

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОСТЕОГЕННИХ КЛІТИН У ЩУРІВ МОЛОДОГО ВІКУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

Сумський державний університет (м. Суми)

ponyrkoalina123@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано в рамках планової науково-дослідницької теми «Морфофункціональні аспекти порушення гомеостазу організму», номер державної реєстрації 0118U006611.

Вступ. Гіперглікемія є наслідком гострого дефіциту інсуліну, що в свою чергу призводить до порушення вуглеводного, білкового, жирового, водно-сольового обміну. Це блокує надходження глюкози в інсулінзалежні тканини, як наслідок в них виникає жорстокий енергетичний дефіцит.

Доведено, що гіперглікемія впливає на структурну організацію та метаболізм кісткової тканини, що підвищує ризик перелому [1, 2]. 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. Зміна метаболізму кісткової тканини є однією з причин розвитку остеопенії [3, 4, 5].

Існує значна кількість факторів, що підвищують ризик переломів кісток під час хронічної гіперглікемії. Одним з таких факторів може бути патогенна зміна ремоделювання кісток. Процес ремоделювання залежить від скоординованої послідовності резорбції кістки остеокластами з подальшим формуванням нової кісткової тканини остеобластами. Гіперглікемія має вплив на функції обох цих клітин [6, 7].

Остеобласти синтезують неколагенову фракцію білків кісткового матриксу, такі як: остеокальцин, остеопонтин, остеонектин, яким належить провідна роль у його мінералізації. Оскільки остеопонтин, є маркером мінералізації кісток, тому він може свідчити про формування або оновлення кісткової тканини (КТ) за умов дії хронічної гіперглікемії. Відомо, що остеобласти шляхом експресії рецептора-активатора ядерного фактора RANKL активізують остеокласти, він зв'язується з рецепторами на мембрані остеокластів та запускає процес їх активації та диференціації [8]. Як наслідок активовані остеокласти розпочинають процес резорбції кісткової тканини [8, 9]. Кальцинація та декальцинація кісток відбувається протягом всього життя.

В нормі у молодому віці процес формування кісткової тканини переважає над резорбцією, у зрілому віці ці процеси зрівноважені, проте у старечому резорбція починає переважати над формуванням, і в результаті цього спостерігається активна втрата кісткової маси [10, 11, 12].

Гіперглікемія веде до зниження якості остеобластів (стимулюючи їх апоптоз і зменшуючи експресію факторів, що стимулюють формування кісткової тканини) та стимулює збільшення кількісного співвідношення остеокластів, що веде до збільшення кісткової резорбції [12, 13, 14].

Для того, щоб оцінити клітинний механізм, що лежить в основі патологічних змін кісткової тканини під час дії хронічної гіперглікемії, була проаналізована біологія остеобластів як одних з основних остеогенних клітин.

Метою дослідження було встановити структурні зміни в остеобластах довгих трубчастих кісток щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження було проведено на 72 білих лабораторних щурах віком від 3 до 8 місяців. Піддослідні тварини були поділені на дві групи: I – експериментальна (n=36), II – контрольна (n=36). Для моделювання експерименту використовували хімічну модель цукрового діабету 1 типу (з використанням хімічної речовини алоксан) щурів експериментальної групи після 10-годинного голодування, на тлі нормальних показників глюкози крові (3,5-6,3 ммоль/л) вводили у стан хронічної гіперглікемії за допомогою одноразової інтраперитонеальної ін'єкції розчину дигідратуалоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла на 0,9% розчині хлориду. За тривалістю гіперглікемії експериментальна група була розділена на 6 підгруп (по 6 тварин у кожній): 1 гр. – тварини з терміном гіперглікемії 30 діб, 2 гр. – 60 діб, 3 гр. – 90 діб, 4 гр. – 120 діб 5 гр. – 150 діб, 6 гр. – 180 діб. Показники тварин експериментальної групи порівнювали з відповідними показниками контрольних тварин, яких також розділили на 6 контрольних груп по 6 особин. Тварин виводили з експерименту на кожну 30 добу шляхом декапітації.

Експериментальні дослідження було проведено з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Для проведення електронно-мікроскопічного аналізу у щурів вилучали стегнові та плечові кістки. Після чого фрагменти кісток розміром приблизно 1 мм³ фіксували у фіксаторі Карновського. Фрагменти кісткової тканини декальцинували у розчині трилону Б, потім фіксували у чотириокисі осмію, з подальшою дегідратацією у серії етилових спиртів зростаючої концентрації та ацетону. Зразки просочували у суміші епоксидних смол – арадиту та епону, а потім заливали у блоки та виготовляли виготовляли ультратонкі зрізи товщиною 0,04 мкм. Контрастовані зрізи аналізували та фотографували за допомогою електронного просвічуючого мікроскопа ЕМВ-100БР.

При електронно-мікроскопічному дослідженні кісткової тканини оцінювались наступні критерії: цілісність клітинних елементів, наявність мінералізації

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

Доба дослідження	Експериментальна група (n=72)			Група контролю (n=72)		
	Вага тварин, г	Показники глюкози, ммоль/л	НЬА1с, %	Вага тварин, г	Показники глюкози, ммоль/л	НЬА1с, %
2	84,1±1,10	18,90±2,10	6,80±0,25	91,20±0,42	6,6±1,16	3,90±0,25
30	93,34±1,08	19,30±1,69	7,00±0,66	102,51±1,97	6,4±1,50	4,03±0,88
60	118,31±0,92	13,90±1,43	7,19±0,70	130,93±1,98	4,9±1,32	4,90±0,45
90	135,30±2,65	13,80±1,48	8,43±0,60	150,50±0,87	5,4±1,20	4,82±0,90
120	141,20±2,94	13,60±0,33	8,90±1,48	170,10±2,39	3,1±0,22	4,0±0,66
150	141,40±2,56	13,90±1,49	9,84±0,92	181,43±2,86	6,0±1,23	4,61±1,06
180	133,60±2,90	13,20±2,62	9,43±0,96	190,51±2,11	6,2±1,06	5,40±1,08

Примітка: показники представлені як Mean±SD (Standard Deviation), p<0,001 для всіх параметрів при парних порівняннях показників на відповідну добу експерименту.

кісткового матриксу, цілісність мембранних органел, ступінь вакуолізації цитоплазми.

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження проводили на парафінових зрізах (4×10-6м) декальцинованої кісткової тканини стегнових та плечових кісток щурів, після депарафінації та зневоднення у ксилолі та спиртах у послідовних знижуючих концентраціях. Демаскування антигенів проводили з застосуванням водяної бані «ВБ-4» при відносній температурі 97-98°C у цитратному буфері (рН – 7,0) [15]. Аналіз особливостей експресії Остеопонтину та RANKL в різних локасах довгих трубчастих кісток проводили з застосуванням світлового мікроскопу та 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)) [16]. Отримані показники підсумовували (А+Б) для отримання підсумкових показників експресії Остеопонтину та RANKL у досліджуваних кістках. Позитивним результатом вважали наявність цитоплазматичної експресії відповідних антигнів. Негативним результатом -відсутність експресії.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica v.10 («StatSoft Inc.», США). Дескриптивний аналіз кожної вибірки проводили з розрахунком Mean (M) та Standard Deviation (SD). Для оцінки відмінностей між незалежними вибірками використовували непараметричний U-тест

Mann-Whitney. Достовірною вважали різницю при значенні p<0,05.

Результати дослідження та їх обговорення.

Наше дослідження було направлено на визначення особливостей деструктивних змін у остеогенних клітинах довгих трубчастих кісток щурів молодого віку за умов хронічної гіперглікемії.

Через декілька днів після введення розчину алоксану у щурів експериментальної групи спостерігались симптоми притаманні при гіперглікемії: полідипсія, поліурія, глюкозурія. Концентрація глюкози в крові у щурів експериментальної

групи в значно перевищувала показники щурів групи контролю (табл.). До 180 доби експерименту у щурів експериментальної зберігалась стійка гіперглікемія, та спостерігалось поступове збільшення концентрації НЬА1с. У щурів експериментальної групи відзначалось уповільнення приросту маси тіла, у порівнянні зі щурами групи контролю.

В результаті електронно-мікроскопічного аналізу кісткової тканини молодих щурів на 30 добу експерименту 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. 1, а). Профілі гЕПС були поодинокими, що може свідчити про помірну ступінь синтезу білків остеобластами. Деякі клітини містили поодинокі мітохондрії. Також зустрічалися остеобласти з двома ядрами, це вказує на їх проліферацію (рис. 1, б). Також було виявлено загиблі остеобласти зі зруйнованими органелами та електронно-щільним ядром. Аналогічні структурні зміни спостерігались і у щурів на 60 та 90 добу спостереження.

Остеоцити мали гетерохромне ядро та поодинокі профілі гЕПС. Часто траплялися загиблі клітини з вираженою вакуолізацією цитоплазми або її гомогенізацією.

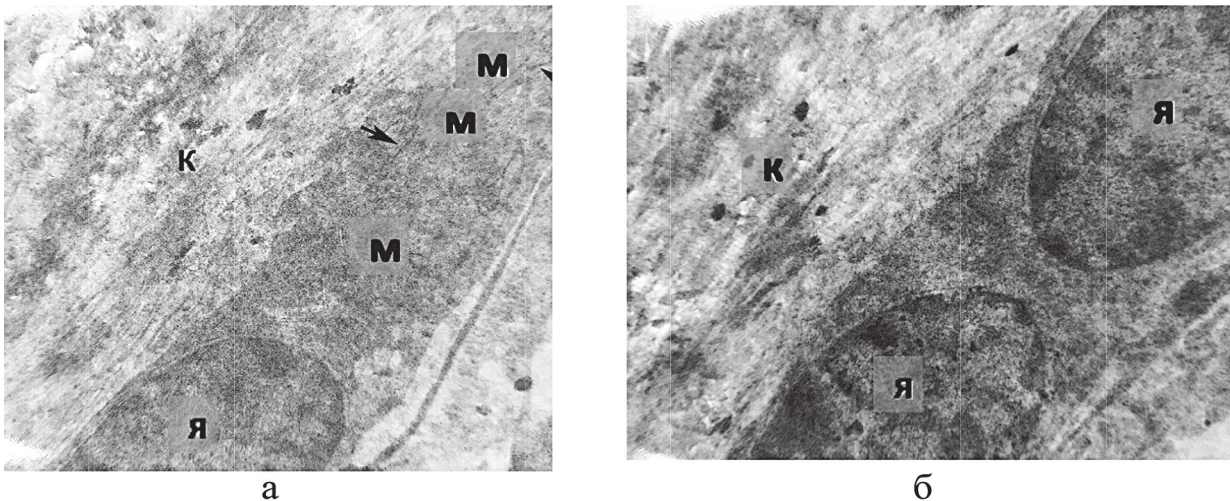


Рисунок 1 – Остеобласти на поверхні кісткової трабекули (К): а) остеобласт з гетерохромним ядром (Я) мітохондріями (М) та профілями гЕПС (стрілка); б) остеобласт з двома ядрами (Я). 30 доба спостереження. Зб.: 10000. Контрастування за Рейнольдсом.

Кістковий матрикс містив осередки нерівномірної мінералізації та немінералізовані ділянки, це може свідчити про порушення цього процесу внаслідок зміненого функціонування остеобластів.

Для визначення рівня експресії остеопонтину та RANKL у кістковій тканині було проведено імуногістохімічне дослідження. В діяфізі на 30 добу експерименту спостерігався високий рівень експресії остеопонтину. У тварин експериментальної групи він становив $24,17\% \pm 1,51^*$ а у тварин групи контролю $26,32\% \pm 1,28$ різниця становила майже 13,6%. Інтенсивність забарвлення цитоплазми – висока (+++). На 60 добу спостереження цей показник дещо збільшився до $24,22\% \pm 0,92^*$ в експерименті та $26,36\% \pm 0,99$ у щурів групи контролю. Показники експресії RANKL у щурів експериментальної групи були дещо більшими $25,71\% \pm 2,17$ за щурів групи контролю $22,19\% \pm 1,40^*$ різниця склала 15,9%.

В епіфізі вміст остеопонтину у тварин експериментальної групи становив $27,32\% \pm 1,43$, у тварин групи контролю $30,16\% \pm 1,46$, що на 10,4% менше ніж у щурів контрольної групи. Інтенсивність забарвлення цитоплазми – помірна (++) . ІМГ епіфізарного хряща у щурів експериментальної групи показало дещо меншу інтенсивність забарвлення клітин порівняно зі щурами групи контролю. Нижча інтенсивність забарвлення може бути пов'язана з наявністю деструктивних змін у КТ. В подальшому починаючи з 60 і до 90 доби спостереження цей показник тільки збільшувався та становив $27,36\% \pm 1,61^*$ у щурів групи експерименту і $30,23\% \pm 1,38$ у щурів групи контролю та $27,41\% \pm 1,45$, та $30,54\% \pm 1,63$ відповідно. Що підтверджує активне формування кісткової тканини у щурів молодого віку в період активного росту. Концентрація остеопонтину у щурів експериментальної групи у вказані періоди була значно нижчою ($p < 0,001$) в порівнянні зі щурами групи контролю.

На 120 добу експерименту було виявлено гіперфункцію остеобластів: гіпертрофію гЕПС – розширення цистерн; набухання мітохондрій. Однак деякі остеобласти мали ознаки деструкції органел, що можливо свідчить про неуспішність компенсаторної реакції шляхом гіпертрофії органел. У деяких остеобластах виявлено утворення залишкових тілець, це є ще однією ознакою спроби клітин адаптуватися до дії негативного фактора, шляхом внутрішньоклітинного перетравлювання загиблих органел для підтримки клітинного гомеостазу. Ядра клітин з гіпертрофією гЕПС були гетерохромними, у деяких виявлено збільшення перинуклеарного простору, що може свідчити про набряк.

У остеоцитах так само як і у остеобластах встановлено дегенеративні зміни – набухлі мітохондрії та редукція мембранних органел. Кістковий матрикс мав однорідну структуру. Подібні тенденції до дегенеративних змін спостерігались у щурів на 150 добу спостереження.

Клітини з експресією показника остеопонтину у зоні діяфізу тварин експериментальної групи становив $24,35\% \pm 0,96^*$, а у тварин групи контролю $26,52\% \pm 1,51$ різниця становила майже 8,9%. У зоні епіфізу цей показник становив $27,47\% \pm 1,66^*$ та $30,71\% \pm 1,38$, відповідно різниця 11,8%. Потрібно відмітити також значно меншу інтенсивність забарвлення клітин епіфізарного хряща порівняно зі щурами

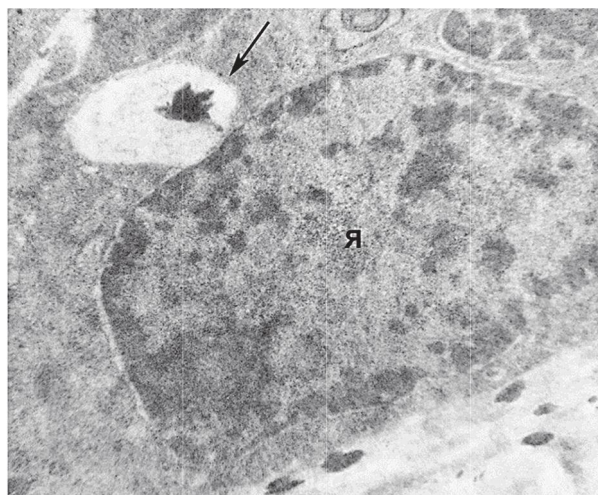


Рисунок 2 – Остеобласт з великим гетерохромним ядром (Я) та залишковим тілцем (стрілка). 180 доба спостереження. 36.: 15600. Контрастування за Рейнольдсом.

попередніх періодів. RANKL-позитивні клітини в зоні епіфізу були виявлені в ділянках остеогенезу, кісткових трабекулах та міжтрабекулярних просторах. Рівень експресії клітин визначався як помірний та становив $29,47\% \pm 1,63$ в нормі та $25,62\% \pm 1,41^*$ у щурів групи експерименту, проте у відсотковому співвідношенні дещо вищий за показники щурів попереднього періоду. Аналогічні показники експресії відмічаються і у зоні діяфізу. Частка позитивно забарвлених клітин у щурів експериментальної групи становила $25,88\% \pm 1,52$, у тварин групи контролю $22,64\% \pm 0,87^*$. Інтенсивність забарвлення цитоплазми як діяфізу так і епіфізу – помірна (++) . На 150 добу спостереження відмічено незначне збільшення експресії показника остеопонтину, що становив $24,38\% \pm 1,61^*$, у щурів групи експерименту та $26,73\% \pm 1,50$ у щурів групи контролю. Інтенсивність забарвлення цитоплазми як діяфізу так і епіфізу – помірна (++) .

У результаті електронномікроскопічного аналізу на 180 добу спостереження у остеобластів щурів молодого віку виявлено утворення залишкових тілець (рис. 2), це свідчить про компенсаторну реакцію у клітині та негативний вплив підвищеного рівня глюкози. Органели у таких клітинах були слабко розвинені. Кістковий матрикс містив численні осередки нерівномірної мінералізації та немінералізовані ділянки.

Остеоцити мали поодинокі профілі гЕПС та гетерохромне ядро також часто зустрічались загиблі клітини з вакуолізацією або гомогенізацією цитоплазми.

ІГХ виявила слабкий рівень інтенсивності забарвлення клітин та низький рівень експресії остеопонтину як в діяфізі так і в епіфізі обох досліджуваних кісток він становив $24,42\% \pm 1,60^*$ та $27,73\% \pm 1,58^*$. Інтенсивність забарвлення цитоплазми слабка (+). Проте показник остеокластичної резорбції зони діалізу був дещо більший ніж у щурів попереднього терміну спостереження та становив $26,11\% \pm 0,91$ порівняно зі щурами групи контролю $23,08\% \pm 1,59^*$. Відповідний показник зони епіфізу становив $26,34\% \pm 1,46$ та $29,72\% \pm 1,53^*$ відповідно, що на 12,8% більше у порівнянні зі щурами групи контролю (рис. 3). Інтенсивність забарвлення цитоплазми помірна (++) .

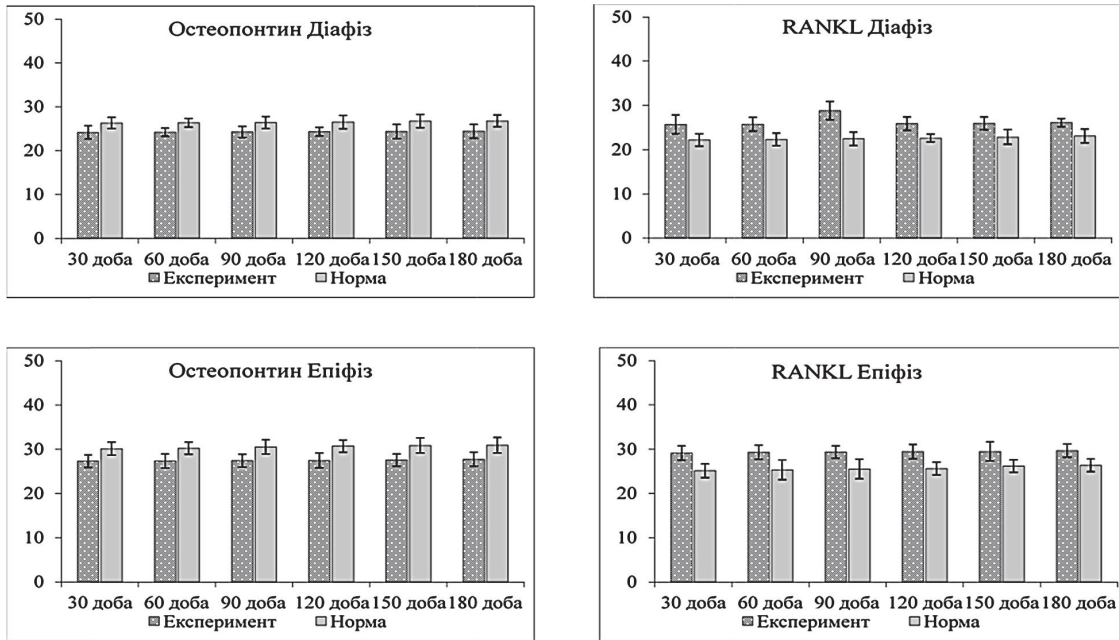


Рисунок 3 – Експресія Остеопонтину та RANKL стгенової кістки щурів в динаміці експерименту.

Примітка: $p < 0,01$ для всіх параметрів при парних порівняннях відповідних контрольних та експериментальних підгруп.

Описані патологічні зміни остеобластів за умов дії хронічної гіперглікемії в різних локусах стгенових та плечових кісток щурів узгоджуються з експериментальними даними ряду авторів Portal-Núñez S, Villagino M [10, 11], які відзначають значне скорочення кількості остеоцитів та остеобластів через їх апоптоз вже на 30 добу після початку експерименту та поступову деформацію округлої форми лакун остеоцитів, що свідчать про істотні зміни мікроархітектури кісток скелету.

Виявленні порушення метаболізму кісток характеризуються зменшенням кількості остеобластів та зниженням їх морфофункціональних властивостей, що виявляється в зниженні формування кісткової тканини та розвитку остеопору. Таким чином за умов дії хронічної гіперглікемії вже на 30 добу експерименту виникає порушення функціонування остеобластів та деструктивні зміни у остеоцитах. Зі збільшенням терміну дії гіперглікемії виявлені зміни тільки прогресують та стають більш вираженими.

Висновки. В ході експерименту ми встановили, що під час дії хронічної гіперглікемії формування

кістки порушується за рахунок специфічного дефекту остеобластів, який призводить до зменшення кісткової маси та сповільнює регенерацію кістки. Виявлені структурні зміни показують, що починаючи з 30 доби експерименту у клітинах кісткової тканини молодих щурів виникає пригнічення їх диференціації, на це вказує низький рівень розвитку органел у клітинах та порушення мінералізації матриксу, внаслідок низької біосинтетичної активності остеобластів; загибелі остеоцитів. Однак, виявлені двоядерні остеобласти можливо вказують на адаптаційну реакцію клітин у відповідь на дію підвищеного рівня глюкози. Хронічна гіперглікемія призводить до зниження експресії маркерів кісткового формування (остеопонтин) та поступового підвищення маркерів кісткової резорбції зі збільшенням терміну спостереження.

Перспективи подальших досліджень. Дослідити зв'язок залежності експресії остеопонтину із статевими відмінностями щурів під час дії хронічної гіперглікемії.

Література

1. Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs) in osteoporosis in diabetes. *Curr Drug Targets*. 2011;12(14):2096-102.
2. Pacios S, Andriankaja O, Kang J, Alnammary M, Bae J, de Brito Bezerra B, et al. Bacterial infection increases periodontal bone loss in diabetic rats through enhanced apoptosis. *Am J Pathol*. 2013;183(6):1928-35
3. 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. doi: 10.1007/s00441-014-1913-x.
4. Gennari L, Merlotti D, Valenti R, Ceccarelli E, Ruvio M, Pietrini MG, et al. Circulating sclerostin levels and bone turnover in type 1 and type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2012;97(5):1737-1744. doi: 10.1210/jc.2011-2958.
5. Kanazawa I, Sugimoto T. Diabetes Mellitus-induced Bone Fragility. *Internal medicine*. 2018;57(19):2773-2785. doi: 10.2169/internalmedicine.0905-18.
6. Ogawa N, Yamaguchi T, Yano S, Yamauchi M, Yamamoto M, Sugimoto T. The combination of high glucose and advanced glycation end-products (AGEs) inhibits the mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells through glucose-induced increase in the receptor for AGEs. *Hormone and metabolic research*. 2007;39(12):871-875. doi: 10.1055/s-2007-991157.
7. Pacicca DM, Brown T, Watkins D, Kover K, Yan Y, Prideaux M, et al. Elevated glucose acts directly on osteocytes to increase sclerostin expression in diabetes. *Scientific reports*. 2019;9(1):17353. doi: 10.1038/s41598-019-52224-3.
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. *The Journal of Physiological Sciences*. 2017;67(1):71-81.
9. Ryabenko TV. Suchasni aspekty reparatyvnoyi reheneratsiyi kistkovoyi tkanyny ta analiz pokaznykiv kistkovoho metabolizmu. *Ukrayins'kyi zhurnal medytsyny, biolohiyi ta sportu*. 2020;5.3(25):89-97. [in Ukrainian].

10. 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. doi: 10.1016/j.febslet.2010.05.047
11. Villarino ME, Sánchez LM, Bozal CB, Ubios AM. Influence of short-term diabetes on osteocytic lacunae of alveolar bone. *A histomorphometric study*. *Acta odontologica latinoamericana: AOL*. 2006;19(1):23-28.
12. Bouillon R, Bex M, Van Herck E, Laureys J, Dooms L, Lesaffre E, et al. Influence of age, sex, and insulin on osteoblast function: osteoblast dysfunction in diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(4):1194-202. doi: 10.1210/jcem.80.4.7714089.
13. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. *Curr Osteoporos Rep*. 2015;13(5):327-35. doi: 10.1007/s11914-015-0286-8.
14. Hamann C, Goetsch C, Mettelsiefen J, Henkenjohann V, Rauner M, Hempel U, et al. Delayed bone regeneration and low bone mass in a rat model of insulin-resistant type 2 diabetes mellitus is due to impaired osteoblast function. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011;301(6):1220-8. doi: 10.1152/ajpendo.00378.2011.
15. Uikly B. *Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayushchikh*. Moskva: Mir; 1975. 328 s. [in Russian].
16. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*. 1963;17:208-212.

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ОСТЕОГЕННИХ КЛІТИН У ЩУРІВ МОЛОДОГО ВІКУ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

Понирко А. О., Бумейстер В. І., Дмитрук С. М., Теслик Т. П.

Резюме. У статті наведені дані структурно-функціонального аналізу змін кісткової тканини за умов хронічної гіперглікемії. Дослідження було проведено на 72 білих лабораторних щурах. Для моделювання хронічної гіперглікемії, застосовували розчин дигідрату алоксану, який вводили після 10-годинного голодування тварин. Дослідження довгих трубчастих кісток проводили за допомогою скануючої електронної мікроскопії та оцінювали експресію Остеопонтину та RANKL у цитоплазмі клітин. Доведено, що істотні зміни мікроархітектури кісток скелету викликають порушення функціонування остеобластів та деструктивні зміни у остеоцитах. Зі збільшенням терміну дії гіперглікемії патологічні зміни тільки прогресують та стають більш вираженими.

У проведеному нами дослідженні було виявлено виражену реакцію остеобластів у молодих щурів на 30 добу спостереження у вигляді значної гіпертрофії гЕПС, деструкції органел у цитоплазмі та набухання мітохондрій. При цьому компенсаторна реакція, у вигляді гіпертрофії гЕПС спостерігалася у щурів молодого віку – починаючи з 120 доби спостереження. Особливістю є те, що на всі терміни спостереження аж до 180 доби у щурів молодого віку дисфункція остеобластів проявлялася у вигляді гіпертрофії гЕПС.

В ході експерименту було встановлено наростаючу загибель остеоцитів у щурів протягом всього періоду спостереження, починаючи з 30 доби експерименту. Крім того виявлено зміну форми лакун починаючи з 60 доби спостереження. Таким чином за умов хронічної гіперглікемії починаючи з 30 доби спостереження виникає порушення функціонування остеобластів та деструктивні зміни у остеоцитах у кістках експериментальних щурів молодого віку.

Результати імуногістохімічного дослідження вказують на зниження секреторної активності остеобластів та порушення функціонування остеоцитів. Порушення процесів синтезу остеопонтину та RANKL негативно впливає на остеогенез кісток. В результаті довготривалого впливу гіперглікемії на кістки скелету спостерігається пригнічення роботи як остеобластів, так і остеоцитів.

Ключові слова: гіперглікемія, довгі трубчасті кістки, остеобласти, остеоцити, остеопонтин.

MORPHOLOGICAL FEATURES OF OSTEOGENIC CELLS IN YOUNG RATS UNDER CONDITIONS OF CHRONIC HYPERGLYCEMIA

Ponyrko A. A., Boomeister V. I., Dmitruk S. N., Teslyk T. P

Abstract. The article presents the data of structural and functional analysis of changes in bone tissue in conditions of chronic hyperglycemia. The study was conducted on 72 white laboratory rats. To simulate chronic hyperglycemia, a solution of alloxan dihydrate was used, which was administered after a 10-hour fasting of the animals. The study of long bones was carried out using scanning electron microscopy and the expression of osteopontin and RANKL in the cytoplasm of cells was assessed. It has been proven that significant changes in the microarchitecture of the bones of the skeleton cause disturbances in the functioning of osteoblasts and destructive changes in osteocytes. With an increase in the duration of hyperglycemia, pathological changes only progress and become more pronounced.

In our study, we found a pronounced reaction of osteoblasts in young rats on the 30th day of observation in the form of significant hypertrophy of the hEPS, destruction of organelles in the cytoplasm, and swelling of mitochondria. At the same time, a compensatory reaction in the form of hEPS hypertrophy was observed in young rats – starting from the 120th day of observation. A special feature is that for all periods of observation up to 180 days in young rats, osteoblast dysfunction manifested itself in the form of hEPS hypertrophy.

During the experiment, the increasing death of osteocytes in rats was established during the entire observation period, starting from the 30th day of the experiment. In addition, a change in the shape of the lacunae was found starting from the 60th day of observation. Thus, under conditions of chronic hyperglycemia, starting from the 30th day of observation, there is a violation of the functioning of osteoblasts and destructive changes in osteocytes in the bones of experimental young rats.

The results of immunohistochemical studies indicate a decrease in the secretory activity of osteoblasts and dysfunction of osteitis. Disruption of the synthesis of osteopontin and RANKL negatively affects the osteogenesis of inert tissue. As a result of prolonged exposure to hyperglycemia on the bones of the skeleton, inhibition of the work of both osteoblasts and osteocytes is observed.

Key words: hyperglycemia, long tubular bones, osteoblasts, osteocytes, osteopontin

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 02.12.2020 року