів та загибелі остеоцитів в усіх вікових групах. Особливістю є те, що в усі терміни спостереження в щурів молодого та зрілого віку порушення остеобластів

проявлялися у вигляді гіпертрофії гЕПС та формуванні залишкових тілець, а в щурів старечої групи - зміною форми та структури ядра, а саме появою додаткових ядерць. Гіперглікемія викликає дегенеративні зміни в клітинах кісткової тканини стегнової та плечової кісток щурів усіх вікових груп починаючи з 30-ї доби спостереження з подальшим їх прогресуванням відповідно збільшення терміну експерименту.

6. Аналіз хімічного складу кісток щурів експериментальної серії свідчить, що концентрація макро- та мікроелементів має чітку тенденцію до зниження. У щурів молодого віку вміст Са в діафізі стегнової кістки був меншим порівняно з контролем на 36 %, у щурів зрілого віку – на 23,5 %, у щурів старечого віку – на 10 %; вміст Р знизився в щурів молодого віку – на 19 %, зрілого – на 5,4 %, старечого – на 5,3 %. Разом з цим спостерігається стрімка втрата води в щурів молодого віку на 27 %, зрілого – на 5,5 %, старечого – на 12 % відповідно.

7. Експериментальне дослідження механічних показників досліджуваних кісток щурів різного віку показало значне зменшення міцнісних властивостей вже з 30-ї доби спостереження. Відтак межа міцності при стисненні діафіза стегнової кістки в щурів молодого віку до кінця експерименту знизилася на 29 %, у щурів зрілого віку – на 11 %, у щурів старечого віку – на 9 %. Відповідні показники епіфіза в щурів молодого віку знизилися – на 32 %, у щурів зрілого віку – на 6,2 %, старечого – на 10 %. Тривала дія гіперглікемії призводить до достовірного зниження механічних показників кісток у всі вікові періоди, проте, найбільші зміни відзначаються у тварин молодого віку. Достовірне зниження механічних показників спостерігається як у кортикальній, так і в трабекулярній кістковій тканині. Зазначеним змінам механічних характеристик відповідає поступове зниження процесу мінералізації кісток.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Спроектовані руйнівні процеси в кістках дають можливість прогнозувати спрямованість та ступінь деструктивних процесів кісткової тканини під впливом хронічної гіперглікемії. Результати дослідження поглиблюють знання щодо особливостей структурної перебудови та змін ростових показників у кістках під впливом хронічної гіперглікемії.

2. Одержані експериментальні дані можуть бути використані в лекційних курсах кафедр нормальної і патологічної анатомії, гістології; навчальних закладах біологічного профілю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Mitchell A, Fall T, Melhus H, Wolk A, Michaëlsson K, Byberg L. Type 2 Diabetes in Relation to Hip Bone Density, Area, and Bone Turnover in Swedish Men and Women: A Cross–Sectional Study. *Calcif Tissue Int.* 2018; 103(5): 501–11.
2. Marin C, Luyten FP, Van der Schueren B, Kerckhofs G, Vandamme K. The Impact of Type 2 Diabetes on Bone Fracture Healing. *Front Endocrinol (Lausanne)*.2018. Jan 24;9:6.
3. Rendina-Ruedy E, Graef JL, Davis MR, Hembree KD, Gimble JM, Clarke SL, et al. Strain differences in the attenuation of bone accrual in a young growing mouse model of insulin resistance. *J Bone Miner Metab.* 2016 Jul;34(4):380-94.
4. Понирко АО, Дмитрук СМ, Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості, мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології.* 2021;2(76). 232-8. DOI: 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238
5. Picke AK, Campbell G, Napoli N, Hofbauer LC, Rauner M. Update on the impact of type 2 diabetes mellitus on bone metabolism and material properties. *Endocr Connect.* 2019;1;8(3): 55-70.
6. Yang J, Chen S, Zong Z, Yang L, Liu D, Bao Q, Du W. The increase in bone resorption in early-stage type I diabetic mice is induced by RANKL secreted by increased bone marrow adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Apr 30;525(2):433-9. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.02.079
7. Schacter GI, Leslie WD. Diabetes and Bone Disease. *Endocrinol Metab Clin N Am.* 2017;46(1):63-85.
8. Wongdee K, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Derangement of calcium metabolism in diabetes mellitus: negative outcome from the synergy between impaired bone turnover and intestinal calcium absorption. *J Physiol Sci.* 2017 Jan;67(1):71-81.

9. Wu M, Ai W, Chen L, Zhao S, Liu E. Bradykinin receptors and EphB2/EphrinB2 pathway in response to high glucose–induced osteoblast dysfunction and hyperglycemia-induced bone deterioration in mice. *Int J Mol Med*. 2016 Mar;37(3):565-74.
10. Ponyrko AO, Bumeister VI, Dmytruk SM, Yarmolenko OS, Teslyk TP, Riabenko TV, et al. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.I):2052-59. DOI: 10.36740/WLek202109105
11. Kitamura KI, Andoh T, Okesaku W, Tazaki Y, Ogai K, Sugitani K, et al. Effects of hyperglycemia on bone metabolism and bone matrix in goldfish scales. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2017 Jan;203:152-8.
12. Ma R, Wang L, Zhao B, Liu C, Liu H, Zhu R, et al. Diabetes Perturbs Bone Microarchitecture and Bone Strength through Regulation of Sema3A/IGF–1/ β –Catenin in Rats. *Cell Physiol Biochem*. 2017;41(1):55-66.
13. Iki M, Fujita Y, Kouda K, Yura A, Tachiki T, Tamaki J, et al. Hyperglycemia is associated with increased bone mineral density and decreased trabecular bone score in elderly Japanese men: The Fujiwara–kyo osteoporosis risk in men (FORMEN) study. *Bone*. 2017 Dec;105:18-25.
14. Shah VN, Carpenter RD, Ferguson VL, Schwartz AV. Bone health in type 1 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2018;25(4):231-6.
15. Shah VN, Joshee P, Sippl R, Pyle L, Vigers T, Carpenter RD, et al. Type 1 diabetes onset at young age is associated with compromised bone quality. *Bone*. 2019 Jun;123:260-4.
16. Heather B. Hunt, Jared C. Pearl, David R. Diaz, Karen B. King, Eve Donnelly. Bone tissue collagen maturity and mineral content increase with sustained hyperglycemia in the KK-Ay murine model of type 2 diabetes. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2018 May;33(5):921-9.

17. Ajami E, Bell S, Liddell RS, Davies JE. Early bone anchorage to micro- and nanotopographically complex implant surfaces in hyperglycemia. *Acta Biomater.* 2016 Jul 15;39:169-79.
18. Zhukouskaya VV, Eller-Vainicher C, Shepelkevich AP, Dydysenko Y, Cairoli E, Chiodini I. Bone health in type 1 diabetes: focus on evaluation and treatment in clinical practice. *J Endocrinol Invest.* 2015 Sep;38(9):941-50.
19. Halper-Stromberg E, Gallo T, Champakanath A, Taki I, Rewers M, Snell-Bergeon J, et al. Bone Mineral Density across the Lifespan in Patients with Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 Mar 1;105(3):746-53. DOI: 10.1210/clinem/dgz153
20. Пальчикова НА, В Г Селятицкая ВГ, Шорин ЮП. Количественная оценка чувствительности экспериментальных животных к диабетогенному действию аллоксана. *Проблемы эндокринологии.* 1987;33(4):65-68.
21. Acevedo C, Sylvia M, Schaible E, Graham JL, Stanhope KL, Metz LN, et al. Contributions of Material Properties and Structure to Increased Bone Fragility for a Given Bone Mass in the UCD-T2DM Rat Model of Type 2 Diabetes. *J Bone Miner Res.* 2018 Jun;33(6):1066-75.
22. Сыкал АА, Дедух НВ. Морфология костной ткани у животных с сахарным диабетом 2 типа. *Вісник проблем біології та медицини.* 2015;4. №2(125):301-5.
23. de Mello-Sampayo C, Agripino AA, Stilwell D, Vidal B, Fernando AL, Silva-Lima B, et al. Chronic Hyperglycemia Modulates Rat Osteoporotic Cortical Bone Microarchitecture into Less Fragile Structures. *Int J Endocrinol.* 2017;2017:4603247.
24. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep.* 2015 Oct;13(5):327-35.
25. Антощук РЯ. Цукровий діабет: етіологія захворювання. *Молодий вчений.* 2016;6(33):277-9.

26. Щубелка ХМ, Олексик О.Т, Ганич Т.М. Стан опорно-рухового апарату у хворих на цукровий діабет. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2017;13(6):450-4.
27. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and its effect on bone and fracture healing. *Curr Osteoporos Rep*. 2015;13(5):327-335.
28. Baleanu F, Bergmann P, Hambye AS, Dekelver C, Iconaru L, Cappelle SI, et al. Assessment of bone quality with trabecular bone score in type 2 diabetes mellitus: a study from the frisbee cohort. *The international Journal of Clinical Practice*. 2019;73(5):e13347.
29. Murray CE, Coleman CM. Impact of Diabetes Mellitus on Bone Health. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 30;20(19):4873. DOI: 10.3390/ijms20194873
30. Shapiro F, Maguire K, Swami S, Zhu H, Flynn E, Wang J, et al. Histopathology of osteogenesis imperfecta bone. Supramolecular assessment of cells and matrices in the context of woven and lamellar bone formation using light, polarization and ultrastructural microscopy. *Bone Rep*. 2020 Dec 1;14:100734.
31. Reznikov N, Alsheghri AA, Piché N, Gendron M, Desrosiers C, Morozova I, et al. Altered topological blueprint of trabecular bone associates with skeletal pathology in humans. *Bone Rep*. 2020 Apr 28;12:100264.
32. Dole NS, Yee CS, Schurman CA, Dallas SL, Alliston T. Assessment of Osteocytes: Techniques for Studying Morphological and Molecular Changes Associated with Perilacunar/Canalicular Remodeling of the Bone Matrix. *Methods Mol Biol*. 2021;2230:303-23.
33. Taguchi T, Lopez MJ. An overview of de novo bone generation in animal models. *J Orthop Res*. 2021 Jan;39(1):7-21.
34. Hernandez–Becerra E, Londoño–Restrepo SM, Hernández-Urbiola MI, Jimenez–Mendoza D, Aguilera–Barreiro MLÁ, Perez-Torrero E, et al. Determination of basal bone mineral density in the femur bones of male and female Wistar rats. *Lab Anim*. 2021 Feb;55(1):30-42

35. Hernández-Becerra E, Jiménez-Mendoza D, Mutis-Gonzalez N, Pineda-Gomez P, Rojas-Molina I, Rodríguez-García ME. Calcium Deficiency in Diet Decreases the Magnesium Content in Bone and Affects Femur Physicochemical Properties in Growing Rats. *Biol Trace Elem Res*. 2020 Sep;197(1):224-32.
36. Namhong S, Wongdee K, Suntornsaratoon P, Teerapornpuntakit J, Hemstapat R, Charoenphandhu N. Knee osteoarthritis in young growing rats is associated with widespread osteopenia and impaired bone mineralization. *Sci Rep*. 2020 Sep 15;10(1):15079.
37. Kenkre JS, Bassett J. The bone remodelling cycle. *Ann Clin Biochem*. 2018 May;55(3):308-327.
38. Scotta AB, Taurozzi AJ, Hughes N, Pedersen DD, Kontopoulos I, Mackie M, et al. Comparing biological and pathological factors affecting osteocalcin concentrations in archaeological skeletal remains. *Journal of Archaeological Science: Reports*. 2020;34:102573
39. Смирнов АВ, Румянцев АС. Строение и функции костной ткани в норме и при патологии Сообщение I. *Нефрология*. 2014;18(6):9-25.
40. Смирнов АВ, Румянцев АС. Строение и функции костной ткани в норме и при патологии. Сообщение II. *Нефрология*. 2015;19(1):8-17.
41. Левченко ОО. Основні механізми ремоделювання кісткової тканини. *Дерматологія та венерологія*. 2016;2(72):5-12.
42. Рябенко ТВ. Сучасні аспекти репаративної регенерації кісткової тканини та аналіз показників кісткового метаболізму. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020;5(25):89-97.
43. Міністерство охорони здоров'я України. Доступно:<https://moz.gov.ua/article/health/vsesvitnij-den-borotbi-z-diabetom-scho-treba-znati-pro-hvorobu>.
44. Аврунин АС, Паршин ЛК, Аболин АБ. Взаимосвязь морфофункциональных изменений на разных уровнях иерархической организации кортикальной кости при старении. *Морфология*. 2006;129(3):22-9.

45. Аврунин АС, Тихилов РМ. Остеоцитарное ремоделирование костной ткани: история вопроса, морфологические маркеры. *Морфология*. 2011;№139(1):86-94.
46. Коршунова ЕЮ, Белохвостикова ТС, Дмитриева ЛА. Иммунологический контроль гомеостаза костной ткани. *Политравма*. 2011;1:82-85.
47. Dirckx N, Moorer MC, Clemens TL, Riddle RC. The role of osteoblasts in energy homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*. 2019 Nov;15(11):651-65.
48. Саркисов ДС, Перов ЮЛ. Микроскопическая техника. Москва: Медицина; 1996. 544 с.
49. Яковенчук НМ. Клітинно-молекулярні взаємодії на межі суглобового хряща та субхондральної кістки. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2019;4:50-8.
50. Isojima T, Sims NA. Cortical bone development, maintenance and porosity: genetic alterations in humans and mice influencing chondrocytes, osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. *Cell Mol Life Sci*. 2021 Aug;78(15):5755-5773.
51. Li Y, Tseng WJ, de Bakker CMJ, Zhao H, Chung R, Liu XS. Peak trabecular bone microstructure predicts rate of estrogen-deficiency-induced bone loss in rats. *Bone*. 2021 Apr;145:115862.
52. Ковешников ВГ, Абакаром МХ, Лузин ВИ. Скелетные ткани: хрящевая ткань, костная ткань. Луганск: Изд-во Луганского медуниверситета; 2000. 154 с.
53. Дедух НВ, Панков ЯЕ. Скелетные ткани. Руководство по гистологии. Москва: СпецЛит; 2001. Т.1; с.284-327.
54. Аникин ЮМ, Колесников ЛЛ. Построение и свойства костных структур. Москва: ММИСИ; 1992. 180 с.
55. Бензар ІМ, Волошин ВД, Федонюк ЯІ. Структурна організація і перебудова кісткової тканини. *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина»*. 1999;9:17-21.
56. Понирко АО, Теслик ТП, Рябенко ТВ. Структурно-функціональні зміни остеобластів за умов дії хронічної гіперглікемії. *Нотатки сучасної біології*.

Notes in Current Biology. 2021;1(1):85-92.
DOI:<https://doi.org/10.29038/NCBio.21.1.85-92>

57. Камилов ФХ, Фаршатова ЕР, Еникеев ДА. Клеточно-молекулярные механизмы ремоделирования костной ткани и ее регуляция. 2014. *Фундаментальные исследования.* 2014;7(4):836-42.
58. Яковенчук НМ. Експресія металлопротеїнази–1 в суглобовому хрящу та субхондральній кістці в умовах остеоартрозу та остеопорозу (експериментально–клінічне дослідження). *Вісник проблем біології і медицини.* 2019;3(152):319-24.
59. Bahtiri E, Islami H, Rexhepi S, Qorraj-Bytyqi H, Thaçi K, Thaçi S, et al. Relationship of homocysteine levels with lumbar spine and femur neck BMD in postmenopausal women. *Acta Reumatol Port.* 2015 Oct-Dec;40(4):355-62.
60. Левченко ОО. Основні механізми ремоделювання кісткової тканини. *Дерматологія та венерологія.* 2016;2(72):5-11.
61. Бутолин ЕГ, Вяткин ВА, Данилова ОВ, Иванов ВГ. Изменение содержания минеральных веществ в костной ткани у крыс с экспериментальным диабетом. *Вестник Удмуртского университета.* 2017;27(3):332-7.
62. Щубелка ХМ, Олексик ОТ, Ганич ТМ. Стан опорно-рухового апарату у хворих на цукровий діабет. *Міжнародний ендокринологічний журнал.* 2017;13(6):450-54.
63. Chen H, Senda T, Kubo KY. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis. *Med Mol Morphol.* 2015;48(2):61-8.
64. Yadav S, Porwal K, Sinha RA, Chattopadhyay N, Gupta SK. Moderate/subclinical calcium deficiency attenuates trabecular mass, microarchitecture and bone growth in growing rats. *Biochem Biophys Res.* 2021 May 27;26:101033.
65. Zaretsky J, Griess–Fishheimer S, Carmi A, Travinsky Shmul T, Ofer L, Sinai T, et al. Ultra-processed food targets bone quality via endochondral ossification. *Bone Res.* 2021 Feb 26;9(1):14.

66. Григор'єва НВ, Поворознюк ВВ, Гопкалова ІВ, Орлик ТВ. Вікові та статеві особливості показників мінеральної щільності кісткової тканини щурів. *Фізіол. Журнал*. 2017;63(1):26-32.
67. Лукьянцева ГВ, Лузин ВИ. Гистологическое строение середины диафиза плечевой кости при нанесении дефекта большеберцовой кости на фоне введения натрия бензоата. *Вісник морфології*. 2015;1(21):87-91.
68. Шадымов АБ, Фоминых СА, Сеченев ЕИ, Воронкин КИ. К вопросу об идентификации пола по костям скелета и роли микроэлементов как основного маркера. *Вестник судебной медицины*. 2016;3(5):46-48.
69. Schacter GI, Leslie WD. Diabetes and Bone Disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2017 Mar;46(1):63-85.
70. Yau M, Robinson C, Sperling MA. Diabetes mellitus and bone disorders. In: Zaidi M, ed. *Encyclopedia of bone biology*. San Diego: Elsevier Science Publishing Co Inc. 2020:10-22.
71. Schacter GI, Leslie WD. Diabetes and Bone Disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2017 Mar;46(1):63-85.
72. Murray CE, Coleman CM. Impact of Diabetes Mellitus on Bone Health. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 30;20(19):4873.
73. Dudchenko YS, Maksymova OS, Pikaliuk VS, Muravskyi DV, Kyptenko LI, Tkach GF. Morphological Characteristics and Correction of Long Tubular Bone Regeneration under Chronic Hyperglycemia Influence. *Anal Cell Pathol (Amst)*. 2020 Apr 6;2020:5472841.
74. Бабенко АЮ, Никитин ВС, Каронова ТЛ. Диабет и кость. Фокус на ингибиторы ДПП-4. *Медицинский совет*. 2015;17:108-13.
75. Veiby NCBV, Simeunovic A, Heier M, Brunborg C, Saddique N, Moe MC, et al. Retinal venular oxygen saturation is associated with non-proliferative diabetic retinopathy in young patients with type 1 diabetes. *Acta Ophthalmol*. 2021 Oct 20. DOI: 10.1111/aos.15018

76. Fajardo RJ. Is Diabetic Skeletal Fragility Associated with Microvascular Complications in Bone? *Curr Osteoporos Rep.* 2017 Feb;15(1):1–8.
77. Frantsiyants EM, Surikova EI, Kaplieva IV, Bandovkina VA, Neskubina IV, Sheiko EA, et al. Diabetes mellitus and cancer: a system of insulin-like growth factors. *Probl Endokrinol (Mosk).* 2021 Sep 10;67(5):34-42. DOI: 10.14341/probl12741.
78. Dongare-Bhor S, Lohiya N, Maheshwari A, Ekbote V, Chiplonkar S, Padidela R, et al. Muscle and bone parameters in underprivileged Indian children and adolescents with T1DM. *Bone.* 2020 Jan;130:115074.
79. Verroken C, Zmierczak HG, Goemaere S, Kaufman JM, Lapauw B. Insulin Resistance Is Associated With Smaller Cortical Bone Size in Nondiabetic Men at the Age of Peak Bone Mass. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017. Jun 1;102(6):1807-15.
80. Burr D, Allen M. Basic and Applied Bone Biology. 2nd Edition. *Academic Press is an imprint of Elsevier.* 2019. 454 p.
81. de Oliveira GJPL, Basso TLD, Fontanari LA, Faloni APS, Marcantonio É Júnior, Orrico SRP. Glycemic control protects against trabecular bone microarchitectural damage in a juvenile male rat model of streptozotocin–induced diabetes. *Endocr Res.* 2017 Aug;42(3):171-179.
82. Kanazawa I. Interaction between bone and glucose metabolism [Review]. *Endocr J.* 2017 Nov 29;64(11):1043-1053.
83. Hygum K, Harsløf T, Jørgensen NR, Rungby J, Pedersen SB, Langdahl BL. Bone resorption is unchanged by liraglutide in type 2 diabetes patients: A randomised controlled trial. *Bone.* 2020 Mar;132:115197.
84. Picke AK, Campbell G, Napoli N, Hofbauer LC, Rauner M. Update on the impact of type 2 diabetes mellitus on bone metabolism and material properties. *Endocr Connect.* 2019 Mar 1;8(3):R55-R70.
85. Ohta T, Kimura S, Hirata M, Yamada T, Sugiyama T. Bone morphological analyses in Spontaneously Diabetic Torii (SDT) fatty rats. *J Vet Med Sci.* 2015 Oct;77(10):1327-30.

86. Lecka-Czernik B. Diabetes, bone and glucose-lowering agents: basic biology. *Diabetologia*. 2017 Jul;60(7):1163-69. DOI: 10.1007/s00125-017-4269-4. Epub 2017 Apr 22.
87. Wang L, Li T, Liu J, Wu X, Wang H, Li X, et al. Association between glycosylated hemoglobin A1c and bone biochemical markers in type 2 diabetic postmenopausal women: a cross-sectional study. *BMC Endocr Disord*. 2019 Mar 12;19(1):31.
88. Romero-Díaz C, Duarte-Montero D, Gutiérrez-Romero SA, Mendivil CO. Diabetes and Bone Fragility. *Diabetes Ther*. 2021 Jan;12(1):71-86. DOI: 10.1007/s13300-020-00964-1. Epub 2020 Nov 13.
89. Raisingani M, Preneet B, Kohn B, Yakar S. Skeletal growth and bone mineral acquisition in type 1 diabetic children; abnormalities of the GH/IGF-1 axis. *Growth Hormone & IGF Research*. 2017;34:13-21.
90. Wang JF, Lee MS, Tsai TL, Leiferman EM, Trask DJ, Squire MW, et al. Bone Morphogenetic Protein-6 Attenuates Type 1 Diabetes Mellitus-Associated Bone Loss. *Stem Cells Transl Med*. 2019 Jun;8(6):522-534.
91. Shah VN, DiMeglio LA. Sweet Bones: Diabetes Effects on Bone. *Elsevier Inc. All rights reserved*. 2019:425-441.
92. Моргунов ЛЮ. Гипергликемия критических состояний у пациентов без диабета. *Эндокринология: новости, мнения, обучение*. 2018;7(2):14-25.
93. Ющак ОМ, Волошин МВ, Луків ОА, Волошин ВД, Ющак МВ. Характер структурної реакції довгих кісток безпородних лабораторних щурів самок на вплив експериментальної гіперглікемії. *Вісник наукових досліджень*. 2017;1:141-144.
94. Wang HJ, Giambini H, Chen JW, Wang QS, Hou HG, Luo SM, et al. Diabetes mellitus accelerates the progression of osteoarthritis in streptozotocin-induced diabetic mice by deteriorating bone microarchitecture, bone mineral composition, and bone strength of subchondral bone. *Ann Transl Med*. 2021 May;9(9):768. DOI: 10.21037/atm-20-6797

95. Marin C, Luyten FP, Van der Schueren B, Kerckhofs G, Vandamme K. The Impact of Type 2 Diabetes on Bone Fracture Healing. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018 Jan 24;9:6.
96. Coe LM, Tekalur SA, Shu Y, Baumann MJ, McCabe LR. Bisphosphonate treatment of type I diabetic mice prevents early bone loss but accentuates suppression of bone formation. *J Cell Physiol*. 2015 Aug;230(8):1944-53.
97. Bilha SC, Leustean L, Preda C, Branisteanu DD, Mihalache L, Ungureanu MC. Bone mineral density predictors in long-standing type 1 and type 2 diabetes mellitus. *BMC Endocr Disord*. 2021;6;21(1):156. Doi: 10.1186/s12902-021-00815-5.
98. Abdalrahaman N, McComb C, Foster JE, McLean J, Lindsay RS, McClure J, et al. Deficits in Trabecular Bone Microarchitecture in Young Women With Type 1 Diabetes Mellitus. *J Bone Miner Res*. 2015;30(8):1386-93.
99. Shah VN, Harrall KK, Shah CS, Gallo TL, Joshee P, Snell-Bergeon JK, et al. Bone mineral density at femoral neck and lumbar spine in adults with type 1 diabetes: a meta-analysis and review of the literature. *Osteoporos Int*. 2017 Sep;28(9):2601-10. DOI: 10.1007/s00198-017-4097-x.
100. Xue Y, Baker AL, Nader S, Orlander P, Sanchez AJ, Kellam J, et al. Lumbar Spine Trabecular Bone Score (TBS) Reflects Diminished Bone Quality in Patients With Diabetes Mellitus and Oral Glucocorticoid Therapy. *J Clin Densitom*. 2018 Apr-Jun;21(2):185-192.
101. Botella Martínez S, Varo Cenarruzabeitia N, Escalada San Martín J, Calleja Canelas A. The diabetic paradox: Bone mineral density and fracture in type 2 diabetes. *Endocrinol Nutr*. 2016 Nov;63(9):495-501.
102. Kalaitzoglou E, Popescu I, Bunn RC, Fowlkes JL, Thrailkill KM. Effects of type 1 diabetes on osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts. *Curr Osteoporos Rep*. 2016;14(6):310-19.

103. Abdalrahman N, McComb C, Foster JE et al. Deficits in trabecular bone microarchitecture in young women with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2015;30(8):1386-93.
104. Bonora E, DeFronzo RA. Diabetes complications, comorbidities and related disorders. *Cham: Springer Nature Switzerland*; 2020.724 p.
105. Deeks ED. Denosumab: A Review in Postmenopausal Osteoporosis. *Drugs Aging*. 2018 Feb;35(2):163-173.
106. Zhang J, Chen X, Chen B, Tong L, Zhang Y. Tetrahydroxy stilbene glucoside protected against diabetes-induced osteoporosis in mice with streptozotocin-induced hyperglycemia. *Phytother Res*. 2019 Feb;33(2):442-451.
107. Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Ahmad F, Jamil NA, Ima-Nirwana S. Osteoporosis is associated with metabolic syndrome induced by high-carbohydrate high-fat diet in a rat model. *Biomed Pharmacother*. 2018 Feb;98:191-200.
108. Takeda S, Saito M, Sakai S, Yogo K, Marumo K, Endo K. Eldecalcitol, an Active Vitamin D₃ Derivative, Prevents Trabecular Bone Loss and Bone Fragility in Type I Diabetic Model Rats. *Calcif Tissue Int*. 2017 Oct;101(4):433-444.
109. Carvalho AL, DeMambro VE, Guntur AR, Le P, Nagano K, Baron R, et al. High fat diet attenuates hyperglycemia, body composition changes, and bone loss in male streptozotocin-induced type 1 diabetic mice. *J Cell Physiol*. 2018 Feb;233(2):1585-600.
110. Wongdee K, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Derangement of calcium metabolism in diabetes mellitus: negative outcome from the synergy between impaired bone turnover and intestinal calcium absorption. *J Physiol Sci*. 2017 Jan;67(1):71-81.
111. Verroken C, Zmierzak HG, Goemaere S, Kaufman JM, Lapauw B. Insulin Resistance Is Associated With Smaller Cortical Bone Size in Nondiabetic Men at the Age of Peak Bone Mass. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017 Jun 1;102(6):1807-15.

112. Seref-Ferlengez Z, Maung S, Schaffler MB, Spray DC, Suadicani SO, Thi MM. P2X7R-Panx1 Complex Impairs Bone Mechanosignaling under High Glucose Levels Associated with Type-1 Diabetes. *PLoS One*. 2016 May 9;11(5):e0155107.
113. Rendina-Ruedy E, Graef JL, Davis MR, Hembree KD, Gimble JM, Clarke SL, et al. Strain differences in the attenuation of bone accrual in a young growing mouse model of insulin resistance. *J Bone Miner Metab*. 2016 Jul;34(4):380-94.
114. Сыкал АА. Минеральная плотность костной ткани и риск переломов у больных сахарным диабетом II типа (обзор литературы). *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2015;3:126-32.
115. Gilbert MP, Pratley RE. The impact of diabetes and diabetes medications on bone health. *Endocr Rev*. 2015 Apr;36(2):194-213. DOI: 10.1210/er.2012-1042
116. Ajami E, Bell S, Liddell RS, Davies JE. Early bone anchorage to micro- and nano-topographically complex implant surfaces in hyperglycemia. *Acta Biomater*. 2016 Jul 15;39:169-179.
117. Zhukouskaya VV, Eller-Vainicher C, Shepelkevich AP, Dydysko Y, Cairoli E, Chiodini I. Bone health in type 1 diabetes: focus on evaluation and treatment in clinical practice. *J Endocrinol Invest*. 2015 Sep;38(9):941-50.
118. Siddapur PR, Patil AB, Borde VS. Comparison of Bone Mineral Density, T-Scores and Serum Zinc between Diabetic and Non Diabetic Postmenopausal Women with Osteoporosis. *J Lab Physicians*. 2015;7(1):43-8.
119. Poiana C, Capatina C. Fracture Risk Assessment in Patients With Diabetes Mellitus. *J Clin Densitom*. 2017 Jul-Sep;20(3):432-443. DOI: 10.1016/j.jocd.2017.06.011
120. Ghiraldini B, Conte A, Casarin RC, Casati MZ, Pimentel SP, Cirano FR, et al. Influence of Glycemic Control on Peri-Implant Bone Healing: 12-Month Outcomes of Local Release of Bone-Related Factors and Implant Stabilization in Type 2 Diabetics. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2016;18(4):801-9.

121. Thrailkill KM, Nyman JS, Bunn RC, Uppuganti S, Thompson KL, Lumpkin CK Jr, et al. The impact of SGLT2 inhibitors, compared with insulin, on diabetic bone disease in a mouse model of type 1 diabetes. *Bone*. 2017 Jan;94:141-151.
122. Daniele G, Winnier D, Mari A, Bruder J, Fourcaudot M, Pengou Z, et al. Sclerostin and Insulin Resistance in Prediabetes: Evidence of a Cross Talk Between Bone and Glucose Metabolism. *Diabetes Care*. 2015 Aug;38(8):1509-17.
123. Carnovali M, Luzi L, Banfi G, Mariotti M. Chronic hyperglycemia affects bone metabolism in adult zebrafish scale model. *Endocrine*. 2016 Dec;54(3):808-817.
124. Iyer S, Han L, Ambrogini E, Yavropoulou M, Fowlkes J, Manolagas SC, et al. Deletion of FoxO1, 3, and 4 in Osteoblast Progenitors Attenuates the Loss of Cancellous Bone Mass in a Mouse Model of Type 1 Diabetes. *J Bone Miner Res*. 2017 Jan;32(1):60-69.
125. Schwartz AV. Diabetes, bone and glucose-lowering agents: clinical outcomes. *Diabetologia*. 2017 Jul;60(7):1170-9. DOI: 10.1007/s00125-017-4283-6
126. Kim JH, Choi HJ, Ku EJ, Kim KM, Kim SW, Cho NH, et al. Trabecular bone score as an indicator for skeletal deterioration in diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Feb;100(2):475-82.
127. Neumann T, Lodes S, Kästner B, Lehmann T, Hans D, Lamy O, et al. Trabecular bone score in type 1 diabetes—a cross-sectional study. *Osteoporos Int*. 2016 Jan;27(1):127-33. DOI: 10.1007/s00198-015-3222-y
128. Wu M, Ai W, Chen L, Zhao S, Liu E. [Corrigendum] Bradykinin receptors and EphB2/EphrinB2 pathway in response to high glucose-induced osteoblast dysfunction and hyperglycemia-induced bone deterioration in mice. *Int J Mol Med*. 2019 Apr;43(4):1920.
129. Вяткин ВА, Бутолин ЕГ, Данилова ОВ, Переведенцева СЕ. Динамика обмена коллагена 1-го типа в трабекулярной кости у крыс с аллоксановым диабетом. *Вестник Удмуртского университета*. 2014;3:102–106.

130. Carvalho FR, Calado SM, Silva GA, Diogo GS, Moreira da Silva J, Reis RL, et al. Altered bone microarchitecture in a type 1 diabetes mouse model *Ins2*. *J Cell Physiol.* 2019 Jun;234(6):9338-50.
131. Lorenzo J. The many ways of osteoclast activation. *J Clin Invest.* 2017 Jun 30;127(7):2530-2.
132. Györi DS, Mócsai A. Osteoclast Signal Transduction During Bone Metastasis Formation. *Front Cell Dev Biol.* 2020 Jun 19;8:507.
133. Cortet B, Lucas S, Legroux–Gerot I, Penel G, Chauveau C, Raccou J. Bone disorders associated with diabetes mellitus and its treatments. *Joint Bone Spine.* 2019 May;86(3):315-20.
134. Западнюк ИП, редактор. Лабораторные животные. Киев : Вища школа; 1983. 383 с.
135. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998 Feb;11(2):155-68.
136. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. Москва: Мир;1975. 328 с.
137. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron–opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol.* 1963;17:208-12.
138. Пентин ЮА, Курамшина ГМ. Основы молекулярной спектроскопии. Москва: Издательство «Мир». Бином. Лаборатория знаний; 2007. 392 с.
139. Александров АВ, Потапов ВД, Державин БП. Сопротивление металлов. 7-издание, стереотип. Москва: Высшая школа; 2009. 560 с.
140. Тетерин ОГ, Маланин ДА, Гунин КВ. Исследование прочности костной ткани при ее репаративной регенерации. *Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН и Администрации Волгоградской области.* 2006;3:31-5.
141. Вольмир АС, Григорьев АИ, Станкевич АИ, Макаревский ДИ, редактор. Сопротивление материалов. Москва; 2007. 592 с.

142. Iwata K, Asawa Y, Fujihara Y, Tanaka Y, Nishizawa S, Nakagawa T, et al. The effects of rapid-or intermediate-acting insulin on the proliferation and differentiation of cultured chondrocytes. *Current aging science*. 2010;3(1):26-33.
143. Joseph TV, Caksa S, Misra M, Mitchell DM. Hip Structural Analysis Reveals Impaired Hip Geometry in Girls With Type 1 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;1;105(12):e4848–56. DOI: 10.1210/clinem/dgaa647
144. Matsumoto T, Endo I. RANKL as a target for the treatment of osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2021 Jan;39(1):91-105.
145. Ming J, Cronin SJF, Penninger JM. Targeting the RANKL/RANK/OPG Axis for Cancer Therapy. *Front Oncol*. 2020 Aug 7;10:1283.
146. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and its effect on bone and fracture healing. *Current osteoporosis reports*. 2015;13(5):327-35.
147. Ofori JK, Karagiannopoulos A, Nagao M, Westholm E, Ramadan S, Wendt A, et al. Human Islet MicroRNA-200c is Elevated in Type 2 Diabetes and Targets the Transcription Factor ETV5 to Reduce Insulin Secretion. *Diabetes*. 2021 Nov 9;db210077. DOI: 10.2337/db21-0077
148. Rubin MR. Bone cells and bone turnover in diabetes mellitus. *Current osteoporosis reports*. 2015;13(3):186-91.
149. Rubin MR. Skeletal fragility in diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2017 Aug;1402(1):18-30. DOI: 10.1111/nyas.13463
150. Starup-Linde J, Vestergaard P. Management of endocrine disease: Diabetes and osteoporosis: cause for concern. *Eur J Endocrinol*. 2015 Sep;173(3):R93-9.
151. Perkins BA, Sherr JL, Mathieu C. Type 1 diabetes glycemic management: Insulin therapy, glucose monitoring, and automation. *Science*. 2021;30;373(6554):522-7. DOI: 10.1126/science.abg4502
152. Yang J, Chen S, Zong Z, Yang L, Liu D, Bao Q, et al. The increase in bone resorption in early-stage type I diabetic mice is induced by RANKL secreted by increased bone marrow adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2020 Apr 30;525(2):433-9.

153. Maghbooli Z, Shabani P, Gorgani-Firuzjaee S, Hossein-Nezhad A. The association between bone turnover markers and microvascular complications of type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord*. 2016 Nov 7;15:51DOI: 10.1186/s40200-016-0274-2
154. Kanazawa I, Sugimoto T. Diabetes Mellitus-induced Bone Fragility. *Intern Med*. 2018 Oct 1;57(19):2773-85.
155. Cunha JS, Ferreira VM, Maquigussa E, Naves MA, Boim MA. Effects of high glucose and high insulin concentrations on osteoblast function in vitro. *Cell and tissue research*. 2014;358(1):249-256.
156. Ay B, Parolia K, Liddell RS, Qiu Y, Grasselli G, Cooper DML, et al. Hyperglycemia compromises Rat Cortical Bone by Increasing Osteocyte Lacunar Density and Decreasing Vascular Canal Volume. *Commun Biol*. 2020 Jan 9;3(1):20.
157. Pacicca, DM, Brown T, Watkins D, Kover K, Yan Y, Prideaux M, Bonewald L. Elevated glucose acts directly on osteocytes to increase sclerostin expression in diabetes. *Scientific reports*. 2019;9(1):17353.
158. Katra B, Fedak D, Matejko B, Małecki MT, Wędrychowicz A. The enteroendocrine-osseous axis in patients with long-term type 1 diabetes mellitus. *Bone*. 2021 Dec;153:116105. DOI: 10.1016/j.bone.2021.116105.
159. Mathiesen IH, Hitz MF, Katzenstein TL, Oturai P, Skov M, Jørgensen NR, et al. Markers of bone turnover are reduced in patients with CF related diabetes; the role of glucose. *J Cyst Fibros*. 2019 May;18(3):436-441.
160. Portal-Núñez S, Lozano D, de Castro LF, de Gortázar AR, Nogués X, Esbrit P. Alterations of the Wnt/beta-catenin pathway and its target genes for the N- and C-terminal domains of parathyroid hormone-related protein in bone from diabetic mice. *FEBS letters*. 2010;584(14):3095-3100.
161. Kanazawa I, Sugimoto T. Diabetes Mellitus-induced Bone Fragility. *Intern Med*. 2018;1;57(19):2773-2785.
162. El Malahi A, Van Elsen M, Charleer S, Dirinck E, Ledeganck K, Keymeulen B, et al. Relationship Between Time in Range, Glycemic Variability, HbA1c, and

- Complications in Adults With Type 1 Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2022;18;107(2):570-81. DOI: 10.1210/clinem/dgab688
163. Hoang M, Jentz E, Janssen SM, Nasteska D, Cuzzo F, Hodson DJ, et al. Isoform-specific roles of prolyl hydroxylases in the regulation of pancreatic β -cell function. *Endocrinology.* 2021;28:bqab226. DOI: 10.1210/endo/bqab226
164. Hunt HB, Pearl JC, Diaz DR, King KB, Donnelly E. Bone Tissue Collagen Maturity and Mineral Content Increase With Sustained Hyperglycemia in the KK-Ay Murine Model of Type 2 Diabetes. *J Bone Miner Res.* 2018;33(5):921-9.
165. Acevedo C, Sylvia M, Schaible E, Graham JL, Stanhope KL, Metz LN, et al. Contributions of Material Properties and Structure to Increased Bone Fragility for a Given Bone Mass in the UCD-T2DM Rat Model of Type 2 Diabetes. *J Bone Miner Res.* 2018 Jun;33(6):1066-75.
166. Wijaya MC, Sari GM, Tinduh D. Hyperglycemia caused reduction of cortical bone thickness in streptozotocin-induced diabetic rat. *Bali Medical Journal/* 2016;6(1):161-163.
167. Al-Hariri M. Sweet Bones: The Pathogenesis of Bone Alteration in Diabetes. *J Diabetes Res.* 2016;2016:6969040.
168. Christensen MB, Lund A, Calanna S, Jørgensen NR, Holst JJ, Vilsbøll T, et al. Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide (GIP) Inhibits Bone Resorption Independently of Insulin and Glycemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;1;103(1):288-94.
169. Вяткин ВА, Собенникова МВ, Канунникова ОМ, Бутолин ЕГ, Иванов ВГ, Савинова НВ. Содержание кальция и фосфора в компактной костной ткани у крыс с аллоксановым диабетом. *Остеопороз и остеопатии.* 2015;2: 6-8.
170. Schacter GI, Leslie WD. Diabetes and Bone Disease. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2017 Mar;46(1):63-85.
171. Zhang J, Chen X, Chen B, Tong L, Zhang Y. Tetrahydroxy stilbene glucoside protected against diabetes-induced osteoporosis in mice with streptozotocin-induced hyperglycemia. *Phytother Res.* 2019;33(2):442-51.

172. Shah VN, DiMeglio LA. Sweet bones: diabetes effects on bone. In: Burr DB, Allen MR, eds. Basic and applied bone biology. London: Academic Press; 2019, p. 425-41.
173. Hu P, McKenzie JA, Buettmann EG, Migotsky N, Gardner MJ, Silva MJ. Type 1 diabetic Akita mice have low bone mass and impaired fracture healing. *Bone*. 2021 Jun;147:115906. DOI: 10.1016/j.bone.2021.115906
174. Lekkala S, Taylor EA, Hunt HB, Donnelly E. Effects of Diabetes on Bone Material Properties. *Curr Osteoporos Rep*. 2019 Dec;17(6):455-64. DOI: 10.1007/s11914-019-00538-6
175. Мистяков МВ, Бардымова ТП, Цыреторова СС. Сахарный диабет и остеопороз. *Сибирский медицинский журнал*. 2015;6:47-52.
176. Asrih M, Dusaulcy R, Gosmain Y, Philippe J, Somm E, Jornayvaz FR, et al. Growth differentiation factor-15 prevents glucotoxicity and connexin-36 downregulation in pancreatic beta-cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2021;8;541:111503. DOI: 10.1016/j.mce.2021.111503

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

Дані варіаційно-статистичної обробки результатів дослідження експериментальної серії щурів молодого віку

Таблиця А.1.1 – Маса тіла та показники вуглеводного обміну в крові тварин молодого віку в динаміці експерименту (n = 6)

Доба експерименту	Експериментальна серія			Серія контролю		
	вага тварин, г	показники глюкози, ммоль/л	НbA1c, %	вага тварин, г	показники глюкози, ммоль/л	НbA1c, %
2-га	(84,10 ± 1,10)	(18,9 ± 2,10)**	(6,0 ± 0,25)	(91,20 ± 0,42)	(6,6 ± 1,16)	(3,90 ± 0,25)
30-та	(93,34 ± 1,08)**	(19,3 ± 1,69)**	(7,0 ± 0,66)**	(102,51 ± 1,97)	(6,4 ± 1,50)	(4,03 ± 0,88)
60-та	(118,31 ± 0,92)**	(13,9 ± 1,43)**	(7,19 ± 0,70)**	(130,93 ± 1,98)	(4,9 ± 1,32)	(4,9 ± 0,45)
90-та	(135,3 ± 2,65)**	(13,8 ± 1,48)**	(8,43 ± 0,60)**	(150,5 ± 0,87)	(5,4 ± 1,20)	(4,82 ± 0,90)
120-та	(141,2 ± 2,94)**	(13,6 ± 0,33)*	(8,9 ± 1,48)**	(170,1 ± 2,39)	(3,1 ± 0,22)	(4,0 ± 0,66)
150-та	(141,4 ± 2,56)**	(13,9 ± 1,49)**	(9,84 ± 0,92)**	(181,43 ± 2,86)	(6,0 ± 1,23)	(4,61 ± 1,06)
180-та	(133,6 ± 2,90)**	(13,2 ± 2,26)**	(9,43 ± 0,96)**	(190,51 ± 2,11)	(6,2 ± 1,06)	(5,4 ± 1,08)

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А.1.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) імуногістохімічного дослідження кісток щурів молодого віку

Доба експерименту	Остеопонтин				RANKL			
	відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин		відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин	
Діафіз, %	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
30-та	26,32	24,17	+++	++	22,19	25,71	++	++
	±1,28	±1,51*			±1,40*	±2,17		
60-та	26,36	24,22	+++	++	22,32	25,77	++	++
	±0,99	±0,92*			±1,43*	±1,55		
90-та	26,41	24,28	+++	++	22,38	25,82	++	++
	±1,34	±1,28*			±1,47*	±2,03		
120-та	26,52	24,35	++	++	22,43	25,88	+++	++
	±1,51	±0,96*			±0,71**	±1,52		
150-та	26,73	24,38	++	+	22,50	26,20	+++	++
	±1,50	±1,61*			±1,74*	±1,80		
180-та	26,77	24,42	++	+	22,59	26,74	+++	++
	±1,35	±1,60*			±1,45**	±1,08		

Продовження таблиці А.1.2

Доба експерименту	Остеопонтин				RANKL			
	відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин		відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин	
Епіфіз, %	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
30-та	30,16	27,32	+++	++	25,12	29,14	++	++
	±1,46	±1,43*			±1,55**	±1,65		
60-та	30,23	27,36	+++	++	25,34	29,32	++	++
	±1,38	±1,61*			±2,22*	±1,59		
90-та	30,54	27,41	+++	++	25,51	29,56	++	++
	±1,63	±1,45*			±2,21*	±1,48		
120-та	30,71	27,47	++	++	25,62	29,71	+++	++
	±1,38	±1,66*			±1,41**	±1,80		
150-та	30,88	27,54	++	++	25,66	30,07	+++	++
	±1,71	±1,45*			±1,22*	±2,47		
180-та	30,92	27,73	++	++	25,70	30,36	+++	++
	±1,77	±1,58*			±1,55**	±1,47		

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А. 2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) остеометрії кісток скелета щурів молодого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
МДК, мм	22,36	18,96	23,18	20,35	24,87	21,60	27,78	24,17	30,16	25,11	32,30	26,95
	$\pm 1,14$	$\pm 1,16^{**}$	$\pm 0,79$	$\pm 1,04^{**}$	$\pm 0,90$	$\pm 1,61^{**}$	$\pm 0,94$	$\pm 0,97^{**}$	$\pm 1,21$	$\pm 1,23^{**}$	$\pm 0,84$	$\pm 1,06^{**}$
ШПЕ, мм	2,84	2,71	2,91	2,78	3,02	2,86	3,17	2,94	3,24	3,04	3,35	3,1
	$\pm 0,21$	$\pm 0,26$	$\pm 0,25$	$\pm 0,19$	$\pm 0,22$	$\pm 0,32$	$\pm 0,26$	$\pm 0,30$	$\pm 0,14$	$\pm 0,22$	$\pm 0,20$	$\pm 0,04^*$
ШДЕ, мм	2,91	2,85	2,98	2,90	3,06	2,97	3,20	3,08	3,31	3,19	3,48	3,26
	$\pm 0,12$	$\pm 0,22$	$\pm 0,2$	$\pm 0,12$	$\pm 0,07$	$\pm 0,16$	$\pm 0,17$	$\pm 0,09$	$\pm 0,2$	$\pm 0,28$	$\pm 0,23$	$\pm 0,21$
ШСД, мм	1,68	1,60	1,70	1,62	1,74	1,64	1,78	1,66	1,81	1,69	1,84	1,72
	$\pm 0,31$	$\pm 0,37$	$\pm 0,41$	$\pm 0,36$	$\pm 0,42$	$\pm 0,39$	$\pm 0,51$	$\pm 0,44$	$\pm 0,55$	$\pm 0,41$	$\pm 0,51$	$\pm 0,42$
Плечова кістка												
МДК, мм	14,20	11,94	14,86	12,76	16,10	13,53	18,03	14,99	19,42	15,56	20,30	16,80
	$\pm 0,66$	$\pm 0,77^{**}$	$\pm 0,90$	$\pm 1,08^*$	$\pm 1,21$	$\pm 0,88^*$	$\pm 0,82$	$\pm 0,81^{**}$	$\pm 0,72$	$\pm 0,93^{**}$	$\pm 0,78$	$\pm 0,79^{**}$
ШПЕ, мм	2,16	2,07	2,21	2,10	2,26	2,12	2,37	2,18	2,44	2,29	2,56	2,35
	$\pm 0,25$	$\pm 0,13$	$\pm 0,17$	$\pm 0,59$	$\pm 0,21$	$\pm 0,27$	$\pm 0,30$	$\pm 0,27$	$\pm 0,27$	$\pm 0,28$	$\pm 0,32$	$\pm 0,30$
ШДЕ, мм	2,17	2,09	2,22	2,12	2,27	2,18	2,36	2,24	2,45	2,32	2,61	2,38
	$\pm 0,27$	$\pm 0,15$	$\pm 0,18$	$\pm 0,26$	$\pm 0,24$	$\pm 0,29$	$\pm 0,30$	$\pm 0,19$	$\pm 0,26$	$\pm 0,29$	$\pm 0,28$	$\pm 0,30$
ШСД, мм	1,12	1,07	1,14	1,09	1,16	1,10	1,17	1,11	1,21	1,13	1,23	1,15
	$\pm 0,26$	$\pm 0,13$	$\pm 0,29$	$\pm 0,15$	$\pm 0,24$	$\pm 0,15$	$\pm 0,27$	$\pm 0,14$	$\pm 0,17$	$\pm 0,25$	$\pm 0,19$	$\pm 0,32$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях

показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А.3.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) морфометрії стегнової кістки щурів молодого віку ($n = 6$)

Показник / діб		30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
		К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Діафіз	діаметри остеона, мкм	27,16	27,83	27,37	28,43	27,91	29,55	28,40	30,42	28,76	31,56	29,42	33,24
		$\pm 0,44$	$\pm 0,55^*$	$\pm 0,45$	$\pm 0,36^*$	$0,57 \pm$	$\pm 0,35^{**}$	$\pm 0,38$	$\pm 0,33^{**}$	$\pm 0,42$	$\pm 0,31^{**}$	$\pm 0,33$	$\pm 0,33^{**}$
Діафіз	діаметр каналу остеона, мкм	9,12	9,30	9,05	9,93	8,85	10,40	8,67	10,64	8,44	11,32	8,57	11,81
		$\pm 0,17$	$\pm 0,27$	$\pm 0,18$	$\pm 0,53^*$	$\pm 0,42$	$\pm 0,67^{**}$	$\pm 0,41$	$\pm 0,69^{**}$	$\pm 0,35$	$\pm 0,34^{**}$	$\pm 0,44$	$\pm 0,31^{**}$
Наростковий хрящ	об'єм загальної спонгіози, %	30,36	29,93	31,80	29,74	32,46	29,48	32,94	28,20	33,43	27,10	35,32	27,31
		$\pm 0,33$	$\pm 0,46$	$\pm 0,32$	$\pm 0,40^{**}$	$\pm 0,30$	$\pm 0,37^{**}$	$\pm 0,25$	$\pm 0,26^{**}$	$\pm 0,26$	$\pm 0,47^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,68^{**}$
Наростковий хрящ	ширина епіфізарного хряща, мкм	211,65	207,18	215,13	203,31	220,74	190,47	223,56	182,22	226,19	179,54	231,72	169,10
		$\pm 0,36$	$\pm 4,13^*$	$\pm 0,25$	$\pm 3,32^{**}$	$\pm 0,33$	$\pm 6,55^{**}$	$\pm 4,11$	$\pm 5,90^{**}$	$\pm 6,72$	$\pm 6,56^{**}$	$\pm 6,75$	$\pm 6,54^{**}$
Еліфіз	відносна площа губчастої кісткової тканини, %	17,54	17,02	17,72	17,11	19,12	18,14	19,86	18,74	20,71	19,26	21,43	19,90
		$\pm 0,30$	$\pm 0,22^*$	$\pm 0,39$	$\pm 0,32^*$	$\pm 0,34$	$\pm 0,39^{**}$	$\pm 0,37$	$\pm 0,42^{**}$	$\pm 0,37$	$\pm 0,41^{**}$	$\pm 0,29$	$\pm 0,41^{**}$
Еліфіз	ширина кісткових трабекул, мкм	57,73	57,09	57,96	57,30	60,24	59,44	61,58	60,40	62,84	60,82	64,92	61,86
		$\pm 0,47$	$\pm 0,20^*$	$\pm 0,38$	$\pm 0,29^*$	$\pm 0,30$	$\pm 0,27^{**}$	$\pm 0,50$	$\pm 0,30^{**}$	$\pm 0,27$	$\pm 0,27^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,51^{**}$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях

показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А.3.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) морфометрії плечової кістки щурів молодого віку ($n = 6$)

Показник / діб		30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
		К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Діафіз	діаметри остеона, мкм	18,38	18,86	18,53	19,30	19,02	20,33	19,30	20,70	19,54	21,36	19,70	22,46
		$\pm 0,29$	$\pm 0,40^*$	$\pm 0,29$	$\pm 0,23^{**}$	$\pm 0,30$	$\pm 0,46^{**}$	$\pm 0,24$	$\pm 0,31^{**}$	$\pm 0,24$	$\pm 0,33^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,33^{**}$
Діафіз	діаметр каналу остеона, мкм	7,55	7,70	7,42	8,12	7,33	8,49	7,26	9,01	7,16	9,42	7,10	9,81
		$\pm 0,31$	$\pm 0,40$	$\pm 0,31$	$\pm 0,22^*$	$\pm 0,23$	$\pm 0,35^{**}$	$\pm 0,26$	$\pm 0,48^{**}$	$\pm 0,14$	$\pm 0,66^{**}$	$\pm 0,66$	$\pm 0,87^{**}$
Наростковий хрящ	об'єм загальної спонгіози, %	22,76	22,44	23,75	22,17	24,26	21,94	24,82	21,22	25,22	20,52	26,50	20,34
		$\pm 0,56$	$\pm 0,54$	$\pm 0,23$	$\pm 0,53^{**}$	$\pm 0,37$	$\pm 0,27^{**}$	$\pm 0,76$	$\pm 0,91^{**}$	$\pm 0,56$	$\pm 0,33^{**}$	$\pm 1,61$	$\pm 1,48^{**}$
Наростковий хрящ	ширина епіфізарного хряща, мкм	199,86	196,76	203,47	192,28	208,64	179,90	211,26	172,40	214,17	165,31	219,32	160,21
		$\pm 0,44$	$\pm 3,99$	$\pm 0,26$	$\pm 4^{**}$	$\pm 0,29$	$\pm 6,55^{**}$	$\pm 0,32$	$\pm 6,56^{**}$	$\pm 6,55$	$\pm 6,50^{**}$	$\pm 6,52$	$\pm 6,60^{**}$
Епіфіз	відносна площа губчастої кісткової тканини, %	14,8	14,12	14,94	14,21	16,02	15,23	16,59	15,61	17,32	15,97	18,10	16,55
		$\pm 0,47$	$\pm 0,26^*$	$\pm 0,33$	$\pm 0,19^{**}$	$\pm 0,26$	$\pm 0,18^{**}$	$\pm 0,32$	$\pm 0,35^{**}$	$\pm 0,27$	$\pm 0,20^{**}$	$\pm 0,26$	$\pm 0,24^{**}$
Епіфіз	ширина кісткових трабекул, мкм	48,78	48,05	49,50	48,18	51,90	49,86	53,04	50,59	54,07	51,62	55,19	52,38
		$\pm 0,40$	$\pm 0,36^*$	$\pm 0,45$	$\pm 0,50^{**}$	$\pm 0,39$	$\pm 0,24^{**}$	$\pm 0,21$	$\pm 0,26^{**}$	$\pm 0,38$	$\pm 0,22^{**}$	$\pm 0,50$	$\pm 0,33^{**}$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А.4.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки біомеханічних показників ($M \pm m$) діафіза стегнової та плечової кісток щурів молодого віку ($n = 6$)

Показник/діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Межа міцності на стиснення, МПа	155,6	154,0	156,7	151,4	154,9	147,8	154,4	142,5	150,8	129,3	147,5	119,7
	±0,62	±0,19**	±3,72	±0,49**	±0,70	±3,56**	±0,49	±4,17**	±4,19	±0,22**	±0,49	±5,61**
Навантаження при стисненні, Н	437,21	394,17	448,32	390,64	458,64	384,45	475,61	376,19	490,21	362,15	510,41	347,26
	±6,56	±0,37**	±12,81	±0,26**	±12,85	±12,84**	±19,16	±19,15**	±19,17	±19,14**	±19,16	±16,16**
Площа поперечного перерізу, мм	2,81	2,56	2,86	2,58	2,96	2,60	3,08	2,64	3,25	2,80	3,46	2,90
	±0,38	±0,29	±0,32	±0,30	±0,35	±0,29	±0,09	±0,44*	±0,14	±0,36*	±0,28	±0,24*
Плечова кістка												
Межа міцності на стиснення, МПа	157,6	156,2	158,7	152,4	157,0	145,7	158,1	140,5	155,1	133,2	151,3	125,6
	±0,43	±0,35**	±3,49	±0,47**	±1,44	±3,48**	±4,62	±0,49**	±4,75	±3,48**	±6,54	±0,37**
Навантаження при стисненні, Н	423,86	384,31	433,41	379,42	442,82	371,45	458,43	365,32	473,02	351,56	487,24	337,98
	±12,85	±0,18**	±12,81	±0,35**	±12,85	±12,91**	±12,86	±19,11**	±19,08	±19,19**	±19,11	±19,51**
Площа поперечного перерізу, мм	2,69	2,46	2,73	2,49	2,82	2,55	2,90	2,60	3,05	2,64	3,22	2,69
	±0,31	±0,27	±0,28	±0,27	±0,20	±0,31	±0,26	±0,30	±0,17	±0,44	±0,37	±0,27*

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А.4.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки біомеханічних показників ($M \pm m$) дистального епіфіза стегнової та плечової кісток щурів молодого віку ($n = 6$)

Показник/діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Межа міцності на стиснення, МПа	78,6	78,1	77,0	75,2	76,7	71,3	74,1	66,7	74,6	63,2	73,8	59,1
	±0,28	±0,34*	±0,20	±1,63*	±0,45	±2,16**	±0,34	±2,89**	±0,28	±4,50**	±0,38	±5,38**
Навантаження при стисненні, Н	291,43	274,20	298,10	264,12	304,41	255,4	312,56	245,56	319,12	234,51	324,84	223,24
	±7,15	±0,23**	±6,73	±12,80**	±12,76	±12,84**	±12,83	±12,96**	±12,82	±12,87**	±13,06	±19,13**
Площа поперечного перерізу, мм	3,71	3,46	3,87	3,51	3,97	3,58	4,22	3,68	4,28	3,71	4,40	3,78
	±0,43	±0,25	±0,39	±±0,34	0,15	±0,38	±0,13	±0,42*	±0,28	±0,42*	±0,38	±0,40*
Плечова кістка												
Межа міцності на стиснення, МПа	79,4	78,6	78,5	75,8	78,9	72,6	77,4	66,6	75,6	61,9	75,4	58,0
	±0,30	±0,30**	±0,15	±2,73*	±3,64	±0,18*	±0,24	±3,42**	±4,06	±0,46**	±0,29	±4,62**
Навантаження при стисненні, Н	281,20	260,10	284,80	254,14	293,64	245,53	301,81	235,26	308,40	224,17	315,76	213,03
	±6,50	±6,55**	±6,60	±12,83**	±6,48	±12,78**	±12,77	±12,80**	±12,82	±12,80**	±19,35	±12,79**
Площа поперечного перерізу, мм	3,54	3,31	3,63	3,35	3,72	3,38	3,90	3,53	4,08	3,62	4,19	3,68
	±0,35	±0,19	±0,36	±0,20	±0,42	±0,27	±0,39	±0,30	±0,28	±0,34*	±0,38	±0,42

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А.5.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) показників хімічного складу діафіза стегнової та плечової кісток щурів молодого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
	Стегнова кістка											
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Са, мкг/г	2464,51	2409,12	2520,72	2374,76	2591,12	2304,20	2643,41	2246,80	2693,12	2174,17	2760,04	2016,70
	±0,46	±0,82	±0,61	±0,46**	±0,14	±0,34**	±0,98	±0,25**	±0,89	±0,63**	±0,98	±0,11**
Р, мкг/г	818,50	816,21	826,33	805,76	847,54	791,34	856,43	760,20	864,26	745,24	870,44	732,31
	±6,72	±0,57	±6,74	±6,72**	±11,04	±13,0**	±19,44	±13,02**	±19,33	±19,24**	±12,16	±19,39**
H ₂ O, %	26,51	25,96	26,83	25,33	27,10	24,85	27,42	24,26	28,05	23,64	29,02	22,80
	±0,42	±0,30*	±0,44	±0,85*	±0,31	±2,28*	±0,46	±2,12*	±0,33	±2,20**	±2,16	±0,64**
Сu, мкг/г	54,17	51,13	54,62	50,78	54,91	50,14	55,34	49,66	55,91	48,46	56,92	47,23
	±2,24	±0,33*	±2,13	±0,29**	±2,26	±0,32**	±2,69	±0,20**	±3,52	±0,24**	±0,23	±3,91**
Zn, мкг/г	7,10	7,05	7,13	7,02	7,15	6,97	7,17	6,94	7,19	6,91	7,21	6,88
	±0,32	±0,29	±0,35	±0,26	±0,39	±0,32	±0,40	±0,29	±0,40	±0,29	±0,42	±0,25
Плечова кістка												
Са, мкг/г	2256,17	2201,72	2299,45	2173,12	2359,61	2107,67	2411,43	2054,12	2460,74	1986,24	2540,19	1856,31
	±0,47	±0,63	±0,45	±0,65**	±0,25	±0,63**	±0,65	±0,60**	±0,67	±0,62**	±0,67	±0,95**
Р, мкг/г	772,65	770,30	781,34	761,38	786,58	747,06	794,32	717,47	806,5	703,12	824,23	690,43
	±0,33	±6,63	±0,21	±6,54**	±0,31	±6,51**	±12,79	±6,59**	±12,88	±12,90**	±12,91	±19,15**
H ₂ O, %	25,67	24,04	25,95	23,76	26,20	23,26	26,6	22,67	27,11	22,04	28,03	21,06
	±0,52	±1,53*	±0,39	±1,56*	±0,74	±0,48**	±0,83	±0,84**	±1,17	±0,92**	±0,91	±1,58**
Сu, мкг/г	51,36	43,17	51,92	47,84	52,46	47,16	52,93	46,57	53,48	45,58	54,10	44,45
	±0,24	±12,12	±0,30	±2,12**	±0,44	±2,79**	±0,43	±2,83**	±0,58	±2,74**	±0,53	±2,78**
Zn, мкг/г	6,41	6,37	6,44	6,34	6,46	6,30	6,48	6,28	6,50	6,26	6,52	6,23
	±0,17	±0,16	±0,21	±0,14	±0,21	±0,15	±0,24	±0,17	±0,21	±0,18	±0,27	±0,18

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця А.5.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) показників хімічного складу дистального епіфіза стегнової та плечової кісток щурів молодого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
	Стегнова кістка											
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Са, мкг/г	2231,17	2175,77	2276,43	2136,54	2334,16	2053,14	2318,71	1986,70	2483,47	1910,56	2613,19	1812,70
	±0,63	±0,66	±0,42	±0,65**	±0,64	±0,25**	±0,27	±0,95**	±0,90	±0,64**	±0,12	±0,16**
Р, мкг/г	815,20	813,07	826,34	787,83	837,21	771,30	846,30	724,71	854,22	710,19	877,75	698,30
	±0,29	±6,60	±13,05	±6,73**	±19,09	±6,77**	±19,16	±15,58**	±15,59	±12,99**	±12,06	±19,15**
H ₂ O, %	31,40	30,63	31,88	29,61	32,40	28,76	32,87	27,64	33,82	26,80	34,68	25,94
	±0,30	±0,31**	±0,62	±0,64**	±0,65	±0,89**	±0,91	±0,86**	±0,95	±0,90**	±0,80	±1,52**
Сu, мкг/г	57,12	54,07	57,82	53,81	58,21	53,20	58,79	52,48	59,32	50,86	60,48	49,21
	±0,60	±1,54**	±0,41	±1,71**	±2,49	±0,53**	±2,36	±1,02**	±3,12	±1,51**	±3,52	±2,88**
Zn, мкг/г	8,11	8,08	8,14	8,05	8,18	7,98	8,23	7,94	8,27	7,86	8,32	7,79
	±0,22	±0,23	±0,25	±0,16	±0,31	±0,62	±0,37	±0,59	±0,41	±0,69	±0,55	±0,38
Плечова кістка												
Са, мкг/г	2023,44	1968,30	2064,31	1935,36	2118,12	1860,43	2162,54	1799,20	2250,36	1727,46	2366,51	1628,12
	±0,14	±0,63	±0,23	±0,64**	±0,43	±0,65**	±0,38	±0,95**	±0,63	±0,12**	±0,64	±0,16**
Р, мкг/г	770,35	768,24	782,1	740,31	790,28	724,12	796,34	689,33	805,54	676,40	828,43	663,67
	±0,41	±6,60	±6,50	±12,80**	±12,81	±12,87**	±12,78	±19,14**	±19,16	±19,18**	±17,91	±15,48**
H ₂ O, %	30,34	29,45	30,78	28,49	31,30	27,64	31,70	26,57	32,68	25,90	33,52	25,10
	±0,21	±0,81*	±0,30	±0,85**	±0,38	±1,15**	±0,94	±0,95**	±0,78	±1,69**	±1,57	±1,54**
Сu, мкг/г	54,68	51,53	54,94	50,83	55,53	50,20	56,14	49,53	56,81	48,02	57,89	46,62
	±1,02	±0,27**	±0,55	±0,93**	±0,91	±1,42**	±0,83	±1,56**	±1,53	±1,47**	±1,46	±2,27**
Zn, мкг/г	6,60	6,57	6,62	6,54	6,64	6,49	6,67	6,46	6,70	6,39	6,75	6,33
	±0,26	±0,25	±0,24	±0,23	±0,25	±0,21	±0,30	±0,19	±0,36	±0,24	±0,44	±0,18

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

ДОДАТОК Б
Дані варіаційно-статистичної обробки результатів дослідження експериментальної серії
щурів зрілого віку

Таблиця Б.1.1 – Маса тіла та показники вуглеводного обміну в крові щурів **зрілого віку** в динаміці експерименту (n = 6)

Доба експерименту	Експериментальна серія			Серія контролю		
	вага тварин, г	показники глюкози, ммоль/л	НbA1c, %	вага тварин, г	показники глюкози, ммоль/л	НbA1c, %
2-га	(186,2 ± 13,20)	(17,1 ± 1,10)**	(6,1 ± 0,20)	(191,7 ± 11,70)	(3,5 ± 0,10)	(4,10 ± 0,10)
30-га	(146,6 ± 15,10)**	(14,8 ± 1,30)**	(6,3 ± 0,10)**	(193,2 ± 14,50)	(3,5 ± 0,10)	(4,0 ± 0,10)
60-га	(161,3 ± 12,60)**	(12,3 ± 0,80)**	(7,1 ± 0,30)**	(194,1 ± 13,80)	(6,0 ± 0,10)	(4,5 ± 0,10)
90-га	(169,5 ± 17,30)**	(10,2 ± 1,20)**	(8,4 ± 0,10)**	(198,5 ± 10,60)	(6,3 ± 0,10)	(5,1 ± 0,10)
120-га	(168,2 ± 25,20)**	(13,5 ± 1,0)**	(9,1 ± 0,10)**	(200,7 ± 12,10)	(6,5 ± 0,10)	(5,0 ± 0,10)
150-га	(160,3 ± 16,40)**	(12,0 ± 1,30)**	(9,6 ± 0,10)**	(204,2 ± 8,90)	(6,6 ± 0,10)	(4,9 ± 0,10)
180-га	(167,2 ± 21,30)**	(11,3 ± 1,10)**	(9,9 ± 0,10)**	(207,2 ± 12,30)	(6,6 ± 0,10)	(5,2 ± 0,10)

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.1.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) імуногістохімічного дослідження кісток шурів зрілого віку ($n = 6$)

Доба експерименту	Остеопонтин				RANKL			
	відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин		відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин	
Діафіз, %	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
30-та	24,81	23,64	++	++	23,29	24,50	++	+++
	±1,36	±1,75			±1,53	±1,47		
60-та	24,77	23,53	++	++	23,20	24,47	++	+++
	±1,51	±1,34			±1,56	±1,58		
90-та	24,71	23,19	+++	++	23,17	24,10	++	+++
	±1,34	±1,44*			±1,51	±1,48		
120-та	24,62	23,05	++	++	23,11	23,83	++	+++
	±1,32	±1,22*			±1,21	±1,43		
150-та	24,58	22,94	++	+	23,06	23,70	++	+++
	±0,89	±1,62*			±1,90	±1,72		
180-та	24,50	22,71	++	+	23,0	23,56	++	+++
	±0,83	±1,66*			±1,44	±2,05		

Продовження таблиці Б.1.2

Доба експерименту	Остеопонтин				RANKL			
	відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин		відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин	
Епіфіз, %	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
30-та	27,44	26,20	++	++	25,91	26,97	++	+++
	±1,48	±1,45			±1,57	±1,55		
60-та	27,31	26,11	++	++	25,86	26,90	++	+++
	±1,57	±1,62			±2,30	±2,17		
90-та	27,26	26,04	+++	++	25,81	26,66	++	+++
	±2,15	±1,48			±1,58	±1,57		
120-та	27,14	25,87	++	++	25,77	26,40	++	+++
	±1,41	±1,87			±1,78	±1,49		
150-та	27,08	25,42	++	+	25,69	26,20	++	+++
	±1,63	±1,43			±1,70	±1,40		
180-та	26,92	25,03	++	+	25,60	25,90	++	+++
	±1,40	±1,47			±2,26	±1,54		

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) остеометрії кісток скелета щурів зрілого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
МДК, мм	33,41	30,04	34,70	31,10	33,10	31,44	35,42	31,65	36,22	32,26	37,10	32,67
	$\pm 1,32$	$\pm 1,07^{**}$	$\pm 1,34$	$\pm 1,21^{**}$	$\pm 1,20$	$\pm 1,32^*$	$\pm 1,33$	$\pm 0,83^{**}$	$\pm 0,81$	$\pm 0,39^{**}$	$\pm 0,20$	$\pm 1,48^{**}$
ШПЕ, мм	3,54	3,34	3,58	3,36	3,61	3,39	3,74	3,41	3,87	3,56	3,90	3,62
	$\pm 0,36$	$\pm 0,17$	$\pm 0,38$	$\pm 0,19$	$\pm 0,35$	$\pm 0,27$	$\pm 0,42$	$\pm 0,31$	$\pm 0,40$	$\pm 0,37$	$\pm 0,11$	$\pm 0,36$
ШДЕ, мм	3,59	3,38	3,58	3,40	3,67	3,42	3,75	3,50	3,85	3,58	3,95	3,64
	$\pm 0,39$	$\pm 0,26$	$\pm 0,38$	$\pm 0,29$	$\pm 0,43$	$\pm 0,30$	$\pm 0,41$	$\pm 0,34$	$\pm 0,42$	$\pm 0,39$	$\pm 0,14$	$\pm 0,41$
ШСД, мм	2,75	2,61	2,78	2,63	2,81	2,65	2,84	2,67	2,87	2,70	2,90	2,72
	$\pm 0,40$	$\pm 0,31$	$\pm 0,48$	$\pm 0,41$	$\pm 0,38$	$\pm 0,25$	$\pm 0,33$	$\pm 0,28$	$\pm 0,35$	$\pm 0,27$	$\pm 0,25$	$\pm 0,28$
Плечова кістка												
МДК, мм	21,09	20,05	22,01	20,80	22,38	21,14	22,61	21,22	23,05	21,52	23,36	21,87
	$\pm 0,57$	$\pm 0,50^*$	$\pm 0,19$	$\pm 0,85^*$	$\pm 1,23$	$\pm 0,11^*$	$\pm 0,35$	$\pm 0,49^{**}$	$\pm 0,50$	$\pm 0,88^*$	$\pm 0,19$	$\pm 1,18^*$
ШПЕ, мм	3,07	2,80	3,10	2,84	3,14	2,87	3,18	2,90	3,27	2,93	3,38	3,02
	$\pm 0,18$	$\pm 0,26$	$\pm 0,12$	$\pm 0,45$	$\pm 0,16$	$\pm 0,42$	$\pm 0,33$	$\pm 0,42$	$\pm 0,20$	$\pm 0,40$	$\pm 0,25$	$\pm 0,41$
ШДЕ, мм	4,24	3,91	4,28	3,95	4,31	3,98	4,42	4,05	4,54	4,14	4,68	4,21
	$\pm 0,17$	$\pm 0,39$	$\pm 0,27$	$\pm 0,31$	$\pm 0,52$	$\pm 0,15$	$\pm 0,41$	$\pm 0,26$	$\pm 0,28$	$\pm 0,46$	$\pm 0,35$	$\pm 0,41$
ШСД, мм	1,50	1,44	1,51	1,45	1,53	1,47	1,54	1,48	1,56	1,49	1,58	1,50
	$\pm 0,47$	$\pm 0,27$	$\pm 0,28$	$\pm 0,39$	$\pm 0,37$	$\pm 0,35$	$\pm 0,36$	$\pm 0,34$	$\pm 0,36$	$\pm 0,35$	$\pm 0,34$	$\pm 0,32$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.3.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) морфометрії стегнової кістки щурів зрілого віку ($n = 6$)

Показник / діб		30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
		К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Діафіз	діаметр остеона, мкм	30,09 ±0,79	30,12 ±2,41	30,47 ±1,72	30,64 ±0,96	30,74 ±1,90	30,95 ±1,23	31,17 ±1,77	31,84 ±2,42	31,58 ±1,64	31,97 ±3,11	31,84 ±1,35	32,30 ±2,43*
	діаметр каналу остеона, мкм	11,17 ±1,47	11,35 ±1,41	11,43 ±1,08	11,72 ±1,15	11,60 ±1,61	11,93 ±2,83	12,26 ±1,43	12,81 ±1,44	12,53 ±1,92	12,97 ±2,60	12,81 ±1,67	13,40 ±1,58*
Наростковий хрящ	об'єм загальної спонгіози, %	37,32 ±0,52	27,05 ±0,43	37,84 ±0,53	26,74 ±0,39	38,08 ±0,29	25,46 ±0,38*	38,71 ±0,32	25,46 ±0,39*	39,56 ±0,50	24,92 ±0,56*	40,36 ±0,42	24,37 ±0,40*
	ширина епіфізарного хряща, мкм	232,21 ±18,12	231,31 ±14,57	232,96 ±9,96	231,98 ±11,03	233,23 ±7,99	232,20 ±17,01*	234,58 ±12,57	233,34 ±13,21*	235,96 ±16,91	234,51 ±18,17*	236,53 ±19,54	234,82 ±20,03**
Епіфіз	відносна площа губчастої кісткової тканини, %	21,97 ±1,81	21,88 ±1,09	22,12 ±1,12	21,9 ±0,97	22,41 ±0,86	22,08 ±1,1	23,12 ±1,32	22,37 ±0,79*	23,64 ±1,6	22,64 ±1,25*	23,86 ±1,29	22,82 ±2,20*
	ширина кісткових трабекул, мкм	65,63 ±1,23	65,01 ±1,08	65,81 ±2,65	65,05 ±2,37	65,97 ±3,22	65,12 ±3,41	66,96 ±2,84	66,01 ±2,83**	67,34 ±2,41	66,32 ±1,79**	67,87 ±1,72	66,54 ±0,78**

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.3.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) морфометрії плечової кістки щурів зрілого віку ($n = 6$)

Показник / діб		30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
		К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Діафіз	діаметр остеона, мкм	21,23	21,40	21,40	21,60	21,67	21,89	22,67	22,93	22,95	23,30	23,05	23,45
		$\pm 1,15$	$\pm 1,46$	$\pm 2,14$	$\pm 2,44$	$\pm 1,81$	$\pm 1,31$	$\pm 1,28$	$\pm 2,12$	$\pm 0,93$	$\pm 2,31$	$\pm 1,45$	$\pm 2,40^*$
	діаметр каналу остеона, мкм	8,35	8,45	8,32	8,53	8,60	8,84	9,42	9,81	9,90	10,10	10,04	10,45
		$\pm 0,07$	$\pm 0,09$	$\pm 0,12$	$\pm 0,15$	$\pm 0,24$	$\pm 0,32$	$\pm 0,54$	$\pm 0,14$	$\pm 0,12$	$\pm 0,05$	$\pm 0,08$	$\pm 0,15$
Наростковий хрящ	об'єм загальної спонгіози, %	27,7	27,5	27,96	27,09	28,24	26,82	28,82	26,27	29,57	26,01	29,93	24,73
		$\pm 0,39$	$\pm 0,3$	$\pm 0,38$	$\pm 0,29$	$\pm 0,25$	$\pm 0,44$	$\pm 0,46$	$\pm 0,34^*$	$\pm 0,47$	$\pm 0,33^*$	$\pm 0,37$	$\pm 0,46^*$
	ширина епіфізарного хряща, мкм	219,63	218,30	219,93	218,41	220,15	218,56	221,32	219,64	222,49	220,73	223,40	221,62
		$\pm 10,11$	$\pm 4,77$	$\pm 16,03$	$\pm 10,12$	$\pm 24,13$	$\pm 23,25^*$	$\pm 8,96$	$\pm 11,04^*$	$\pm 11,63$	$\pm 18,17^*$	$\pm 9,97$	$\pm 26,14^*$
Епіфіз	відносна площа губчастої кісткової тканини, %	18,50	18,34	18,76	18,57	19,21	18,83	20,39	19,74	20,83	19,97	21,06	20,18
		$\pm 3,22$	$\pm 2,48$	$\pm 2,67$	$\pm 2,81$	$\pm 2,40$	$\pm 1,28$	$\pm 3,51$	$\pm 0,79^*$	$\pm 2,47$	$\pm 3,14^*$	$\pm 2,19$	$\pm 3,80^*$
	ширина кісткових трабекул, мкм	55,96	55,72	56,43	55,88	56,73	55,97	57,64	56,71	57,94	56,90	58,39	57,24
		$\pm 1,85$	$\pm 2,12$	$\pm 1,28$	$\pm 2,52$	$\pm 2,27$	$\pm 2,33^*$	$\pm 1,66$	$\pm 2,90^*$	$\pm 2,87$	$\pm 3,41^*$	$\pm 1,19$	$\pm 3,03^*$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.4.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки біомеханічних показників ($M \pm m$) діафіза стегнової та плечової кісток щурів зрілого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Межа міцності на стиснення, МПа	145,4	145	144,0	143,4	144,0	142,7	143,5	142,1	142,6	141,3	140,3	138,7
	$\pm 0,41$	$\pm 0,74$	$\pm 0,83$	$\pm 0,27$	$\pm 1,33$	$\pm 0,66$	$\pm 0,38$	$\pm 0,47^{**}$	$\pm 0,61$	$\pm 0,22^{**}$	$\pm 0,23$	$\pm 0,29^{**}$
Навантаження при стисненні, Н	506,12	467,74	496,38	460,30	491,59	455,10	485,06	446,19	479,10	436,74	467,16	420,21
	$\pm 0,25$	$\pm 10,90^*$ *	$\pm 0,32$	$\pm 12,20^{**}$	$\pm 0,30$	$\pm 12,30^{**}$	$\pm 0,33$	$\pm 12,20^*$ *	$\pm 0,22$	$\pm 12,20^{**}$	$\pm 0,26$	$\pm 12,30^{**}$
Площа поперечного перерізу, мм	3,48	3,22	3,44	3,21	3,41	3,19	3,38	3,14	3,36	3,09	3,33	3,03
	$\pm 0,38$	$\pm 0,13$	$\pm 0,16$	$\pm 0,11^*$	$\pm 0,31$	$\pm 0,28$	$\pm 0,26$	$\pm 0,17$	$\pm 0,19$	$\pm 0,11^*$	$\pm 0,17$	$\pm 0,23^*$
Плечова кістка												
Межа міцності на стиснення, МПа	138,4	134,5	137,2	133,7	136,9	132,2	136,0	131,5	135,1	130,6	134,5	129,3
	$\pm 0,41$	$\pm 2,84^*$	$\pm 2,64$	$\pm 0,66^*$	$\pm 2,91$	$\pm 0,12^*$	$\pm 3,12$	$\pm 0,38^*$	$\pm 2,92$	$\pm 0,61^*$	$\pm 0,49$	$\pm 2,74^{**}$
Навантаження при стисненні, Н	448,36	430,29	440,56	421,42	435,31	408,64	428,12	394,53	420,26	380,17	415,71	364,76
	$\pm 12,77$	$\pm 6,45^*$	$\pm 0,37$	$\pm 6,51^{**}$	$\pm 6,44$	$\pm 5,20^{**}$	$\pm 0,19$	$\pm 8,96^{**}$	$\pm 9,63$	$\pm 0,22^{**}$	$\pm 9,89$	$\pm 0,38^{**}$
Площа поперечного перерізу, мм	3,24	3,20	3,21	3,15	3,18	3,09	3,14	3,0	3,11	2,91	3,09	2,82
	$\pm 0,13$	$\pm 0,36$	$\pm 0,38$	$\pm 0,25$	$\pm 0,28$	$\pm 0,09$	$\pm 0,17$	$\pm 0,20$	$\pm 0,06$	$\pm 0,25$	$\pm 0,09$	$\pm 0,21^*$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.4.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки біомеханічних показників ($M \pm m$) дистального епіфіза стегнової та плечової кісток щурів зрілого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Межа міцності на стиснення, мПа	78,0	77,2	77,1	75,5	76,7	75,0	75,7	74,5	74,6	73,2	73,8	72,7
	$\pm 0,36$	$\pm 0,44^*$	$\pm 0,37$	$\pm 0,50^{**}$	$\pm 0,45$	$\pm 0,20^{**}$	$\pm 0,45$	$\pm 0,26^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,44^{**}$	$\pm 0,38$	$\pm 0,45^{**}$
Навантаження при стисненні, Н	346,78	310,38	339,27	302,2	334,55	297,04	328,66	293,51	320,74	290,74	314,23	276,12
	$\pm 9,10$	$\pm 0,22^*$	$\pm 2,63$	$\pm 0,25^{**}$	$\pm 6,52$	$\pm 0,23^{**}$	$\pm 6,55$	$\pm 0,24^{**}$	$\pm 6,47$	$\pm 6,67^{**}$	$\pm 6,51$	$\pm 3,53^{**}$
Площа поперечного перерізу, мм	4,43	4,02	4,40	4,0	4,36	3,96	4,34	3,94	4,30	3,97	4,26	3,80
	$\pm 0,40$	$\pm 0,24$	$\pm 0,42$	$\pm 0,31$	$\pm 0,58$	$\pm 0,15$	$\pm 0,59$	$\pm 0,14$	$\pm 0,51$	$\pm 0,16$	$\pm 0,26$	$\pm 0,46$
Плечова кістка												
Межа міцності на стиснення, мПа	65,5	64,8	64,5	63,5	64,0	62,8	63,6	61,8	63,0	61,3	62,6	60,0
	$\pm 0,30$	$\pm 0,38^*$	$\pm 0,15$	$\pm 0,77^*$	$\pm 0,20$	$\pm 0,84^*$	$\pm 0,28$	$\pm 0,84^{**}$	$\pm 1,45$	$\pm 0,34^*$	$\pm 1,50$	$\pm 0,28^*$
Навантаження при стисненні, Н	276,52	246,77	271,16	240,23	267,36	235,51	263,37	230,48	258,21	226,09	254,81	220,51
	$\pm 0,25$	$\pm 6,53^*$	$\pm 0,29$	$\pm 6,43^{**}$	$\pm 4,54$	$\pm 6,50^{**}$	$\pm 4,52$	$\pm 6,51^{**}$	$\pm 0,33$	$\pm 6,57^{**}$	$\pm 6,61$	$\pm 6,52^{**}$
Площа поперечного перерізу, мм	4,22	3,81	4,20	3,78	4,17	3,75	4,14	3,73	4,10	3,70	4,07	3,66
	$\pm 0,19$	$\pm 0,44$	$\pm 0,38$	$\pm 0,42$	$\pm 0,46$	$\pm 0,41$	$\pm 0,46$	$\pm 0,41$	$\pm 0,12$	$\pm 0,39^*$	$\pm 0,26$	$\pm 0,43$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.5.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) показників хімічного складу діафіза стегнової та плечової кісток щурів зрілого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
	Стегнова кістка											
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Са, мкг/г	2676,3	2570,77	2643,42	2436,70	2610,51	2390,19	2581,34	2329,41	2558,61	2290,36	2507,32	2030,12
	±0,19	±0,63*	±0,25	±0,64**	±0,65	±0,67**	±0,64	±0,62**	±0,67	±0,66**	±0,63	±0,64**
Р, мкг/г	869,40	851,60	867,17	832,54	860,23	823,20	853,42	813,71	845,56	803,72	829,32	786,47
	±5,87	±6,55**	±10,31	±6,57**	±10,23	±6,40**	±10,94	±6,53**	±9,74	±6,55**	±10,94	±6,54**
H ₂ O, %	27,06	26,63	26,73	26,19	26,4	25,63	26,12	25,06	25,74	24,5	25,26	23,94
	±0,22	±0,26*	±0,36	±0,28*	±0,18	±0,34**	±0,29	±0,21**	±0,37	±0,35**	±0,18	±0,49**
Сц, мкг/г	56,17	55,28	55,85	55,14	55,63	54,72	55,36	54,15	54,65	53,26	54,36	52,12
	±0,42	±0,20**	±0,25	±0,57*	±0,27	±0,68*	±0,30	±0,56**	±0,39	±0,45**	±0,47	±0,72**
Zn, мкг/г	7,14	6,94	7,12	6,91	7,10	6,87	7,07	6,85	7,05	6,82	7,04	6,80
	±0,13	±0,33	±0,14	±0,35	±0,24	±0,33	±0,23	±0,39	±0,26	±0,38	±0,28	±0,39
Плечова кістка												
Са, мкг/г	2445,26	2351,31	2421,15	2250,23	2391,48	2198,80	2364,41	2137,41	2330,61	2110,2	2284,34	2050,24
	±0,17	±0,63*	±0,09	±0,68**	±0,31	±0,64**	±0,68	±0,66**	±0,63	±0,65**	±0,68	±0,69**
Р, мкг/г	796,18	768,74	787,67	753,21	785,41	746,20	780,43	737,42	774,12	728,47	760,58	711,74
	±3,85	±11,64**	±6,56	±12,88**	±6,55	±12,87**	±6,57	±12,85**	±6,47	±12,82**	±6,55	±12,88**
H ₂ O, %	26,17	25,19	25,86	24,76	25,53	24,22	25,26	23,66	24,87	23,2	24,47	22,73
	±0,52	±0,10**	±0,51	±0,16**	±0,25	±0,92*	±0,38	±0,85*	±0,24	±0,88**	±0,26	±0,73**
Сц, мкг/г	53,81	52,16	53,74	51,93	53,46	51,74	53,18	51,26	52,56	50,43	52,10	49,12
	±0,53	±0,46**	±0,16	±0,96**	±0,24	±0,78**	±0,32	±0,81**	±0,88	±0,30**	±0,21	±0,87**
Zn, мкг/г	6,3	6,19	6,28	6,17	6,26	6,14	6,24	6,12	6,22	6,10	6,21	6,08
	±0,23	±0,33	±0,25	±0,26	±0,21	±0,30	±0,19	±0,28	±0,33	±0,28	±0,32	±0,28

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця Б.5.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) показників хімічного складу дистального епіфіза стегнової та плечової кісток шурів зрілого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
	Стегнова кістка											
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Са, мкг/Г	2430,11	2343,51	2391,70	2220,34	2350,21	2170,76	2320,14	2108,12	2181,43	2071,62	2237,18	2003,70
	±0,18	±0,68*	±0,25	±0,64**	±0,25	±0,63**	±0,65	±0,62**	±0,60	±0,65**	±0,63	±0,67**
Р, мкг/Г	861,52	743,67	856,34	730,12	848,17	719,34	839,32	703,31	826,45	693,21	809,43	674,36
	±19,19	±15,48**	±19,15	±12,80**	±19,25	±19,16**	±19,14	±19,12**	±19,15	±19,24**	±19,14	±19,13**
H ₂ O, %	33,15	32,86	32,56	32,24	32,06	31,46	31,61	30,53	31,26	29,54	30,65	28,76
	±0,16	±0,21*	±0,29	±0,24*	±0,28	±0,30*	±0,25	±0,24**	±0,63	±0,31**	±0,40	±0,42**
Сu, мкг/Г	58,2	54,87	57,82	54,73	57,46	54,66	57,19	53,80	56,52	52,81	56,14	51,31
	±0,70	±1,13**	±0,53	±0,85**	±0,84	±0,67**	±0,94	±0,81**	±0,86	±0,82**	±0,85	±1,0**
Zn, мкг/Г	7,84	7,68	7,80	7,64	7,76	7,59	7,72	7,54	7,68	7,48	7,65	7,42
	±0,34	±0,28	±0,35	±0,33	±0,35	±0,28	±0,41	±0,32	±0,29	±0,32	±0,34	±0,26
Плечова кістка												
Са, мкг/Г	2243,19	2146,35	2208,37	2031,77	2170,56	1986,14	2140,3	1925,63	2106,43	1892,47	2061,15	1833,26
	±0,33	±0,63*	±0,64	±0,44**	±0,45	±0,65**	±0,62	±0,63**	±0,61	±0,65**	±0,60	±0,67**
Р, мкг/Г	796,3	663,24	788,41	651,27	779,17	642,04	771,44	626,50	760,31	618,12	746,42	599,67
	±0,25	±0,24**	±0,22	±0,31**	±0,38	±0,25**	±0,44	±0,16**	±0,38	±0,10**	±0,25	±0,32**
H ₂ O, %	32,3	31,53	31,79	30,91	31,29	30,23	30,9	29,31	30,51	28,43	29,86	27,69
	±0,22	±0,24**	±0,14	±0,35**	±0,22	±0,30**	±0,34	±0,44**	±0,24	±0,55**	±0,53	±0,36**
Сu, мкг/Г	56,52	53,41	56,18	53,3	55,57	53,16	55,3	52,25	54,62	51,36	54,2	49,92
	±0,58	±0,88**	±0,70	±0,84**	±0,87	±0,88**	±0,85	±0,83**	±0,90	±0,86**	±0,91	±0,96**
Zn, мкг/Г	7,1	6,92	7,06	6,88	7,02	6,83	6,98	6,78	6,95	6,74	6,93	6,70
	±0,13	±0,36	±0,15	±0,33	±0,19	±0,37	±0,41	±0,16	±0,34	±0,21	±0,35	±0,11

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

ДОДАТОК В
Дані варіаційно-статистичної обробки результатів дослідження експериментальної серії
щурів старечого віку

Таблиця В.1 – Маса тіла та показники вуглеводного обміну в крові щурів старечого віку в динаміці експерименту (n = 6)

Доба експерименту	Експериментальна серія			Серія контролю		
	вага тварин, г	показники глюкози, ммоль/л	НbA1c, %	вага тварин, г	показники глюкози, ммоль/л	НbA1c, %
2-га	(168,10 ± 0,10)	(22,1 ± 2,35)**	(6,60 ± 0,12)	(210,05 ± 0,11)	(6,0 ± 1,20)	(3,90 ± 0,10)
30-га	(178,08 ± 7,84)**	(22,4 ± 3,10)**	(6,5 ± 0,45)**	(220,32 ± 8,79)	(6,5 ± 1,53)	(4,0 ± 0,45)
60-га	(188,2 ± 7,07)**	(15,9 ± 2,74)**	(7,04 ± 0,12)**	(224,9 ± 8,48)	(6,5 ± 1,34)	(4,02 ± 0,50)
90-га	(214,3 ± 6,39)**	(12,3 ± 1,92)**	(8,22 ± 0,27)**	(226,6 ± 0,77)	(5,0 ± 1,25)	(4,32 ± 0,65)
120-га	(219,5 ± 1,21)**	(11,4 ± 1,51)**	(9,1 ± 0,72)**	(228,5 ± 0,85)	(6,5 ± 1,30)	(4,02 ± 0,49)
150-га	(221,4 ± 0,99)**	(11,07 ± 1,31)**	(9,32 ± 0,63)**	(229,41 ± 0,82)	(6,6 ± 1,33)	(4,12 ± 0,54)
180-га	(223,02 ± 0,96)**	(11,3 ± 2,13)**	(9,62 ± 0,64)**	(229,63 ± 0,7)	(6,7 ± 1,55)	(4,11 ± 0,55)

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В.1.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) імуногістохімічного дослідження кісток щурів старечого віку ($n = 6$)

Доба експерименту	Остеопонтин				RANKL			
	відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин		відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин	
Діафіз, %	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
30-та	16,21	15,06	++	+	24,33	26,58	++	+++
	±1,39	±1,48			±1,53	±1,40		
60-та	16,14	14,92	++	+	24,54	26,73	++	+++
	±1,35	±1,64			±1,40	±1,32		
90-та	16,08	14,73	+	+	24,70	26,92	++	+++
	±1,36	±1,68			±0,87	±0,76		
120-та	15,92	14,51	+	+	24,92	27,50	+++	+++
	±1,61	±1,49			±2,10	±1,45		
150-та	15,73	14,22	+	+	25,28	27,87	+++	+++
	±2,50	±1,41			±1,50	±2,54		
180-та	15,26	14,13	+	+	25,50	28,16	+++	+++
	±1,13	±1,45			±0,74	±1,56		

Продовження таблиці В.1.2

Доба експерименту	Остеопонтин				RANKL			
	відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин		відсоток позитивно забарвлених клітин		інтенсивність позитивно забарвлених клітин	
Епіфіз, %	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
30-та	19,10	17,26	++	+	25,98	28,61	++	+++
	±1,41	±1,44*			±1,49	±1,64*		
60-та	19,05	17,11	++	+	26,10	28,95	++	+++
	±1,60	±1,60			±1,55	±1,55*		
90-та	18,88	16,90	+	+	26,30	29,36	++	+++
	±1,42	±1,69			±1,38	±2,16**		
120-та	18,64	16,53	+	+	26,70	29,74	+++	+++
	±1,58	±1,47*			±1,56	±1,63*		
150-та	18,31	16,20	+	+	26,91	29,97	+++	+++
	±1,96	±1,40			±1,50	±2,17		
180-та	18,12	16,02	+	+	27,33	30,38	+++	+++
	±1,59	±1,42*			±1,43	±1,77*		

Примітка. Показники подані як Mean ± SD (Standard Deviation); *p < 0,05; **p < 0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В. 2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) остеометрії кісток скелета щурів старечого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
МДК, мм	37,16	34,12	37,37	34,30	37,43	34,41	38,16	35,10	38,63	35,48	39,87	36,23
	±0,89	±1,11**	±1,05	±0,71**	±0,91	±1,22**	±1,0	±1,10**	±1,61	±0,98**	±1,34	±0,75**
ШПЕ, мм	4,31	4,15	4,37	4,20	4,42	4,25	4,46	4,31	4,53	4,37	4,59	4,36
	±0,32	±0,24	±0,66	±0,21	±0,68	±0,29	±0,65	±0,32	±0,27	±0,37	±0,34	±0,41
ШДЕ, мм	4,96	4,80	5,04	4,84	5,10	4,90	5,16	4,94	5,21	4,98	5,29	5,04
	±0,31	±0,33	±0,24	±0,26	±0,33	±0,18	±0,23	±0,20	±0,23	±0,29	±0,32	±0,47
ШСД, мм	3,21	3,12	3,23	3,14	3,27	3,17	3,30	3,20	3,32	3,21	3,35	3,23
	±0,34	±0,31	±0,20	±0,29	±0,25	±0,33	±0,32	±0,32	±0,95	±0,83	±0,39	±0,33
Плечова кістка												
МДК, мм	23,71	22,96	23,86	23,07	23,91	23,14	24,28	23,60	24,61	23,86	25,37	24,40
	±0,34	±0,15**	±0,40	±0,57*	±0,33	±0,30*	±0,29	±0,30*	±0,31	±0,40*	±0,41	±0,38*
ШПЕ, мм	3,94	3,78	3,96	3,80	3,98	3,84	4,05	3,87	4,12	3,94	4,19	3,98
	±0,32	±0,57	±0,31	±0,33	±0,31	±0,26	±0,25	±0,27	±0,19	±0,34	±0,33	±0,32
ШДЕ, мм	4,88	4,66	4,97	4,69	5,03	4,72	5,09	4,79	5,14	4,83	5,19	4,91
	±0,30	±0,29	±0,31	±0,23	±0,22	±0,33	±0,32	±0,33	±0,39	±0,26	±0,25	±0,19
ШСД, мм	2,13	2,04	2,14	2,05	2,17	2,07	2,19	2,09	2,20	2,10	2,22	2,11
	±0,31	±0,23	±0,29	±0,26	±0,33	±0,28	±0,34	±0,30	±0,32	±0,26	±0,33	±0,27

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В. 3.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) морфометрії стегнової кістки щурів старечого віку ($n = 6$)

Показник / діб		30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
		К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Діафіз	діаметр остеона, мкм	31,86	32,40	32,09	32,60	32,20	32,68	32,42	32,86	32,68	33,08*	32,90	33,35
		±0,87	±0,59	±0,45	±0,66	±0,31	±0,90	±0,55	±0,73	±0,25	±0,20	±0,52	±0,92
	діаметр каналу остеона, мкм	13,42	13,72	13,56	13,89	13,64	14,02	13,72	14,15	13,91	14,51	14,04	15,23
		±0,37	±0,45	±0,21	±0,36	±0,31	±0,35	±0,33	±0,34*	±0,32	±0,21*	±0,26	±0,29**
Наростковий хрящ	об'єм загальної спонгіози, %	24,35	23,95	24,18	23,51	23,84	23,08	23,46	22,31	22,85	21,20	22,46	20,73
		±0,27	±0,53	±0,19	±0,45*	±0,56	±0,49*	±0,66	±0,31*	±0,42	±0,46**	±0,32	±0,43**
	ширина епіфізарного хряща, мкм	242,54	210,46	242,16	210,43	241,76	205,78	241,31	197,26	240,63	194,45	239,34	190,31
		±0,31	±5,92**	±6,71	±0,42**	±6,65	±3,59**	±0,46	±6,57**	±0,35	±6,59**	±0,52	±6,57**
Епіфіз	відносна площа губчастої кісткової тканини, %	22,91	22,74	22,50	22,21	22,11	21,80	21,75	21,33	21,05	20,29	20,51	19,27
		±0,49	±0,51	±0,65	±0,37	±0,18	±0,33	±0,28	±0,27*	±0,35	±0,43*	±0,25	±0,25**
	ширина кісткових трабекул, мкм	67,05	66,28	66,97	66,09	66,85	65,89	66,74	65,69	66,64	65,35	66,31	64,93
		±0,26	±0,38*	±0,42	±0,37*	±0,33	±0,35**	±0,36	±0,36**	±0,29	±0,37**	±0,37	±0,39**

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В.3.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) морфометрії плечової кістки щурів старечого віку ($n = 6$)

Показник / діб		30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
		К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Діафіз	діаметр остеона, мкм	28,02	28,31	28,20	28,45	28,31	28,53	28,53	28,70	28,77	28,90	29,04	29,22
		$\pm 0,35$	$\pm 0,21$	$\pm 0,30$	$\pm 0,28$	$\pm 0,24$	$\pm 0,16$	$\pm 0,24$	$\pm 0,84$	$\pm 0,24$	$\pm 0,24$	$\pm 0,33$	$\pm 1,04$
	діаметр каналу остеона, мкм	11,30	11,56	11,42	11,70	11,50	11,80	11,58	11,97	11,77	12,4	9,98	13,02
		$\pm 0,32$	$\pm 0,32$	$\pm 0,48$	$\pm 0,36$	$\pm 0,36$	$\pm 0,33$	$\pm 0,14$	$\pm 0,52$	$\pm 0,46$	$\pm 0,27^*$	$\pm 0,93$	$\pm 0,34^{**}$
Наростковий хрящ	об'єм загальної спонгіози, %	25,28	24,94	24,96	24,49	24,6	24,06	24,2	23,34	23,67	22,26	23,44	21,73
		$\pm 0,34$	$\pm 0,49$	$\pm 0,53$	$\pm 0,26$	$\pm 0,44$	$\pm 0,28^*$	$\pm 0,39$	$\pm 0,36^*$	$\pm 0,25$	$\pm 0,34^{**}$	$\pm 0,32$	$\pm 0,26^{**}$
	ширина епіфізарного хряща, мкм	225,17	213,32	224,03	207,30	224,59	203,34	223,74	194,10	222,76	192,14	222,04	188,16
		$\pm 8,33$	$\pm 0,43^*$	$\pm 6,59$	$\pm 0,30^{**}$	$\pm 6,73$	$\pm 1,57^{**}$	$\pm 6,63$	$\pm 6,81^{**}$	$\pm 6,56$	$\pm 6,68^{**}$	$\pm 6,80$	$\pm 6,50^{**}$
Епіфіз	відносна площа губчастої кісткової тканини, %	20,96	19,85	20,53	19,35	20,14	18,97	19,78	18,52	19,1	17,63	18,72	16,81
		$\pm 0,20$	$\pm 0,20$	$\pm 0,95$	$\pm 0,98$	$\pm 1,20$	$\pm 0,84$	$\pm 0,33$	$\pm 0,87^*$	$\pm 0,17$	$\pm 0,87^*$	$\pm 0,30$	$\pm 0,35^{**}$
	ширина кісткових трабекул, мкм	57,63	56,87	57,54	56,7	57,44	56,53	57,31	56,37	57,2	56,08	57,04	55,67
		$\pm 0,29$	$\pm 0,35^*$	$\pm 0,37$	$\pm 0,51^*$	$\pm 0,34$	$\pm 0,41^*$	$\pm 0,28$	$\pm 0,18^{**}$	$\pm 0,11$	$\pm 0,42^{**}$	$\pm 0,40$	$\pm 0,25^{**}$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В.4.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки біомеханічних показників ($M \pm m$) діафіза стегнової та плечової кісток експериментальних щурів старечого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Межа міцності на стиснення, МПа	145,0	144,5	144,7	142,7	144,4	140,4	144,0	137,8	143,5	135,2	142,7	133,1
	$\pm 0,74$	$\pm 1,10^*$	$\pm 0,29$	$\pm 0,66^{**}$	$\pm 0,27$	$\pm 3,44^*$	$\pm 1,33$	$\pm 3,41^*$	$\pm 0,38$	$\pm 3,62^{**}$	$\pm 0,66$	$\pm 4,18^{**}$
Навантаження при стисненні, Н	484,46	476,92	480,51	465,46	476,77	453,64	470,93	442,32	465,06	431,18	458,20	420,56
	$\pm 0,46$	$\pm 12,95$	$\pm 6,14$	$\pm 13,0^*$	$\pm 6,57$	$\pm 13,25^*$	$\pm 0,37$	$\pm 12,83^{**}$	$\pm 0,29$	$\pm 13,06^{**}$	$\pm 3,58$	$\pm 6,80^{**}$
Площа поперечного перерізу, мм	3,34	3,30	3,32	3,26	3,30	3,23	3,27	3,21	3,24	3,19	3,21	3,16
	$\pm 0,17$	$\pm 0,23$	$\pm 0,18$	$\pm 0,17$	$\pm 0,24$	$\pm 0,16$	$\pm 0,19$	$\pm 0,37$	$\pm 0,14$	$\pm 0,28$	$\pm 0,42$	$\pm 0,26$
Плечова кістка												
Межа міцності на стиснення, МПа	138,1	134,0	137,8	131,0	136,6	128,7	136,0	126,0	135,7	125,0	135,0	123,4
	$\pm 3,61$	$\pm 0,75^*$	$\pm 0,85$	$\pm 3,35^{**}$	$\pm 0,42$	$\pm 4,94^*$	$\pm 0,24$	$\pm 4,68^{**}$	$\pm 0,66$	$\pm 5,31^{**}$	$\pm 0,30$	$\pm 5,33^{**}$
Навантаження при стисненні, Н	428,10	409,78	424,34	398,21	418,04	387,36	413,48	376,74	408,53	370,10	400,63	360,30
	$\pm 12,94$	$\pm 17,03$	$\pm 19,15$	$\pm 23,82$	$\pm 0,24$	$\pm 19,18^*$	$\pm 0,49$	$\pm 19,22^{**}$	$\pm 0,33$	$\pm 12,94^{**}$	$\pm 0,37$	$\pm 12,90^*$
Площа поперечного перерізу, мм	3,10	3,06	3,08	3,04	3,06	3,01	3,04	2,99	3,01	2,96	2,97	2,92
	$\pm 0,06$	$\pm 0,17$	$\pm 0,19$	$\pm 0,21$	$\pm 0,23$	$\pm 0,21$	$\pm 0,26$	$\pm 0,22$	$\pm 0,27$	$\pm 0,19$	$\pm 0,20$	$\pm 0,26$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В.4.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки біомеханічних показників ($M \pm m$) дистального епіфіза стегнової та плечової кісток експериментальних щурів старечого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
Стегнова кістка												
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Межа міцності на стиснення, МПа	77,0	75,4	76,0	74,3	75,3	73,3	74,7	71,6	73,6	70,1	72,8	68,6
	$\pm 0,38$	$\pm 0,45^{**}$	$\pm 0,20$	$\pm 0,79^{**}$	$\pm 0,66$	$\pm 1,10^*$	$\pm 0,45$	$\pm 0,88^{**}$	$\pm 0,30$	$\pm 1,59^{**}$	$\pm 1,68$	$\pm 0,28^{**}$
Навантаження при стисненні, Н	320,12	310,64	314,48	304,73	310,37	297,68	306,54	288,56	299,69	280,25	293,31	273,14
	$\pm 0,42$	$\pm 6,63^*$	$\pm 0,48$	$\pm 0,30^*$	$\pm 0,21$	$\pm 6,66^{**}$	$\pm 4,0$	$\pm 6,54^{**}$	$\pm 6,04$	$\pm 6,50^{**}$	$\pm 6,60$	$\pm 6,67^{**}$
Площа поперечного перерізу, мм	4,16	4,12	4,14	4,10	4,12	4,06	4,10	4,03	4,07	4,0	4,03	3,98
	$\pm 0,24$	$\pm 0,16$	$\pm 0,39$	$\pm 0,12$	$\pm 0,19$	$\pm 0,30$	$\pm 0,16$	$\pm 0,23$	$\pm 0,33$	$\pm 0,19$	$\pm 0,28$	$\pm 0,19$
Плечова кістка												
Межа міцності на стиснення, МПа	74,3	73,8	73,1	72,0	72,5	70,0	71,0	68,5	70,1	67,2	68,7	66,2
	$\pm 0,23$	$\pm 0,39^*$	$\pm 0,38$	$\pm 0,38^{**}$	$\pm 0,43$	$\pm 1,01^{**}$	$\pm 0,48$	$\pm 0,87^{**}$	$\pm 0,56$	$\pm 1,63^*$	$\pm 0,38$	$\pm 1,63^*$
Навантаження при стисненні, Н	294,36	273,71	288,47	265,64	283,57	256,52	274,96	247,97	269,76	241,35	262,47	235,22
	$\pm 0,20$	$\pm 6,57^{**}$	$\pm 4,89$	$\pm 6,30^{**}$	$\pm 0,29$	$\pm 6,54^{**}$	$\pm 0,31$	$\pm 6,61^{**}$	$\pm 0,29$	$\pm 6,50^{**}$	$\pm 0,46$	$\pm 6,48^{**}$
Площа поперечного перерізу, мм	3,96	3,71	3,94	3,69	3,91	3,66	3,88	3,62	3,85	3,59	3,82	3,55
	$\pm 0,16$	$\pm 0,43$	$\pm 0,14$	$\pm 0,46$	$\pm 0,15$	$\pm 0,41$	$\pm 0,39$	$\pm 0,36$	$\pm 0,42$	$\pm 0,39$	$\pm 0,40$	$\pm 0,37$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В.5.1 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) показників хімічного складу діафіза стегнової та плечової кісток експериментальних щурів старечого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
	Стегнова кістка											
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Са, мкг/Г	2406,40	2302,04	2391,27	2276,62	2342,38	2217,34	2291,36	2160,26	2254,09	2114,78	2220,30	2020,14
	$\pm 0,27$	$\pm 0,63^*$	$\pm 0,21$	$\pm 0,64^{**}$	$\pm 0,24$	$\pm 0,62^{**}$	$\pm 0,19$	$\pm 0,61^{**}$	$\pm 0,37$	$\pm 0,63^{**}$	$\pm 0,34$	$\pm 0,21^{**}$
Р, мкг/Г	822,33	805,26	819,22	796,43	815,34	784,71	810,45	772,64	804,2	765,32	799,21	758,70
	$\pm 12,78$	$\pm 0,25^*$	$\pm 0,21$	$\pm 12,81^*$	$\pm 0,17$	$\pm 13,48^{**}$	$\pm 0,25$	$\pm 19,17^{**}$	$\pm 0,21$	$\pm 19,16^{**}$	$\pm 0,12$	$\pm 19,17^{**}$
H ₂ O, %	23,76	22,16	23,52	21,83	23,17	21,42	22,84	20,88	22,53	20,36	22,17	19,78
	$\pm 0,48$	$\pm 0,53^{**}$	$\pm 0,24$	$\pm 0,87^{**}$	$\pm 0,46$	$\pm 0,86^{**}$	$\pm 0,84$	$\pm 0,56^{**}$	$\pm 0,87$	$\pm 0,54^{**}$	$\pm 0,53$	$\pm 0,88^{**}$
Сu, мкг/Г	54,16	53,22	54,12	53,04	54,04	52,87	53,84	52,56	53,56	52,2	53,28	51,78
	$\pm 0,10$	$\pm 0,46^{**}$	$\pm 0,15$	$\pm 0,41^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,42^{**}$	$\pm 0,52$	$\pm 0,27^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,61^{**}$	$\pm 0,11$	$\pm 0,86^*$
Zn, мкг/Г	6,54	6,35	6,53	6,33	6,52	6,30	6,51	6,27	6,50	6,24	6,49	6,20
	$\pm 0,25$	$\pm 0,24$	$\pm 0,26$	$\pm 0,22$	$\pm 0,28$	$\pm 0,27$	$\pm 0,29$	$\pm 0,32$	$\pm 0,29$	$\pm 0,32$	$\pm 0,27$	$\pm 0,31$
Плечова кістка												
Са, мкг/Г	2182,61	2034,57	2168,28	2010,26	2123,54	1960,34	2078,60	1911,32	2034,64	1872,74	2004,45	1784,31
	$\pm 0,60$	$\pm 0,24^{**}$	$\pm 0,69$	$\pm 0,28^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,95^*$	$\pm 0,38$	$\pm 0,63^{**}$	$\pm 0,27$	$\pm 0,10^*$	$\pm 0,31$	$\pm 0,95^{**}$
Р, мкг/Г	752,46	750,07	749,31	742,29	745,34	731,53	740,34	720,41	734,21	712,78	728,63	706,14
	$\pm 0,26$	$\pm 1,41^*$	$\pm 5,86$	$\pm 0,21^*$	$\pm 1,50$	$\pm 6,55^{**}$	$\pm 3,38$	$\pm 6,52^{**}$	$\pm 0,29$	$\pm 6,57^{**}$	$\pm 11,52$	$\pm 0,25^{**}$
H ₂ O, %	22,43	21,68	22,2	21,36	21,87	20,89	21,55	20,38	21,3	19,87	21,04	19,31
	$\pm 0,23$	$\pm 0,19^{**}$	$\pm 0,16$	$\pm 0,36^{**}$	$\pm 0,30$	$\pm 0,31^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,38^{**}$	$\pm 0,20$	$\pm 0,54^{**}$	$\pm 0,60$	$\pm 0,39^{**}$
Сu, мкг/Г	50,21	49,32	50,17	49,14	50,09	48,97	49,90	48,66	49,62	48,30	49,33	48,02
	$\pm 0,14$	$\pm 0,81^*$	$\pm 0,17$	$\pm 0,80^*$	$\pm 0,18$	$\pm 0,90^*$	$\pm 0,28$	$\pm 0,84^*$	$\pm 0,23$	$\pm 0,80^*$	$\pm 0,20$	$\pm 0,78^*$
Zn, мкг/Г	6,06	5,87	6,05	5,85	6,04	5,83	6,02	5,80	6,0	5,77	5,99	5,74
	$\pm 0,14$	$\pm 0,28$	$\pm 0,16$	$\pm 0,25$	$\pm 0,18$	$\pm 0,28$	$\pm 0,20$	$\pm 0,31$	$\pm 0,24$	$\pm 0,32$	$\pm 0,24$	$\pm 0,35$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

Таблиця В.5.2 – Дані варіаційно-статистичної обробки ($M \pm m$) показників хімічного складу дистального епіфіза стегнової та плечової кісток експериментальних щурів старечого віку ($n = 6$)

Показник / діб	30 діб		60 діб		90 діб		120 діб		150 діб		180 діб	
	Стегнова кістка											
	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е	К	Е
Са, мкг/Г	2091,71	1914,62	2075,24	1890,45	2028,15	1836,32	1987,46	1781,44	1948,54	1746,11	1914,27	1662,34
	$\pm 0,31$	$\pm 0,63^{**}$	$\pm 0,38$	$\pm 0,67^{**}$	$\pm 0,44$	$\pm 0,46^{**}$	$\pm 0,64$	$\pm 0,40^{**}$	$\pm 0,65$	$\pm 0,62^{**}$	$\pm 0,68$	$\pm 0,66^{**}$
Р, мкг/Г	791,64	769,31	785,30	775,26	779,31	767,12	772,24	741,58	765,32	720,39	760,20	708,32
	$\pm 0,24$	$\pm 12,20^{**}$	$\pm 0,18$	$\pm 9,61^*$	$\pm 0,28$	$\pm 10,32^*$	$\pm 0,18$	$\pm 13,47^{**}$	$\pm 6,51$	$\pm 12,88^{**}$	$\pm 19,04$	$\pm 0,20^{**}$
H ₂ O, %	27,47	26,65	27,06	26,16	26,53	25,52	26,08	24,79	25,66	24,03	25,17	23,10
	$\pm 0,30$	$\pm 0,28^{**}$	$\pm 0,26$	$\pm 0,26^{**}$	$\pm 0,36$	$\pm 0,34^{**}$	$\pm 0,47$	$\pm 0,35^{**}$	$\pm 0,30$	$\pm 0,57^{**}$	$\pm 0,22$	$\pm 0,81^{**}$
Сu, мкг/Г	56,02	54,64	55,95	54,46	55,87	53,97	55,53	53,50	55,13	52,96	54,73	52,43
	$\pm 0,20$	$\pm 0,76^*$	$\pm 0,37$	$\pm 0,83^*$	$\pm 0,22$	$\pm 0,95^{**}$	$\pm 0,25$	$\pm 0,88^{**}$	$\pm 0,23$	$\pm 0,94^{**}$	$\pm 0,16$	$\pm 0,86^{**}$
Zn, мкг/Г	6,44	6,25	6,42	6,21	6,40	6,18	6,38	6,15	6,36	6,12	6,34	6,08
	$\pm 0,36$	$\pm 0,26$	$\pm 0,42$	$\pm 0,28$	$\pm 0,30$	$\pm 0,33$	$\pm 0,28$	$\pm 0,19$	$\pm 0,34$	$\pm 0,23$	$\pm 0,31$	$\pm 0,17$
Плечова кістка												
Са, мкг/Г	1976,20	1876,17	1960,19	1852,31	1913,45	1798,34	1872,44	1741,30	1833,25	1706,12	1796,41	1620,46
	$\pm 0,53$	$\pm 0,66^*$	$\pm 0,37$	$\pm 0,63^*$	$\pm 0,16$	$\pm 0,64^{**}$	$\pm 0,26$	$\pm 0,60^{**}$	$\pm 0,28$	$\pm 0,44^{**}$	$\pm 0,25$	$\pm 0,47^{**}$
Р, мкг/Г	752,16	729,54	747,54	718,56	741,67	710,50	735,12	696,21	728,51	685,34	723,31	674,10
	$\pm 0,59$	$\pm 12,89^*$	$\pm 12,95$	$\pm 0,37^{**}$	$\pm 19,26$	$\pm 0,23^{**}$	$\pm 19,17$	$\pm 0,28^{**}$	$\pm 0,25$	$\pm 0,26^{**}$	$\pm 0,29$	$\pm 0,24^{**}$
H ₂ O, %	22,36	20,41	22,03	20,03	21,59	19,56	21,20	18,99	20,85	18,40	20,45	17,68
	$\pm 0,58$	$\pm 0,94^*$	$\pm 0,19$	$\pm 0,81^{**}$	$\pm 0,35$	$\pm 0,93^{**}$	$\pm 0,52$	$\pm 0,84^{**}$	$\pm 0,57$	$\pm 0,93^{**}$	$\pm 0,62$	$\pm 0,81^{**}$
Сu, мкг/Г	53,42	51,85	53,25	51,73	53,17	51,30	52,83	50,82	52,44	50,34	52,05	49,84
	$\pm 0,28$	$\pm 1,11^*$	$\pm 0,22$	$\pm 0,94^*$	$\pm 0,17$	$\pm 0,80^{**}$	$\pm 0,87$	$\pm 0,28^{**}$	$\pm 0,86$	$\pm 0,25^{**}$	$\pm 0,22$	$\pm 0,92^{**}$
Zn, мкг/Г	6,07	5,20	6,05	5,17	6,03	5,14	6,01	5,11	5,99	5,09	5,97	5,06
	$\pm 0,77$	$\pm 1,03$	$\pm 0,77$	$\pm 1,04$	$\pm 0,80$	$\pm 1,17$	$\pm 0,82$	$\pm 1,21$	$\pm 0,84$	$\pm 1,21$	$\pm 0,85$	$\pm 1,13$

Примітка. Показники подані як Mean \pm SD (Standard Deviation); * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту

ДОДАТОК Г

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Понирко А. О., Рябенко Т. В. Порівняльна характеристика стану кісткової тканини у щурів різних вікових груп за умов індукованої гіперглікемії. *Український журнал медицини, біології та спорту (УЖМБС)*. 2019. Т. 4, № 5 (21). С. 67–71. (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному обробленні матеріалу). DOI: 10.26693/jmbs04.05.067.
2. Понирко А. О. Мікроскопічна будова та морфометричні показники довгих трубчастих кісток щурів старечого віку з індукованою гіперглікемією. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2019. Т. 19, вип. 3 (67). С. 151–155. (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному опрацюванні матеріалу). DOI: 10.31718/2077-1096.19.3.151.
3. Понирко А. О. Вплив хронічної гіперглікемії на стан опорно-рухового апарату (огляд літератури). *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2021. Т. 21, вип. 1 (73). С. 184–187. (Особистий внесок: брала участь в опрацюванні даних, статистичному обробленні матеріалу). DOI: 10.31718/2077-1096.21.1.184.
4. Понирко А. О., Дмитрук С. М., Бумейстер В. І. Біомеханічні властивості та макроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. № 2 (76). С. 232–238. (Особистий внесок: брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів, статистичному опрацюванні даних). DOI: 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.
5. Pomyrko A. O., Bumeister V. I., Dmytruk S. M., Yarmolenko O. S., Teslyk T. P., Riabenko T. V., Shkolna I. I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021. № 74 (9 p.I). P. 2052-2059 (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). PMID: 34725275.

6. Понирко А. О., Бумейстер В. І., Дмитрук С. М., Теслик Т. П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. № 2 (160). С. 231–235. (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). DOI: 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

7. Понирко А. О., Теслик Т. П., Рябенко Т. В. Структурно-функціональні зміни остеобластів за умов дії хронічної гіперглікемії. *Нотатки сучасної біології. Notes in Current Biology*. 2021. № 1 (1). С. 85-92. (Особистий внесок: брала участь у статистичному опрацюванні даних, узагальненні матеріалу, написанні статті). DOI: <https://doi.org/10.29038/NCBio.21.1.85-92>.

8. Понирко А. О., Бойко В. О. Мінеральна щільність стегнових кісток щурів під час експериментального алоксанового діабету. *V Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених. Актуальні питання теоретичної та практичної медицини* : зб.тез.доп. (Суми, 20–21 квітня, 2017 р.) С. 75–76.

9. Понирко А. О. Динаміка ростових показників кісток щурів молодого віку під час індукованого цукрового діабету 1 типу. *Всеукраїнська науково-методична конференція, присвячена 25-річчю медичного інституту Сумського державного університету* : зб.тез.доп. (Суми.16–17 листопада 2017 р.) С.31.

10. Ponyrko A. O. Changing the chemical composition of long tubular bones of rats with diabetes mellitus type I. *International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists*. (Sumy, 2018). Sumy: Sumy state University, 2018. P.101.

11. Понирко А.О. Особливості морфологічних змін проксимального епіфізу стегнових кісток щурів зрілого віку за умов індукованої гіперглікемії. *Збірник тез доповідей VII конгресу наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топанатомів України* (Одеса, 2–4 жовтня. 2019 р.). Одеса, 2019. С. 272–273.

12. Понирко А. О. Зміни мінеральної щільності кісткової тканини у щурів з хронічною гіперглікемією. *Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині* (24–25 жовтня 2019 р.). Чернівці, 2019. С. 88–90.

13. Понирко А. О., Сулим Л. Г. Вплив гіперглікемії на ультраструктурну організацію довгих кісток щурів. *Priority directions of science development : the 5th International scientific and practical conference. (Lviv, 2020, March 2–3) 2020*. Р. 98.

14. Понирко А. О., Бумейстер В. І., Теслик Т. П. Морфофункціональна оцінка стану довгих трубчастих кісток у щурів молодого віку під впливом хронічної гіперглікемії. *Сучасні проблеми морфології людини* : зб. тез доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. (Харків, 23–25 вересня 2020 р.). Харків, 2020. С. 69.

15. Понирко А. О., Бумейстер В. І. Морфометричні зміни показників епіфізарного хряща щурів старечого віку за умов експериментальної гіперглікемії. *Фундаментальні науки – практичній медицині: морфо–функціональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів, при захворюваннях внутрішніх органів: Науково–практична конференція, присвяченої 80-річчю з Дня народження професора Шутки Б. В.* (Івано-Франківськ, 30 вересня – 2 жовтня 2020 р.). Івано-Франківськ, 2020. С 41–43.

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. IV Міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих вчених. (Суми, 21-22 квітня. 2016 р, форма участі – усна доповідь, публікація тез).
2. Всеукраїнська науково-методична конференція, присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського державного університету (Суми, 16-17 листопада 2017 р, форма участі – публікація тез).
3. International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists (Sumy State University, 2018, форма участі – постерна доповідь).
4. VII Конгрес наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топанатомів України (Одеса, 2-4 жовтня 2019 р, форма участі – публікація тез).
5. Актуальні проблеми морфології в теоретичній та практичній медицині. (Чернівці, 24-25 жовтня 2019 р, форма участі – публікація тез).
6. The 5th International scientific and practical conference “Priority directions of science development” (Lviv, March 2-3, 2020, форма участі – публікація тез).
7. Всеукр. наук.-практ. конф. за міжнар. участі (Харків, 23-25 вересня 2020 р, форма участі – публікація тез).
8. Науково-практична конференція Фундаментальні науки – практичній медицині: морфо-функціональні методи дослідження онтогенетичних перетворень, фізіологічних та метаболічних процесів, змодельованих патологічних станів при захворюваннях внутрішніх органів, присвячена 80 – річчю з Дня народження професора Шутки Б. В.) (м. Івано–Франківськ 30 вересня – 2 жовтня 2020 р, форма участі – публікація тез).



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного медичного
університету

доцент _____ І.В. Геруш

« 12 » _____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті» (анатомо-експериментальне дослідження).

2. **Установа-розробник:** Сумський державний університет, кафедра морфології.
Автор: асистент кафедри морфології Понирко Аліна Олексіївна.

3. **Джерело інформації:** наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях та зарубіжних виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus:

3.1. Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.

3.2. Ponyrko A.O., Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.I):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.

3.3. Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** кафедра анатомії людини ім. М.Г. Туркевича Буковинського державного медичного університету.

5. **Термін впровадження:** жовтень-грудень 2021 рік.

6. **Форма впровадження:** введено у навчальний процес – у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії.

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

*Обговорено та затверджено на засіданні кафедри анатомії людини
ім. М.Г. Туркевича. Протокол № 24 від 12 листопада 2021 року.*

Завідувач кафедри анатомії людини

імені М.Г. Туркевича

Буковинського державного

медичного університету

доктор медичних наук, професор

В.В. Кривецький

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, член-кореспондент НАМН України, д. м. н., професор М. Р. Гжегонький

« 14 »

2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

Пропозиція для впровадження: «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті» (анатомо-експериментальне дослідження).

Установа-розробник: Сумський державний університет, кафедра морфології.

Автор: асистент кафедри морфології Понирко Аліна Олексіївна.

Джерело інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях та зарубіжних виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus:

1. Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.

2. Ponyrko A.O, Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.1):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.

3. Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра нормальної анатомії людини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Форми впровадження: введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.

Термін впровадження: жовтень-грудень 2021 рік.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри нормальної анатомії людини

Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького

доктор медичних наук, професор

Л. Р. Матешук-Вацеба

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректор з науково – педагогічної роботи
Одеського національного
медичного університету,
д.мед.н., проф. _____ Ірина ШМАКОВА
« 01 » 12 _____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

Пропозиція для впровадження: «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті» (анатоμο-експериментальне дослідження).

Установа-розробник: Сумський державний університет, кафедра морфології.

Автор: асистент кафедри морфології Понирко Аліна Олексіївна.

Джерело інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях та зарубіжних виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus:

1. Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.

2. Ponyrko A.O, Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.I):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.

3. Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра нормальної та патологічної клінічної анатомії Одеського національного медичного університету.

Форми впровадження: введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.

Термін впровадження: жовтень-грудень 2021 рік.

Обговорено та затверджено на засідання кафедри, протокол № 5 від 01.12. 2021 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри нормальної


та патологічної клінічної анатомії

Одеського національного

медичного університету,

д. мед.н., професор

Олена АППЕЛЬХАНС


ЗАТВЕРДЖУЮ
ХАРКІВСЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
медичного університету
проф. В.В. М'ясоєдов
« 14 » _____ 12 _____ 2021 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції: «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті».
 2. Ким і коли запропонований: асистент Понирко Аліна Олексіївна, кафедра морфології, Сумський державний університет, 2021р.
 3. Джерела інформації: наукові роботи у вітчизняних та закордонних фахових виданнях:
 - 3.1 Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. Світ медицини та біології. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.
 - 3.2 Ponyrko A.O, Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. Wiadomości Lekarskie. 2021;74(9 p.I):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.
 - 3.3 Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. Вісник проблем біології і медицини. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.
 4. Де і коли впроваджено: кафедра анатомії людини Харківського національного медичного університету, завідувач кафедри д. мед. наук, проф. Вовк О.Ю., жовтень-грудень 2021 року.
 5. Результати застосування методу за період жовтень-грудень 2021 року. Впровадження у матеріали лекцій та практичних занять з анатомії людини, а також у наукову роботу кафедри.
 6. Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п.3): Поглиблення знань студентів, аспірантів про ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті.
 7. Зауваження, пропозиції – немає.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри (протокол 22 від «14» грудня 2021 р.)

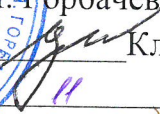
Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри анатомії людини
Харківського національного
медичного університету,
д. мед. н., проф. Вовк О.Ю.

_____ (дата)

_____ (підпис)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я.Горбачевського
проф. 

Кліщ І. М.
2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу.

Пропозиція для впровадження: «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті» (анатомо-експериментальне дослідження).

Установа-розробник: Сумський державний університет, кафедра морфології.

Автор: асистент кафедри морфології Понирко Аліна Олексіївна.

Джерело інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях та зарубіжних виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus:

1. Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.
2. Ponyrko A.O, Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.I):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.
3. Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини Тернопільського національного медичного університету імені І.Я.Горбачевського.

Форми впровадження: впроваджено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.

Термін впровадження: жовтень-грудень 2021 рік.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри анатомії людини

Тернопільського національного

медичного університету імені

І.Я. Горбачевського

доктор мед. наук, професор

І.Є.Герасимюк

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи
Запорізького державного медичного
університету

д. мед. н., професор В. А. Візір

2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи до навчального та наукового процесу

Пропозиція для впровадження: «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті» (анатомо-експериментальне дослідження).

Установа-розробник: Сумський державний університет, кафедра морфології.

Автор: асистент кафедри морфології Понирко Аліна Олексіївна.

Джерело інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях та зарубіжних виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus:

1. Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток шурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.

2. Ponyrko A.O., Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.I):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.

3. Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у шурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії Запорізького державного медичного університету.

Форми впровадження: введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.

Термін впровадження: жовтень-грудень 2021 рік.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри анатомії людини,

оперативної хірургії та топографічної анатомії

Запорізького державного медичного університету.

д. мед. н., проф.

О.А.Григор'єва

"ЗАТВЕРДЖУЮ"
Перший проректор
Івано-Франківського національного
медичного університету

д.б.н., проф. Ерстенюк Г.М.
« 12 » 7 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті» (анатомо-експериментальне дослідження).

Установа-розробник: Сумський державний університет, кафедра морфології.

Автор: асистент кафедри морфології Понирко Аліна Олексіївна.

Джерело інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях та зарубіжних виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus:

1. Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.

2. Ponyrko A.O, Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.I):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.

3. Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра анатомії людини Івано-Франківського національного медичного університету.

Форми впровадження: введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.

Термін впровадження: жовтень-грудень 2021 рік.

Відповідальний за впровадження:

**Завідувач кафедри анатомії людини
Івано-Франківського національного
медичного університету,
д.мед. наук, професор**

О.Г. Попадинець

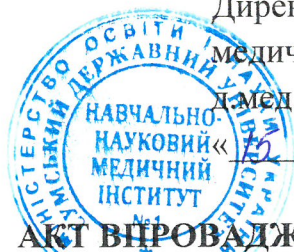
«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор навчально-наукового

медичного інституту

Д.мед.н., проф. Лобода А.М..

« 12 » _____ 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Пропозиція для впровадження: «Ріст та формування довгих трубчастих кісток скелета за умов експериментальної гіперглікемії у віковому аспекті» (анатомо-експериментальне дослідження).

Установа-розробник: Сумський державний університет, кафедра морфології.

Автор: асистент кафедри морфології Понирко Аліна Олексіївна.

Джерело інформації: наукові роботи у вітчизняних фахових виданнях та зарубіжних виданнях, що індексуються наукометричною базою Scopus:

1. Понирко А.О., Дмитрук С.М., Бумейстер В.І. Біомеханічні властивості мікроелементний склад довгих трубчастих кісток щурів за умов експериментальної гіперглікемії. *Світ медицини та біології*. 2021. №2(76). С. 232–238. DOI 10.26724/2079-8334-2021-2-76-232-238.

2. Ponyrko A.O., Bumeister V.I., Dmytruk S.M., Yarmolenko O.S., Teslyk T.P., Riabenko T.V., Shkolna I.I. Structural changes of long tubular bones of mature rats under the hyperglycemia. *Wiadomości Lekarskie*. 2021;74(9 p.I):2052-2059. DOI: 10.36740/WLek202109105.

3. Понирко А.О., Бумейстер В.І., Дмитрук С.М., Теслик Т.П. Морфологічні особливості остеогенних клітин у щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії. *Вісник проблем біології і медицини*. 2021. №2(160). С.231–235. DOI 10.29254/2077-4214-2021-2-160-231-235.

Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра патологічної анатомії Сумського державного медичного університету.

Форми впровадження: введено у навчальний процес (у матеріали лекцій та практичних занять) та наукову роботу кафедри.

Термін впровадження: жовтень-грудень 2021 рік.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії,

Сумського державного університету

доктор медичних наук,

професор

А.М. Романюк