

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ТРАВМАТОЛОГІЇ ТА ОРТОПЕДІЇ НАЦІОНАЛЬНОЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**



КУЗІВ ЄВГЕН ЛЮБОМИРОВИЧ

УДК [616.71-007.234-02:577.175.5]-021.6:616-
085:[577.161.1+577.161.3]:001.891.53(043.5)

**ВПЛИВ ЗАСТОСУВАННЯ ВІТАМІНІВ D₃ ТА E НА ЗМІНИ СТРУКТУРНО-
ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ КІСТКОВОЇ ТА ХРЯЩОВОЇ ТКАНИН ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГЛЮКОКОРТИКОЇД-ІНДУКОВАНІЙ
ОСТЕОХОНДРОПАТІЇ**

14.01.21 – травматологія та ортопедія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Калашніков Андрій Валерійович**, завідувач відділу травматичних пошкоджень опорно-рухового апарату та проблем остеосинтезу ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ

Офіційні опоненти: доктор медичних наук **Майко В'ячеслав Михайлович**, керівник ортопедо-травматологічного центру Вінницької обласної клінічної лікарні імені М. І. Пирогова МОЗ України, м. Вінниця

доктор біологічних наук, професор **Дєдх Нінель Василівна**, провідний науковий співробітник відділу клінічної фізіології і патології опорно-рухового апарату ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», м. Київ.

Захист відбудеться «26» листопада 2019 р. о 14 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.606.01 ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» за адресом: 01601, м. Київ, вул. Бульварно-Кудрявська, 27.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» за адресом: 01601, м. Київ, вул. Бульварно-Кудрявська, 27.

Автореферат розісланий 24 .10. 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
д.мед.н., професор



Ю. М. Гук

Підп. до друку 22.10.2019. Формат 60x90 1/16. Папір. Офс. Гарнітура «Таймс».
Ум.друк.арк. 0,7. Обл.-вид. арк. 0,9. Наклад 100 прим. Зам. 123.

Віддруковано у видавництві ТОВ «ЕТНА-1» з оригіналів автора.
Свідоцтво ДК № 201 від 27.09.2000 р.
01034, Київ-31, вул. Ярославів Вал, 19, оф.12 тел. 235-95-94

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Остеопороз (ОП), як первинний, так і вторинний є одним із найбільш розповсюджених захворювань, що займає провідне місце в структурі захворюваності і смертності населення. За даними ВООЗ він є другою за значущістю хворобою після серцево-судинних захворювань (Сагаловски С., 2012; Шишков В. Н., 2013; Климова Ж. А., Зафт А. А., Зафт В. И., 2014; Ларін О. С. та спів., 2014). За даними Міжнародного фонду остеопорозу біля 200 млн людей в світі страждають на ОП (Гребенникова Т. А. и соавт., 2015; Гордеев М. В. и соавт., 2017). Кожна третя жінка і кожний восьмий чоловік старше 50 років рано чи пізно протягом свого життя мають переломи кісток, що пов'язані з розвитком цього патологічного процесу (Климова Ж. А., Зафт А. А., Зафт В. И., 2014). Показник смертності протягом першого року у хворих після перелому проксимального відділу стегна досягає рівня 20 – 40 %, а інвалідність – 100 % (Пасиешвили Л. М., 2015; Скворцов В. В., Скворцова Е. М., Мухтаров Т. А., 2017). Щодо хребців, то частота їх переломів складає в середньому 4,9 % і 7,6 % у чоловіків і у жінок відповідно (Сагаловски С., 2012). В США витрати на лікування ОП і зумовлені ним переломи складають 14 – 17 млрд доларів на рік (Сагаловски С., 2012). В Україні кількість хворих на ОП є більшою за 3 млн осіб (2,5 млн – жінки, 900 тис. – чоловіки), тобто кожен 4-й дорослий мешканець нашої країни страждає на цю патологію (Пеннер В. А., Нишкумай О. И., Скоробогатова О. В., 2013; Пасиешвили Л. М., 2015).

На сьогодні глюкокортикоїди (ГК) є однією з головних причин в розвитку тяжкої форми вторинного остеопорозу – глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу (ГІО). Ця патологія займає не лише перше місце в етіологічній структурі вторинного ОП, але і обумовлює більше половини усіх випадків ОП у молодому віці (Тропцова Н. В., 2013; Hartmann K. et al, 2016; Wood C. L. et al, 2018). ГІО характеризується швидкою втратою кісткової маси і підвищенням вірогідності переломів вже в ранні терміни після початку ГК-терапії, що викликає необхідність у первинній профілактиці переломів у пацієнтів групи високого ризику, що отримують стероїди (Тропцова Н. В., 2013; Мешьшикова И. В., 2014; Мурадянц А. А., Шостак Н. А., Кондрашов А. А., 2014; Обади́на Е. Л., Симонова О. В., Чичерина Е. Н., 2015; Вербовой А. Ф., Пашенцева А. В., Шаронова Л. А., 2017).

Рівень ефективності при використанні сучасних препаратів для профілактики і лікування ОП дозволяє зменшити ризик виникнення малотравматичних (низькоенергетичних) переломів різної локалізації приблизно на 50 %. З огляду на це, в даний час, дослідження, що мають на меті пошук нових засобів профілактики та лікування такого соціально-значущого захворювання, яким є ОП, залишаються актуальними (Гребенникова и соавт., 2015).

В останні роки серед інших лікарських засобів профілактики та терапії ГІО важливе місце займають препарати вітамінів D та E. В Україні, як і в усьому світі, продовжують проводитись дослідження з вивчення впливу цих вітамінів на процеси розвитку ГІО, зокрема, їх дії на активність остеобластів і остеокластів, на процеси ремоделювання кісткової тканини та показники мінерального обміну (Деду́х Н. В., Побел Е. А., 2013; Поворознюк В. В., Балацкая Н. И., Григорьева Н. В.; 2016; Norazlina M. et al, 2010; Miki T., Okamoto K., 2014).

Незважаючи на значну кількість досліджень, присвячених проблемі ГЮ, його профілактики та лікування, робіт, проведених на експериментальному матеріалі із залученням комплексу біохімічних, остеометричних, гістологічних та гістоморфологічних показників для вивчення запобіжного впливу вітамінів D₃ та E на структурно-функціональні властивості компактною та губчастою кістки, на суглобовий та епіфізарний хрящі, раніше не проводилось. Саме ця обставина і спонукала нас до проведення даного наукового дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконано відповідно з планом науково-дослідної роботи ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» та є фрагментом планової комплексної теми «Розробити технологію використання автолітичних матеріалів сполучної тканини для оптимізації репаративного остеогенезу після переломів кісток», за № 0108U000140 державної реєстрації.

Мета дослідження: визначити та оцінити превентивні ефекти поєданого застосування вітамінів D₃ та E на розвиток змін структурно-функціонального стану кісткової та хрящової тканин при експериментальній глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії.

Завдання дослідження:

1. Дослідити показники мінерального та D-вітамінного обміну, гістологічну будову та гістоморфометричні показники кортекса діафіза, суглобового та епіфізарного хрящів проксимального епіметафіза стегнової кістки у експериментальних тварин після моделювання у них глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатії.

2. Дослідити дію поєданого застосування вітамінів D₃ та E на зміни показників мінерального та D-вітамінного обміну у експериментальних тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією та порівняти її з відповідною дією при застосуванні лише вітаміну D₃.

3. Дослідити зміни гістоморфологічної будови та гістоморфометричних показників діафіза стегнової кістки у експериментальних тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією на фоні застосування вітамінів D₃ та E і провести їх порівняння з відповідними показниками у тварин з глюкокортикоїдною остеохондропатією на фоні застосування тільки вітаміну D₃.

4. Вивчити гістоморфологічні та гістоморфометричні показники суглобового хряща проксимального епіметафіза стегнової кістки у експериментальних тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією на фоні поєданого використання вітамінів D₃ та E та провести їх порівняння з відповідними показниками, визначеними у тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією, в яких з метою профілактики був застосований лише вітамін D₃.

5. Вивчити гістоморфологічні та гістоморфометричні показники епіфізарного хряща проксимального епіметафіза стегнової кістки у експериментальних тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією на фоні застосування вітамінів D₃ та E і провести їх порівняння з відповідними показниками, визначеними у тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією, в яких був застосований тільки вітамін D₃.

Об'єкт дослідження – біологічна модель глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії.

Предмет дослідження – показники мінерального та D-вітамінного обміну, остеометричні, гістоморфологічні та гістоморфометричні показники компактною кістковою тканини, суглобового хряща та епіфізарного хряща проксимального епіметафіза стегнової кістки при експериментальній глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії, профілактична дія вітаміну D₃ та поєднаного застосування вітамінів D₃ та E при моделюванні глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії.

Методи дослідження: біохімічні, остеометричні, гістоморфологічні, гістоморфометричні, статистичний.

Наукова новизна. В дисертаційній роботі доповнені дані щодо змін біохімічних показників при розвитку експериментальної глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії, зокрема, відзначене суттєве підвищення таких показників, як рівень лужної фосфатази та її ізоферментів в плазмі крові у порівнянні з відповідними показниками інтактної групи тварин. Так, рівень показника загальної лужної фосфатази у тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією складав $347,0 \pm 0,5$ Од/л, а рівні її кишкового ензиму – $92,0 \pm 0,7$ Од/л та кісткового ензиму – $320,0 \pm 1,0$ Од/л, проти $235,0 \pm 0,5$ Од/л, $52,6 \pm 0,9$ Од/л, $200,0 \pm 3,0$ Од/л відповідно у інтактних тварин.

Вперше отримано дані про зміни остеометричних, біохімічних, і гістоморфометричних показників у експериментальних тварин з моделлю глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії на фоні превентивного поєднаного застосування вітамінів D₃ та E і проведено їх порівняння з відповідними показниками у тварин, в яких з метою профілактики розвитку глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії застосовувався лише вітамін D₃. Так визначено, що маса великогомілкової кістки при застосуванні двох вітамінів становила $272,8 \pm 2,4$ г і була суттєво більшою за масу цієї кістки у тварин, що отримували тільки вітамін D – $246,0 \pm 1,2$ г. Також відзначені суттєво вищі рівні показників зольності кісткової тканини – $59,8 \pm 0,3$ % та вмісту фосфору у золі великогомілкової кістки – $18,5 \pm 0,2$ % проти відповідних рівнів у групі порівняння ($58,3 \pm 0,7$ % та $17,2 \pm 0,1$ %). Рівні показників лужної фосфатази та її ензимів при застосуванні вітамінів D₃ та E були меншими за відповідні показники групи порівняння. Так, рівень загальної лужної фосфатази складав $260,0 \pm 1,0$ Од/л, її кишкового ензиму $83,0 \pm 0,7$ Од/л та кісткового ензиму $235,0 \pm 1,2$ Од/л проти $273,0 \pm 0,2$ Од/л, $87,0 \pm 0,5$ Од/л, $250,0 \pm 1,5$ Од/л відповідно. У порівнянні значно більшим виявився і показник кількості 25(OH)D₃ $50,0 \pm 1,2$ нг/мл проти $24,2 \pm 2,0$ нг/мл. Рівень показника об'єму вторинної спонгіозної метафіза стегнової кістки при застосуванні двох вітамінів є більшим ніж при застосуванні тільки вітаміну D₃ ($44,2 \pm 1,5$ % і $40,9 \pm 1,6$ % відповідно). Одночасне застосування вітамінів D₃ та E при експериментальній остеохондропатії призводить до утворення суттєво меншої кількості ділянок інтертериторіального хрящового матрикса в епіфізарному хрящі проксимального епіметафіза стегнової кістки ніж при застосуванні тільки вітаміну D₃ ($1,667 \pm 0,333$ проти $2,600 \pm 0,510$).

Практичне значення отриманих результатів. Результати експериментального вивчення ефективності превентивного поєднаного застосування вітамінів D₃ та E на розвиток змін структурно-функціонального стану

кісткової та хрящової тканин у тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією, а саме зміни біохімічних, остеометричних, гістологічних та гістоморфометричних показників, можуть бути застосовані при подальших наукових експериментальних дослідженнях, присвячених профілактиці та корекції зазначеного патологічного процесу. Отриманий позитивний ефект поєднаного застосування вітамінів D₃ та E при експериментальній глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії може стати підґрунтям для майбутнього клінічного дослідження щодо використання цих засобів у хворих, що отримують тривалу глюкокортикоїдну терапію.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Дисертантом особисто проведено патентно-інформаційний пошук та аналіз наукової літератури з проблеми остеопорозу, його лікування та профілактики. Ідею дисертаційної роботи запропоновано дисертантом, спільно з науковим керівником, доктором медичних наук професором Калашніковим Андрієм Валерійовичем, сформульовано мету і завдання дослідження, проведено обговорення результатів та висновків. Дисертант безпосередньо брав участь в проведенні експериментальних досліджень, особисто виконав обробку первинної документації, результатів експериментальних досліджень. Дисертант самостійно провів статистичну обробку результатів дослідження. Всі розділи дисертації написано та оформлено автором особисто. В статтях, що виконані у співавторстві, основний внесок належить дисертанту.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення наукового дослідження доповідались і обговорені на: IV міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених (Вінниця, 2015); XVII з'їзді ортопедів-травматологів України (Київ, 2016); науково-практичній конференції, присвяченій 220-річчю заснування Одеського військового госпіталю «Актуальні питання надання хірургічної допомоги та анестезіологічного забезпечення в умовах воєнного і мирного часу» (Одеса, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні дослідження в ортопедії та травматології (Четверті наукові читання, присвячені пам'яті академіка О.О. Коржа) (Харків, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових друкованих робіт, з яких 7 статей, у тому числі 7 статей у фахових періодичних виданнях, рекомендованих МОН України, 3 з них – у виданнях, що цитуються в міжнародних наукометричних базах Google Scholar, World Cat, Cite Factor, Science Index, OAJI, SCIARY, РИНЦ, 1 тези.

Структура та обсяг дисертації. Дисертацію викладено на 147 сторінках друкованого тексту, вона складається з анотації, вступу, 5 розділів, висновків, практичних рекомендацій, переліку літературних джерел та додатків, 15 таблиць та 23 рисунків включно. Перелік джерел медичної інформації містить 214 посилань, з яких 90 – кирилицею та 124 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність, сформульовано мету і завдання дослідження, його наукову новизну та практичну значущість.

У **першому розділі** «Проблема остеопорозу: сучасні аспекти патогенезу, діагностики та лікування» наведені дані щодо розповсюдження остеопорозу і його вторинної форми – глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу та їх наслідків. Також в цьому розділі розкриті патогенетичні аспекти розвитку остеопорозу і глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу зокрема, представленні основні напрямки діагностики при цих патологічних станах, надано характеристику і оцінку ефективності різних способів лікування.

У **другому розділі** «Матеріали та методи дослідження» представлена характеристика об'єктів експериментального дослідження. У відповідності до мети та завдань наукова робота носила експериментальний характер. При виконанні даного дослідження дотримувались загальноприйнятих світових та вітчизняних норм відповідно до основних положень Першого національного конгресу з біоетики «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах» (2001 р.), GCP (1996 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших цілях (від 18.03.1986 р.) та Закону України №3447-IV від 21.02.2006р. «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Для вивчення профілактичної дії вітамінів D₃ та E на зміни з боку обміну кальцієм в організмі, структурно-функціонального стану суглобового та епіфізарного хрящів, кісткової тканини, що виникають при застосуванні глюкокортикоїдів, нами було проведене експериментальне дослідження на 68 щурах-самцях лінійної породи Вістар віком 2 місяці з масою 100,0±5,0 г у віварії ДУ «Інститут травматології та ортопедії». Експериментальні тварини у віварії утримувались відповідно до загальноприйнятих норм (Западнюк И. П. и соавт., 1983; Шалимов А. А., Радзиховский А. П., Кейсевич Л. В., 1989). Перед проведенням дослідження відібрані для експерименту тварини два тижні знаходились на карантині. У період карантину і під час експерименту тварини перебували в стандартних пластикових клітках при належних кліматичних умовах (температура повітря – 18–22⁰С, вологість повітря – 50–60%), зі звичайним світовим режимом «день-ніч», на стандартному харчовому раціоні. Відбір тварин у дослідні групи проводився за методом «випадкових чисел» (Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н., 2000).

Експериментальних тварин було розподілено на чотири дослідні групи по 17 щурів у кожній (табл. 1). Всім тваринам протягом зазначеного терміну спостереження щоденно виконували пероральне введення відповідної діючої речовини за допомогою зонду з оливою.

Інтактні тварини щоденно отримували по 0,5 мл 0,9 % розчину хлориду натрію.

Тваринам II серії вводили розчин преднізолону в дозі 0,5 мг/100 г маси тіла. У цих тварин вивчали вплив тривалого введення преднізолону на мінеральний та D-вітамінний обміни, на структурно-функціональну організацію тканинних структур кістки, суглобового та епіфізарного хрящів.

Тваринам III серії, аналогічно до тварин II серії, вводили щоденно ту ж саму дозу преднізолону, а також, додатково, 100 МО вітаміну D₃, з метою визначення профілактичної дії вітаміну D₃ щодо розвитку порушень мінерального та D-вітамінного обміну, структурно-функціональної організації кісткової тканини, суглобового та епіфізарного хрящів на фоні тривалого введення преднізолону.

Експериментальні тварини четвертої серії отримували щоденно зазначені дози преднізолону, вітаміну D₃ та, додатково, 0,726 МО (0,6 мг) вітаміну Е. Метою при цьому стала оцінка можливого потенціювання профілактичної дії вітаміну D₃ вітаміном Е щодо змін мінерального та D-вітамінного обміну, структурно-функціональної організації кісткової тканини, суглобового та епіфізарного хрящів на фоні тривалого введення преднізолону.

Таблиця 1

Розподіл експериментальних тварин за дослідними серіями

Група	Кількість тварин	Термін спостереження (доба)
Інтактні тварини (I серія)	17	30
ГК-індукована остеохондропатія (II серія)	17	30
ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітаміну D ₃ (III серія)	17	30
ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітамінів D ₃ та Е (IV серія)	17	30
Всього	68	-

Протягом експерименту спостерігали за тваринами, оцінюючи їх стан за наступними параметрами: рухова активність, поїдання кормів, стан хутряного покриву.

У термін завершення експерименту тварин зважували, проводили забір крові для визначення біохімічних показників та виводили з дослідів шляхом передозування ефіру для наркозу. Після цього проводився забір матеріалу для гістоморфологічних та гістоморфометричних досліджень.

З-поміж біохімічних досліджень, у експериментальних тварин у крові визначали рівень кальцію та фосфору, активність лужної фосфатази (ЛФ) та її ізоферментів, рівень 25(OH)D₃. Рівень кальцію в сироватці крові визначали за допомогою біотест-набору ЛАХЕМА (Чехія). Вміст неорганічного фосфору в сироватці крові визначали після зсідання білків 12% розчином трихлороцтової кислоти за методом Duce (Duce B. J., Vesman S. P., 1973). Активність загальної лужної фосфатази в сироватці крові визначали за допомогою біо-тест наборів виробництва ЛАХЕМА (Чехія). Активність ізоферментів лужної фосфатази визначали з використанням їхніх інгібіторів (Плеханов Б. и соавт., 2008). Для визначення рівня 25(OH)D₃ в сироватці крові застосували метод імуноферментного аналізу з використанням відповідної тест-системи 25-Hydroxy Vitamin D, IDS, Immunodiagnostic (Німеччина) (Апуховська Л. І. та спів., 2009; Dueland et al, 1981).

Для проведення гістоморфологічних та гістоморфометричних досліджень у виведених з експерименту тварин видаляли та очищували від м'яких тканин великогомілкової та стегнові кістки.

Зольність кісткової тканини визначали після її знежирення гексаном методом сухої мінералізації при температурі 600-800°C, при цьому кістки спалювались в муфельній печі у фарфорових тиглях протягом 12 годин. Після розтирання кістки в порцеляновій ступці отриману золу зберігали в герметично закритих мікропробірках. За різницею маси сухої кістки й золи визначалась кількість органічних і мінеральних речовин (Брицке Э. М., 1982). Зважування проводилися за допомогою аналітичних ваг ВЛА-200 (точність – до 0,1 мг).

Для хімічного дослідження брали 10 мг золи і розчиняли її в 2 мл 0,1 М розчину соляної кислоти, після чого добавляли бідистильовану воду до загального об'єму в 25 мл. Вміст кальцію в отриманій рідині визначали за допомогою фотометру атомної абсорбції типу «Сатурн-2» в режимі емісії у повітряно-пропановому полум'ї, кількість фосфору – шляхом фотокolorиметрії за Брігсом на електрофотокolorиметрі КФК-3 (Новиков Ю. В., Аксюк А. М., Леточников А. М., 1969).

Остеометричні дослідження стегнової кістки включали вимірювання її довжини між верхнім полюсом голівки та найбільш дистальною точкою суглобової поверхні медіального виростка, вимірювання товщини кістки в горизонтальній площині в середній третині діафіза. При вимірюванні застосовували штангенциркуль з точністю до 0,1 мм (Меркулов Г. А., 1986). Після зазначених вимірювань стегнові кістки піддавали фіксації в 10% розчині нейтрального формаліну, декальцинації у 5%-ному розчині азотної кислоти, вирізали повздовжні та поперечні шматочки, після зневоднення і знежирювання в спиртах наростаючої міцності, заливали в целоїдин. За допомогою мікротому отримували тонкі повздовжні зрізи у фронтальній площині проксимального відділу стегнової кістки та поперечні зрізи із середньої третини діафіза товщиною 10 мкм. Фарбування виконували гематоксиліном та еозином, а також гематоксиліном та пікрофуксином за Ван Гізоном. (Меркулов Г. А., 1986). Гістологічні дослідження проводились на мікроскопах МБС-2 та OlympusCX-41. Мікрофотографії робили за допомогою фотоапарату NikonD90, що закріплювався на тубусі мікроскопу.

З-поміж гістоморфометричних показників, що характеризують структурно-кількісні особливості стегнових кісток, хрящів проксимального епіметафіза стегнових кісток шурів, досліджували наступні показники:

Кістковий об'єм вторинної спонгіози проксимального метафіза стегнової кістки (bone volume / total volume BV / TV%): у квадратному тестовому вікні з числом перетинів сітки 10×10 визначали число перетинів, що накладалися на зображення кісткових трабекул вторинної спонгіози, до сумарного числа перетинів у двох полях зору при збільшенні 20×7.

Площа компактної кісткової тканини у поперечних зрізах середини діафіза (площа компактної кісткової тканини всього «кісткового кільця») у мм². Для цього застосовували окулярну квадратно-сітчасту вставку при збільшенні мікроскопу 4×7, вираховували сумарне число перетинів сітки, що припадали на зображення кортекса «кісткового кільця» та множили його на абсолютне значення площі, що було розраховане за допомогою контрольного засобу вимірювання (окуляр-мікрометр) та відповідає одному перетину сітки при цьому збільшенні (0,036864 мм²).

Питоме число перетинів судинних каналів на одиницю площі тестової ділянки тканини кортекса (число перетинів/мм²). Тестова ділянка кортекса завжди вибиралася по передній ділянці «кісткового кільця» у поперечному зрізі діафіза. Для розрахунку індивідуальних параметрів попередньо визначали площу ділянки кортекса, що при збільшенні мікроскопу 20×7 потрапляла на зображення ділянки кортекса у тестовому вікні (площа одного квадрату складала 0,001521 мм²) та підраховували число перетинів судинних каналів кортекса в ділянці, що потрапляла до тестового вікна. Потім число перетинів судинних каналів ділили на площу ділянки кортекса у тестовому вікні.

Товщина суглобового хряща та епіфізарного хрящів голівки стегнової кістки у найбільш проксимально розташованих ділянках хрящів поблизу місця приєднання зв'язки голівки стегнової кістки, у мм.

Питома кількість хондроцитів на одиницю площі зрізу хрящів у тестовому вікні, число клітин/мм². При цьому тестову ділянку у суглобовому і епіфізарному хрящах вибирали в найбільш проксимальній частині на фронтальному зрізі проксимального кінця стегнової кістки.

Кількість великих ділянок інтертериторіального хрящового матрикса (великих ділянок матрикса) у зрізах суглобового хряща та епіфізарного хряща. При цьому у зрізах хрящів підраховували число великих ділянок матрикса, що не містили хондроцитів.

Статистичний аналіз отриманих показників здійснений за допомогою пакету прикладних програм Statistica (StatSoftInc., США), версія 6.1 (ліцензійний №BX XR901E246022FA). Для порівняння відповідних показників незалежних груп застосовували непараметричний критерій Колмогорова-Смірнова. Дослідження кореляційних зв'язків між окремими гістоморфометричними показниками визначали за допомогою коефіцієнта кореляції Пірсона. Різниця між відповідними показниками рахувалась значущою при $p \leq 0,05$.

У **третьому розділі** «Структурно-функціональний стан кісткової тканини, суглобового та епіфізарного хрящів при тривалому застосуванні преднізолону в експерименті» представленні результати, що відобразили негативний вплив тривалого застосування преднізолону на кісткову та хрящову тканини експериментальних тварин.

Першими результатами, що вказували на негативний вплив преднізолону на тварин II серії, стали зменшення їх рухової активності, зниження інтенсивності поїдання корму, втрата блиску хутра в порівнянні з інтактними тваринами. Першими об'єктивними показниками, що відображали такий вплив, стали достовірно менші маса тіла, середня маса великогомілкової кістки, довжина та товщина стегнової кістки після закінчення 30-денного експерименту (табл. 2).

Маса тіла та остеометричні показники у експериментальних тварин I – IV серій

Група	Досліджуваний показник після експерименту				
	Маса тіла до експерименту (г)	Маса тіла після експерименту (г)	Маса великогомілкової кістки після експерименту (мг)	Довжина стегнової кістки після експерименту (мм)	Товщина стегнової кістки після експерименту (мм)
Інтактні тварини (I серія)	105,0±1,0	190,0±4,0	254,6±4,0	31,01±0,05	3,49±0,06
ГК-індукована остеохондропатія (II серія)	105,0±1,7	160,0±3,6*	229,7±1,9*	28,81±0,25*	3,07±0,04*
ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітаміну D ₃ (III серія)	104,0±1,5	160,0±3,0*	246±1,2**	29,01±0,03*	3,11±0,06*
ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітамінів D ₃ та E (IV серія)	104,1 ±1,4	165,0±4,0*	272,8±2,4**	29,08±0,43*	3,12±0,05*

Примітка: * – достовірна різниця в порівнянні з I серією дослідів ($p \leq 0,05$);

** – достовірна різниця в порівнянні з II серією дослідів ($p \leq 0,05$)

Також у тварин II серії, що отримували преднізолон, відзначені достовірно нижчі показники, що відображають мінеральну щільність кісткової тканин (МЩКТ), у порівнянні з відповідними показниками тварин I серії (табл. 3). Додатково у тварин II серії в плазмі крові були визначені суттєво нижчі рівні кальцію, фосфору, достовірно вищі рівні лужної фосфатази та її кишкового та кісткового ензимів, що вказувало на значні зміни у них з боку обміну мінеральних речовин. Негативний вплив преднізолону у тварин II серії також проявився суттєвим зниженням в крові вітаміну D, який в нашому дослідженні визначався за рівнем 25(OH)D₃ (табл. 4).

Всі вище вказані зміни параметрів, що відображають стан мінерального та D-вітамінного обміну, у дослідних тварин II серії супроводжувались змінами гістологічної структури компактної кісткової тканини, суглобового хряща та епіфізарного хряща проксимального епіметафіза стегнової кістки.

Гістологічні зміни в кістковій тканині II серії тварин в порівнянні з інтактними тваринами підтверджені низкою визначених гістоморфометричних показників (табл. 5).

Хоча кістковий об'єм вторинної спонгіози проксимального метафіза стегнової кістки у тварин II серії був дещо збільшеним ($p > 0,05$), було визначене суттєве зменшення з боку такого показника як площа компактної кісткової тканин середини діафіза стегнової кістки (достовірно менша за відповідний показник інтактних тварин).

Показники мінеральної щільності кісткової тканини у експериментальних тварин I – IV серій

Група	Досліджуваний показник				
	Зольність кісткової тканини (%)	Вміст кальцію у золі великогомілкової кістки (мг/100 мг тканини)	Вміст кальцію у золі великогомілкової кістки (%)	Вміст фосфору у золі великогомілкової кістки (мг/100 мг тканини)	Вміст фосфору у золі великогомілкової кістки (%)
Інтактні тварини (I серія)	59,5±1,2	19,4±0,3	39,0±0,2	10,8±0,2	18,8±0,3
ГК-індукована остеохондропатія (II серія)	53,3±0,1*	15,7±0,4*	26,0±0,3*	9,2±0,1*	16,3±0,2*
ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітаміну D ₃ (III серія)	58,3±0,7**	16,7±0,2**	30,6±0,3**	9,8±0,1**	17,2±0,1**
ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітамінів D ₃ та E (IV серія)	59,8±0,3**	17,1±0,3**	32,1±0,4**	10,2±0,1**	18,5±0,2**

Примітка: * – достовірна різниця в порівнянні з I серією дослідів (p≤0,5);

** – достовірна різниця в порівнянні з II серією дослідів (p≤0,5)

Таблиця 4

Біохімічні показники, визначені в плазмі крові у експериментальних тварин I – IV серій

Досліджуваний показник	Інтактні тварини (I серія)	ГК-індукована остеохондропатія (II серія)	ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітаміну D ₃ (III серія)	ГК-індукована остеохондропатія на фоні застосування вітамінів D ₃ та E (IV серія)
Кальцій (ммоль/л)				
-загальний	2,29±0,03	1,91±0,02*	2,20±0,03**	2,26±0,02**
-білковозв'язаний	0,23±0,01	0,22±0,01	0,20±0,01	0,21±0,01
-ультрафільтрувальний	2,06±0,01	1,69±0,02*	1,98±0,01**	2,05±0,02**
Фосфор (ммоль/л)	2,20±0,03	1,82±0,02*	2,20±0,01**	2,28±0,02**
Лужна фосфатаза (Од/л)				
-загальна	235,0±0,5	347,0±0,5*	273,0±0,2**	260,0±1,0**
-кишковий ензим	52,6±0,9	92,0±0,7*	87,0±0,5**	83,0±0,7**
-кістковий ензим	200,0±3,0	320,0±1,0*	250,0±1,5**	235,0±1,2**
25(OH)D ₃ (нг/мл)	38,1±1,2	7,9±0,2*	24,2±2,0**	50,0±1,2**
25(OH)D ₃ (нмоль/л)	(92,3±3,0)	(19,85±0,5)*	(60,6±5,0)**	(126,8±3,5)**

Примітка: * – достовірна різниця в порівнянні з I серією дослідів (p≤0,05);

** – достовірна різниця в порівнянні з II серією дослідів (p≤0,05)

Гістоморфометричні показники кісткової тканини у інтактних тварин та тварин II серії, що отримували преднізолон

Досліджуваний показник	Інтактні тварини (I серія)	ГІОХП (II серія)	ГІОХП з уведенням вітаміну D ₃ (III серія)	ГІОХП з уведенням вітамінів D ₃ та E (IV серія)
Кістковий об'єм вторинної спонгіози проксимального метафіза стегнової кістки (%)	36,9±3,4	37,6±1,9	40,9±1,6	44,2±1,5**
Площа компактної кісткової тканини середини діафіза стегнової кістки (мм ²)	2,37±0,15	1,88±0,16*	2,13±0,15	2,17±0,19
Питоме число перетинів судинних каналів на одиницю площі тестової ділянки тканини кортексу	188,3±12,8	209,0±15,9	230,4±19,6	226,5±22,2

Примітки: * – достовірна різниця в порівнянні II та I серіями дослідів ($p \leq 0,05$);

** – достовірна різниця в порівнянні IV та II серіями дослідів ($p \leq 0,1$).

Щодо питомого числа перетинів судинних каналів на одиницю площі тестової ділянки тканини кортексу, то цей показник був більшим за відповідний показник інтактних тварин, але без достовірної різниці. Отже, зміни параметрів гістоморфометричних показників дозволили виявити зменшення маси кісткової тканини діафіза тварин II серії, а збільшення у цих тварини показника кількості судинних каналів в діафізі кістки вказувало на посилення процесів перебудови кісткової тканини з переважанням фази остеорезорбції.

При оцінці визначених кореляційних зав'язків між окремими гістоморфометричними показниками кісткової тканини щурів, були виявлені певні закономірності, серед яких можна виділити наступні. У інтактних щурів збільшення кісткового об'єму вторинної спонгіози метафізу стегнової кістки пов'язане з питомим числом перетинів судинних каналів.

У тварин II серії залежність між цими показниками виявилась протилежною – зменшення кісткового об'єму вторинної спонгіози проксимального метафіза стегнової кістки, хоча і в діапазоні слабких значень, корелює зі збільшенням числа перетинів судинних каналів. Для II серії тварин також можна відзначити ще одну виявлену залежність: зменшення площі компактної кісткової тканини середини діафіза стегнової кістки супроводжується збільшенням питомого числа судинних каналів на одиницю площі перетину кісткової тканини кортексу. Всі зазначені вище зміни МЩКТ, гістоморфометричних показників об'єктивно підтвердили розвиток у тварин, що 30 днів отримували розчин преднізолону, змін структури кісткової тканини, характерних для остеопорозу.

Гістоморфометричні показники, що були отримані при дослідженні суглобового та епіфізарного хрящів, продемонстрували порушення структури і

будови цих структурних елементів у тварин, що отримували преднізолон, в порівнянні з серією інтактних щурів (табл. 6, 7).

Таблиця 6

Гістоморфометричні показники суглобового хряща головки стегнової кістки в I–IV серіях експериментальних тварин

Досліджуваний показник	Інтактні тварини (I серія)	ГЮХП (II серія)	ГЮХП з уведенням вітаміну D ₃ (III серія)	ГЮХП з уведенням вітамінів D ₃ та E (IV серія)
Товщина суглобового хряща (мм)	0,208±0,036	0,160±0,006***	0,172±0,006	0,177±0,007
Питома кількість хондроцитів (на 1 мм ²)	2383,2±398,2	2982,4±712,1	2603,9±169,9	2592,0±150,9
Кількість великих ділянок матриксу	12,1±0,7	11,857±1,326 **	8,071±0,960 *	17,614±0,526 *

Примітки: * – достовірна різниця в порівнянні I – III ($p \leq 0,01$) та I – IV ($p \leq 0,001$) серій дослідів;

** – достовірна різниця в порівнянні II – III ($p \leq 0,05$) та II – IV ($p \leq 0,002$) серій дослідів;

*** – достовірна різниця в порівнянні II – IV ($p \leq 0,05$) серій дослідів

Таблиця 7

Гістоморфометричні показники епіфізарного хряща проксимального епіметафіза стегнової кістки в I–IV серіях експериментальних тварин

Досліджуваний показник	Інтактні тварини (I серія)	ГЮХП (II серія)	ГЮХП з уведенням вітаміну D ₃ (III серія)	ГЮХП з уведенням вітамінів D ₃ та E (IV серія)
Товщина епіфізарного хряща (мм)	0,170±0,0128	0,167±0,0104	0,150±0,0093	0,152±0,0075*
Питома кількість хондроцитів (на 1 мм ²)	4106,6±163,2	4381,9±380,3	4272,3±244,7**	3744,4±269,1
Кількість великих ділянок матриксу	1,600±0,400	2,333±0,558*	2,600±0,510**	1,667±0,333**

Примітки: * – достовірна різниця в порівнянні II – IV ($p \leq 0,05$) серій дослідів;

** – достовірна різниця в порівнянні III – IV ($p \leq 0,05$) серій дослідів.

Так, у тварин II серії було відзначене суттєве зменшення товщини суглобового хряща і питомої кількості хондроцитів по відношенню до відповідних показників інтактної серії тварин ($p \leq 0,05$), при цьому різниці між кількістю ділянок інтертериторіального хрящового матриксу відзначено не було. Щодо епіфізарного хряща, то його товщина була співмірною в обох зазначених серіях тварин, але при цьому у тварин II серії відзначалось суттєве збільшення питомої кількості хондроцитів і кількості ділянок інтертериторіального хрящового матриксу ($p \leq 0,05$).

Вивчені кореляційні залежності між гістоморфометричними показниками суглобового і епіфізарного хрящів у I та II серіях дослідів продемонстрували наступні закономірності. Зменшення товщини суглобового хряща супроводжувалось збільшенням в ньому питомої кількості хондроцитів та кількості безклітинних ділянок хрящового матриксу. Якщо у інтактних тварин число

безклітинних ділянок суглобового хряща супроводжувалось, то воно супроводжувалось і збільшенням питомої кількості хондроцитів ($r=0,525$), а у тварин II серії такої залежності не відзначено. В епіфізарному хрящі тварин II серії дослідів питома кількість хондроцитів не залежала від товщини хряща, в той час у інтактних тварин ця залежність була вираженою ($r=0,93$). Питома кількість хондроцитів в епіфізарному хрящі у тварин II серії мала середньої сили позитивний зв'язок з кількістю безклітинних ділянок у хрящі ($r=0,500$), при цьому товщина епіфізарного хряща не впливала на кількість безклітинних ділянок. Якщо товщина суглобового хряща у інтактних тварин сильно позитивно корелювала з товщиною епіфізарного хряща, то у тварин II серії цей зв'язок навпаки мав негативне значення. Чим більшою була кількість безклітинних ділянок в суглобовому хрящі тварин II серії, тим більшою вона була і в епіфізарному хрящі ($r=0,59$).

Отже, порівняння показників структурно-функціонального стану кісткової і хрящової тканин тварин II серії з відповідними показниками інтактних тварин дозволило зробити висновок, що введення преднізолону протягом 30 діб призводило до розвитку низки патологічних змін, сукупність яких можна трактувати як модель глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії. Ця обставина створила можливість об'єктивно оцінити в експерименті превентивний вплив застосування вітамінів D₃ та E на розвиток структурно-функціональних змін в кістковій і хрящовій тканинах на фоні прийому ГК.

У **четвертому розділі** «Вплив вітамінів D₃ та E на мінеральний та D-вітамінний обмін на фоні тривалого застосування преднізолону» представлені дані про загальний стан, масу тіла, остеометричні показники, показники мінеральної щільності кісткової тканини та біохімічні показники у експериментальних тварин, що приймали вітаміни D₃ та E, та порівняння цих показників з відповідними, отриманими в серії тварин, що приймали лише вітамін D₃.

Оцінка загального стану тварин III та IV серій вже в певній мірі вказувала на позитивну дію вітамінів D₃ та E при тривалому прийомі ГК. Загалом він був практично не змінений і тварини зазначених серій дослідів за своєю рухливістю, активністю поїдання кормів, стану хутра не відрізнялись від інтактною групи шурів. Прийом вітамінів практично не вплинув на такі параметри як довжина стегнової кістки і товщина стегнової кістки. Як і значення цих показників у II серії, в III та IV серіях досліджень вони достовірно були нижчими за показники інтактних тварин. Між собою в цих серіях дослідів ці параметри також не відрізнялись, хоча і були дещо вищими за відповідні показники тварин, що отримували тільки преднізолон. Подібні ж співвідношення відзначені і для визначеної маси тіла тварин III та IV. Хоча середній показник маси тіла тварин IV серії і був більшим за відповідні показники тварин II та III серій, достовірної різниці при цьому визначено не було. Суттєві відмінності були визначені при вивченні такого показника як маса великогомілкової кістки. Тут позитивний вплив поєднаного застосування вітамінів D₃ та E проявив себе в повній мірі. Показник IV серії тварин виявився більшим за відповідні показники, визначені в усіх інших серіях дослідів ($p \leq 0,5$). Даний аспект можна зарахувати як більш виражену позитивну дію при сумісному застосуванні вітамінів D₃ та E у порівнянні з дією лише одного вітаміну D₃ (табл.2).

Виражений позитивний превентивний ефект поєданого застосування вітамінів D₃ та E, у порівнянні з використанням тільки вітаміну D₃, був виявлений при вивченні показників, що характеризують мінеральну щільність кісткової тканини. Так, зольність кісткової тканини, вміст кальцію та фосфору в золі великогомілкової кістки у тварин III серії були вищими за відповідні показники, визначені у тварин II серії, в той же час, ці параметри у тварин IV серії виявились найвищими і максимально наближеними до відповідних рівнів, визначених у інтактних тварин (табл.3).

Про більш виражену превентивну дію застосування вітамінів в IV серії тварин засвідчила і низка біохімічних параметрів, що визначались в плазмі крові. Загальні рівні кількості кальцію у тварин III та IV серій виявились більшими за відповідний рівень у тварин з моделлю ГК-індукованої остеохондропатії ($p \leq 0,05$), при цьому у тварин IV серії цей показник мав дещо вищий середній параметр, ніж у тварин, що отримували тільки вітамін D₃. Суттєвих різниць при вивченні кількості білковопов'язаного кальцію між досліджуваними групами не виявлено. Щодо ультрафільтрувального кальцію, то його рівень в IV серії був ідентичний параметру інтактних тварин і суттєво перевищував параметр тварин III серії ($p \leq 0,05$), який, в свою чергу, суттєво різнився від показників тварин II серії дослідів ($p \leq 0,05$). Подібна закономірність відзначена і для показника кількості фосфору в плазмі крові, який у IV серії дослідів перевищив навіть параметр інтактних тварин.

Найвищі рівні лужної фосфатази та її ензимів були визначені у тварин з ГК-індукованою остеохондропатією. Параметр цього біохімічного показника у тварин III серії мав суттєво нижчі значення по відношенню до параметра у тварин II серії ($p \leq 0,05$), при цьому рівні лужної фосфатази та її ензимів у IV серії дослідів були ще достовірно нижчими ($p \leq 0,05$) і максимально наближались до відповідних параметрів, визначених у інтактних тварин. Отже, за цим параметром, дистрофічні зміни кісткової тканини були значно меншими при поєданому застосуванні вітамінів D₃ та E, хоча превентивне застосування тільки вітаміну D₃ мало також, хоча і меншою мірою, позитивний ефект.

Використання ГК призводить до розвитку вираженого D-гіповітамінозу, який проявився суттєвим зниженням вмісту 25(OH)D₃ в плазмі крові у тварин з ГК-індукованою остеохондропатією у порівнянні з інтактними тваринами. Превентивне застосування вітаміну D₃ в III серії тварин попереджало таке суттєве зниження вмісту цього вітаміну, хоча і не утримувало його на рівні, що відповідав рівню інтактних тварин. Превентивне поєдане використання вітамінів D₃ та E при розвитку ГК-індукованої остеохондропатії призводило не тільки до збереження вмісту 25(OH)D₃ у плазмі крові, але і до суттєвого перевищення цього параметра по відношенню до рівня, визначеного у серії інтактних тварин ($p \leq 0,05$) (табл. 4).

У п'ятому розділі «Вплив вітамінів D₃ та E на морфологічну будову діафіза стегнової кістки, суглобового і проксимального епіфізарного хрящів при моделюванні глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії» представленні результати, що були отримані після гістоморфологічних та гістоморфометричних досліджень у тварин III та IV серій.

У порівнянні з II серією тварин, морфологічна будова компактної кісткової тканини діафіза стегнової кістки у тварин, що отримували тільки вітамін D₃, була

більш наближеною до структури, що була визначена у інтактних тварин. Серед виявлених ознак можна відзначити такі як візуальне зменшення кількості судинних каналів у шарі зовнішніх генеральних пластинок кортексу, хоча більшість з них була неправильної форми, а також зменшення величини і кількості ділянок з порушеним формуванням або відсутністю шарів внутрішніх та зовнішніх генеральних пластинок. Але все ж таки, максимально наближеною будова компактної кісткової тканини по відношенню до нормальної структури виявилась у тварин, що отримували обидва вітаміни одночасно. У цих тварин судинні канали були правильної форми, їх кількість візуально не була збільшеною, не визначались також ділянки з порушенням формування шарів внутрішніх та зовнішніх генеральних пластинок.

Серед гістологічних ознак, виявлених в суглобовому хрящі тварин III серії, в порівнянні з відповідними у тварин II серії, можна відзначити візуальне зменшення кількості безклітинних ділянок хрящового матриксу у проміжній та глибокій зонах. У тварин IV серії будова суглобового хряща виявилась практично аналогічною до нормальної.

В епіфізарному хрящі тварин III серії відзначалось візуальне зменшення товщини по відношенню до відповідної, що мала місце у інтактних тварин. На відміну від тварин II серії, у яких практично була відсутня зона первинної спонгіози, у тварин III серії ця зона була збереженою. Щодо гістоморфометричної будови проксимального епіфізарного хряща та метафіза стегнової кістки у тварин IV серії, то суттєвих візуальних ознак у порівнянні з нормальною будовою цієї анатомічної ділянки у інтактних тварин визначено не було.

Визначені середні параметри гістоморфометричних показників у III та IV серіях експериментів дали можливість об'єктивно оцінити зміни структурно-функціонального стану кісткової тканини у цих досліджуваних тварин і порівняти їх як між собою, так і з відповідними параметрами, що були визначені в I та II серіях дослідів. Так, рівень показника об'єму вторинної спонгіози метафіза стегнової кістки у тварин IV серії був найвищим і достовірно відрізнявся як від показника III серії, так і від відповідних показників, визначених в I та II серіях дослідів. Визначені площі компактної кісткової тканини в III та IV серіях були рівнозначними і дещо нижчими за показник інтактних щурів, при цьому вони були суттєво більшими за показник II серії тварин. Питоме число судинних каналів збільшувалось як в II, III так і IV серіях тварин (найбільше в III серії), але достовірної різниці між всіма параметрами і з відповідним параметром інтактних тварин не виявлено (табл. 5).

Серед вивчених кореляцій між гістоморфометричними показниками компактної кісткової тканини у тварин III та IV серій можна відзначити наступні. Кістковий об'єм вторинної спонгіози проксимального метафіза стегнової кістки у тварин IV серії виявляє позитивний зв'язок із площею компактної кісткової тканини середини діфіза стегнової кістки ($r=0,45$). В інших серіях такого зв'язку не відзначено. Також цікавим виявилось те, що питоме число перетинів судинних каналів не мало вираженої кореляції з визначеним кістковим об'ємом вторинної спонгіози метафіза, хоча для I та II серії тварин такий зв'язок (в діапазоні слабких значень) мав місце. Збільшення площі компактної кісткової тканини в III та IV серіях супроводжувалось збільшенням числа перетинів судинних каналів

(відповідно $r=0,44$ та $r=0,48$). Отже, висвітлені вище гістоморфометричні параметри демонструють позитивні ефекти превентивного застосування вітамінів при розвитку ГК-індукованої остеохондропатії, при цьому більш значущим цей ефект можна очікувати при поєднаному застосуванні вітамінів D_3 та E .

Уведення в організм тварин вітамінів в III та IV серіях дослідів призводило до тенденції збереження товщини суглобового хряща, а також до незначного підвищення питомої кількості хондроцитів по відношенню до відповідних показників в серії інтактних тварин. У тварин з моделлю ГК-індукованої хондропатії відзначене суттєве збільшення питомої кількості хондроцитів по відношенню до параметрів в інших серіях дослідів. Щодо кількості великих ділянок хрящового матриксу, то найбільше їх виявилось у тварин IV серії, найменше – III серії. У тварин II серії цей показник відповідав рівню показників інтактних тварин. Отже, товщина суглобового хряща зменшується під впливом дії ГК на хондроцити поверхневої зони, а під поєднаним впливом вітамінів D_3 та E при цьому виявляє тенденцію до наближення до нормальних значень (табл. 6).

Як і преднізолон, так і застосування вітамінів не призводило до достовірних змін товщини епіфізарного хряща. Під впливом ГК відзначена тенденція до збільшення в цьому хрящі питомої кількості хондроцитів у тварин II серії дослідів, така ж тенденція була відзначена і для тварин III серії. Спільна дія вітамінів D_3 та E призводили до зменшення цього параметра та наближення його до параметра інтактних тварин. Кількість великих ділянок хрящового матриксу в IV серії тварин дорівнювала значенню цього показника у інтактних тварин, при цьому у тварин III серії дослідів їх кількість виявилась найбільшою і була наближеною до параметра тварин з ГК-індукованою остеохондропатією (табл. 7).

Серед виявлених кореляцій між морфометричними показниками суглобового та епіфізарного хрящів можна відзначити наступні, що на нашу думку, характеризують структурно-функціональний стан цих анатомічних утворень під впливом тих чи інших чинників. Так, якщо зменшення товщини суглобового хряща призводило до збільшення питомої кількості хондроцитів та збільшувало кількість великих безклітинних ділянок матриксу в I та II серіях дослідів, то в III та IV серіях такої сильної залежності не відзначено. Також збільшення питомої кількості хондроцитів у суглобовому хрящі у тварин I та II серій супроводжувалось збільшенням кількості безклітинних ділянок в суглобовому хрящі, в той же час такої залежності при використанні вітамінів не відзначено. Зв'язок показника товщини епіфізарного хряща та кількості великих ділянок матриксу у тварин, що отримували вітаміни D_3 та E , виявив негативне значення, такого зв'язку у тварин, що отримували тільки вітамін D_3 виявлено не було. Збільшення питомої кількості хондроцитів в епіфізарному хрящі у тварин III та IV серій дослідів супроводжувався зменшенням кількості безклітинних ділянок матриксу (відповідно $r=-0,63$ та $r=-0,70$).

Отже, проведені нами дослідження показали, що превентивне застосування тільки вітаміну D_3 , або спільно вітамінів D_3 та E , загалом справляють позитивний ефект щодо збереження структурно-функціонального стану кісткової та хрящової тканин у експериментальних тварин при моделюванні у них ГК-індукованої остеохондропатії. В той же час, цей ефект виявився більш вираженим саме при

поєднаній превентивній дії вітамінів D₃ та E. Отримані результати даного дослідження є підставою для подальших клінічних досліджень, спрямованих на вивчення ефекту поєданого застосування вітамінів D₃ та E у пацієнтів, що отримують тривалу глюкокортикоїдну терапію.

ВИСНОВКИ

1. Щоденне введення експериментальним тваринам преднізолону в дозі 0,5 мг/100 г маси тіла призводить до розвитку значних змін структурно-функціонального стану як кісткової, так і хрящової тканини. У порівнянні з інтактними тваринами відзначене достовірне зменшення ($p \leq 0,05$) маси тіла ($160,0 \pm 3,6$ г проти $190,0 \pm 4,0$ г), маси кісткової тканини ($229,7 \pm 1,9$ мг проти $254,6 \pm 4,0$ мг), довжини ($28,81 \pm 0,25$ мм проти $31,01 \pm 0,05$ мм) і товщини стегнової кістки ($3,07 \pm 0,04$ мм проти $3,49 \pm 0,06$ мм), на 6,2 % менша зольність кісткової тканини, на 13 % вміст кальцію і на 2,5 % вміст фосфору у великогомілковій кістці. Також відзначене суттєве зменшення кальцію ($1,91 \pm 0,02$ ммоль/л проти $2,29 \pm 0,03$ ммоль/л), фосфору ($1,82 \pm 0,02$ ммоль/л проти $2,20 \pm 0,03$ ммоль/л), 25(OH)D₃ в плазмі крові ($7,9 \pm 0,2$ нг/мл проти $38,1 \pm 1,2$ нг/мл), підвищення рівня лужної фосфатази та її ензимів в крові ($347,0 \pm 0,5$ Од/л проти $235,0 \pm 0,5$ Од/л). У таких тварин відзначене зменшення площі компактної кісткової тканини середини діафіза стегнової кістки ($1,88 \pm 0,16$ мм² проти $2,37 \pm 0,15$ мм²), товщини суглобового хряща ($0,160 \pm 0,025$ мм проти $0,208 \pm 0,036$ мм). Виявлені структурно-функціональні зміни кісткової та хрящової тканини можна трактувати як розвинену глюкокортикоїд-індуковану остеохондропатію.

2. Превентивна дія одночасного застосування вітамінів D₃ та E на зміни показників мінерального та D-вітамінного обміну у експериментальних тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією в порівнянні з дією одного вітаміну D₃ є більш ефективною, що проявилось суттєво більшими ($p \leq 0,05$) масою великогомілкової кістки ($272,8 \pm 2,4$ мг проти $246 \pm 1,2$ мг), зольністю кісткової тканини ($59,8 \pm 0,3$ % проти $58,3 \pm 0,7$ %), вмістом кальцію ($32,1 \pm 0,4$ % проти $30,6 \pm 0,3$ %) і фосфору ($18,5 \pm 0,2$ % проти $17,2 \pm 0,1$ %) у золі великогомілкової кістки, суттєво нижчими рівнем лужної фосфатази в плазмі крові ($260,0 \pm 1,0$ Од/л проти $273,0 \pm 0,2$ Од/л), а також значним збільшенням кількості 25(OH)D₃ ($50,0 \pm 1,0$ нг/мл проти $24,2 \pm 2,0$ нг/мл).

3. Поєднане використання вітамінів D₃ та E забезпечувало максимальне збереження гістоморфологічної будови стегнової кістки у тварин, у яких моделювали глюкокортикоїд-індуковану остеохондропатію, що проявилось більшим рівнем показника кісткового об'єму вторинної спонгіози метафіза стегнової кістки у порівнянні з тваринами, що отримували тільки вітамін D₃ ($44,2 \pm 1,5$ % проти $40,9 \pm 1,7$ %) та з другою серією тварин, які отримували преднізолон ($44,2 \pm 1,5$ % проти $37,6 \pm 1,9$ %).

4. Одночасне превентивне застосування вітамінів D₃ та E призводить до збереження гістоморфологічної будови хряща по відношенню до тварин другої серії, що проявилось більшою товщиною суглобового хряща ($0,177 \pm 0,007$ мм проти $0,160 \pm 0,06$ мм). Суттєвої різниці між впливами одночасного застосування вітамінів D₃ та E і тільки вітаміну D₃ на такі гістоморфометричними параметрами як товщина

суглобового хряща, питома кількість хондроцитів та кількість великих ділянок інтертериторіального хрящового матрикса не виявлено ($p > 0,05$).

5. Застосування вітамінів D₃ та E суттєво покращує структуру епіфізарного хряща проксимального відділу стегнової кістки, а саме: зменшення кількості безклітинних ділянок матриксу ($1,667 \pm 0,333$ проти $2,333 \pm 0,558$). Більш виражений профілактичний вплив поєднаного використання вітамінів D₃ та E на зміни гістоморфологічних та гістоморфометричних показників епіфізарного хряща проксимального епіметафіза стегнової кістки на фоні моделювання глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії в порівнянні з дією лише вітаміну D₃ проявився збереженням гістоморфологічної структури хряща в порівнянні зі структурою епіфізарного хряща у інтактних тварин, а також суттєво нижчими параметрами питомої кількості хондроцитів ($3744,4 \pm 269,1$ на 1 мм^2 проти $4272,3 \pm 244,7$ на 1 мм^2) та кількості великих безклітинних ділянок хрящового матрикса ($1,667 \pm 0,333$ проти $2,600 \pm 0,510$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Щоденне, протягом 30 днів, пероральне введення розчину преднізолону в дозі 0,5 мг/100 г маси тіла експериментальним тваринам (щурі) призводить до суттєвих змін структурно-функціонального стану компактної кісткової тканини, що загалом відповідають такому патологічному процесу як глюкокортикоїд-індукований остеопороз. З огляду на це, дану експериментальну модель рекомендуємо для використання при проведенні наукових досліджень з вивчення патогенетичних аспектів глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу, а також для вивчення ефективності тих чи інших засобів для його профілактики та лікування.

Виходячи з того, що тривале введення глюкокортикоїдів призводить до змін не тільки в компактній кістковій тканині, а і в суглобовому та епіфізарному хрящах, патологічний процес, що розвивається при цьому, можна трактувати як глюкокортикоїд-індукована остеохондропатія. При проведенні експериментальних досліджень щодо вивчення превентивної або лікувальної дії різноманітних засобів при глюкокортикоїд-індукованому остеопорозі, даний аспект має бути врахованим.

Отримані позитивні результати експериментального дослідження щодо превентивної дії одночасного застосування вітамінів D₃ та E на зміни структурно-функціонального стану компактної кісткової тканини, суглобового та епіфізарного хрящів дають підстави рекомендувати в подальшому проведення клінічного наукового дослідження з метою вивчення профілактичного ефекту поєднаної дії зазначених засобів у пацієнтів, у яких потенційно може розвиватись глюкокортикоїд-індукована остеохондропатія.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Калашніков, А. В., Бруско, А. Т., Кузів, Є. Л., Вільцанюк, О. О., Апуховська, Л. І. (2015). Морфологічні зміни суглобового і проксимального епіфізарного хрящів та діафіза стегнової кістки щурів при короткотривалому введенні преднізолону. *Вісник морфології*, 2(21), 303-307.

Режим доступу: [https://www.vnmu.edu.ua/downloads/other/visnik_morf_23\(2\).pdf](https://www.vnmu.edu.ua/downloads/other/visnik_morf_23(2).pdf)

Автором виконане експериментальне дослідження, проведені аналіз результатів та формування висновків.

2. Калашніков, А. В., Апуховська, Л. І., **Кузів, Є. Л.**, Вільцанюк, О. О. (2015). Вплив преднізолону на мінеральний та D-вітамінний обмін при його короткотривалому введенні. *Biomedical and Biosocial Antropology*, (25), 16-19.

Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=bba_2015_25_6.

Автором виконане експериментальне дослідження, проведені аналіз результатів та формування висновків.

3. Калашніков, А. В., Апуховська, Л. І., **Кузів, Є. Л.** (2017). Вплив вітаміну D₃ на мінеральний та D-вітамінний обмін при поєднаному введенні з преднізолоном. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 2(21), 370-374.

Режим доступу: [https://www.vnmu.edu.ua/downloads/other/visnik_2017_21\(2\).pdf](https://www.vnmu.edu.ua/downloads/other/visnik_2017_21(2).pdf)
Автором виконане експериментальне дослідження, проведені аналіз результатів та формування висновків.

4. Калашніков, А. В., Бруско, А. Т., **Кузів, Є. Л.** (2017). Морфологічна та морфометрична характеристика змін структурно-функціонального стану кісткової та хрящової тканини при поєднаному введенні вітаміну D₃ з преднізолоном. *Вісник морфології*, 2(23), 207-211.

Режим доступу: http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/opac/search.exe?C21COM=2&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&IMAGE_FILE_DOWNLOAD=1&Image_file_name=PDF/Vismorf%5F2017%5F23%5F2%5F10%2Epdf
Автором виконане експериментальне дослідження, проведені аналіз результатів та формування висновків.

5. Калашніков, А. В., **Кузів, Є. Л.** (2017). Остеопороз та глюкокортикоїд-індукований остеопороз – медико-соціальна проблема. *Biomedical and BiosocialAntropology*, 28, 193-197.

Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=bba_2017_28_50

Автором проведений збір і аналіз літературних джерел.

6. Григоровський, В. В., Калашніков, А. В., **Кузів, Є. Л.**, Апуховська, Л. І. (2018). Гістопатологія, морфометричні показники кісток, суглобового та епіфізарного хрящів при глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії в експерименті. *Патологія*, 2(15), 128-135.

Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=pathology_2018_15_2_3

Автором виконане експериментальне дослідження, проведені аналіз результатів та формування висновків.

7. Григоровський, В. В., Калашніков, А. В., Кузів Є. Л. (2018). Показники структурно-функціонального стану губчастої та компактної кістки та їхня кореляція за експериментального глюкокортикоїд-індукованого остеопорозу в умовах застосування вітамінів D та E. *Вісник ортопедії, травматології та протезування*, (1), 15-26.

Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=Votip_2018_1_5

Автором виконане експериментальне дослідження, проведені аналіз результатів та формування висновків.

8. Кузів Є. Л. (2017). Остеопороз та глюкокортикоїдіндукований остеопороз – медико-соціальна проблема. *Збірник наукових праць Української військово-медичної академії*, (48), 202-210.

Режим доступу: http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?I21DBN=LINK&P21DBN=UJRN&Z21ID=&S21REF=10&S21CNR=20&S21STN=1&S21FMT=ASP_meta&C21COM=S&2_S21P03=FILA=&2_S21STR=prvoz_2017_48_33

Автором виконаний збір і аналіз літературних джерел.

АНОТАЦІЯ

Кузів Є.Л. Вплив поєднаного застосування вітамінів D₃ та E на зміни структурно-функціонального стану кісткової та хрящової тканин при експериментальній глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.01.21 – травматологія та ортопедія. – ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України» – Київ, 2019.

В дисертації представлено вирішення наукового завдання, яке полягає у визначенні та оцінці превентивного ефекту поєднаного застосування вітамінів D₃ та E на розвиток змін структурно-функціонального стану кісткової та хрящової тканин при експериментальній глюкокортикоїд-індукованій остеохондропатії.

Встановлено, що тривале введення експериментальним тваринам преднізолону призводить до значних структурно-функціональних змін в кістковій та хрящовій тканинах, які можна трактувати як розвинену глюкокортикоїд-індуковану остеохондропатію.

Доведена більш позитивна превентивна дія одночасного застосування вітамінів D₃ та E на зміни показників мінерального та D-вітамінного обміну у експериментальних тварин з глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією в порівнянні з дією одного вітаміну D₃.

Встановлено, що поєднане використання вітамінів D₃ та E забезпечує максимальне збереження гістоморфологічної будови стегнової кістки у тварин, у яких моделювали глюкокортикоїд-індукованою остеохондропатією

Виявлена більш позитивна превентивна дія вітамінів D₃ та E на зміни структури і гістоморфометричних показників суглобового хряща проксимального

епіфіза стегнової кістки в порівнянні з дією одного вітаміну D₃ на фоні розвитку глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії.

Виявлений більш значний профілактичний вплив спільного застосування вітамінів D₃ та E на зміни гістоморфологічних та гістоморфометричних показників епіфізарного хряща проксимального епіметафіза стегнової кістки на фоні моделювання глюкокортикоїд-індукованої остеохондропатії в порівнянні з дією одного вітаміну D₃.

Ключові слова: глюкокортикоїд-індукована остеохондропатія, мінеральний та D-вітамінний обмін, гістоморфологічні та гістометричні показники компактною кістковою тканини, суглобовий хрящ, епіфізарний хрящ.

АННОТАЦІЯ

Кузив Е. Л. Влияние совместного использования витаминов D₃ и E на изменения структурно-функционального состояния костной и хрящевой тканей при экспериментальной глюкокортикоид-индуцированной остеохондропатии. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.21 – травматология и ортопедия. – ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины» – Киев, 2019.

В диссертации представлено решение научной задачи, которая заключается в определении и оценке превентивного эффекта совместного использования витаминов D₃ и E на развитие изменений структурно-функционального состояния костной и хрящевой тканей при экспериментальной глюкокортикоид-индуцированной остеохондропатии.

Определено, что длительное введение экспериментальным животным преднизолона в дозе 0,5 мг/100 г массы тела приводит к развитию значительных изменений структурно-функционального состояния как костной, так и хрящевой тканей. В сравнении с интактными животными отмечено достоверное уменьшение массы тела, массы костной ткани, содержания кальция и фосфора в большеберцовой кости. Также определено существенное уменьшение кальция, фосфора, 25(OH)D₃ в плазме крови, повышение уровня щелочной фосфатазы и ее энзимов в крови. У этих животных отмечено значительное уменьшение площади компактной костной ткани середины диафиза бедренной кости, толщины суставного хряща, увеличений удельного количества хондроцитов как в суставном хряще, так и в эпифизарном хряще, количества безклеточных участков интертерриториального хрящевого матрикса. Выявленные структурно-функциональные изменения костной и хрящевой ткани трактовали как развитая глюкокортикоид-индуцированная остеохондропатия.

Выявлено более эффективное превентивное действие совместного использования витаминов D₃ и E на изменения показателей минерального и D-витаминного обмена у экспериментальных животных в сравнении с действием только витамина D₃, что проявилось существенно большими массой большеберцовой кости (272,8±2,4 мг против 246±1,2 мг), зольностью костной ткани (59,8±0,3 % против 58,3±0,7 %), содержанием кальция (32,1±0,4 % против 30,6±0,3 %) и фосфора (18,5±0,2 % против 17,2±0,1 %) в золе большеберцовой кости, а также значительно меньшим уровнем щелочной фосфатазы (260,0±1,0 Од/л против

273,0±0,2 Од/л) и существенно большим содержанием 25(OH)D₃ (50,0±1,0 нг/мл против 24,2±2,0 нг/л) в плазме крови.

Совместное использование витаминов D₃ и E обеспечило максимальное сохранение гистоморфологического строения бедренной кости у животных, которым моделировали глюкокортикоид-индуцированную остеохондропатию, что проявилось большим уровнем показателя костного объема вторичной спонгиозы метафиза бедренной кости в сравнении с животными, получающими только витамин D₃, а также несущественным уменьшением площади компактной костной ткани и незначительным увеличением удельного числа сосудистых каналов по отношению до параметров соответствующих показателей в серии интактных животных.

Действие одновременного превентивного использования витаминов D₃ и E на изменения структуры суставного хряща проксимального эпифиза бедренной кости определено как более позитивное в сравнении с действием одного витамина D₃ на фоне развития глюкокортикоид-индуцированной остеохондропатии, что проявилось сохранением гистоморфологического строения хряща в сравнении с интактными животными, а также более позитивными гистоморфометрическими показателями. Так, толщина суставного хряща у животных, получавших два витамина, была больше, также приближалось до уровня параметра интактных животных среднее значение удельного числа хондроцитов.

Выявлено более выраженное профилактическое действие совместного использования витаминов D₃ и E на изменения гистоморфологических и гистоморфометрических показателей эпифизарного хряща эпиметафиза бедренной кости на фоне моделирования глюкокортикоид-индуцированной остеохондропатии в сравнении с действием одного витамина D₃, что проявилось сохранением гистоморфологической структуры этого хряща по сравнению со структурой эпифизарного хряща у интактных животных, а также сохранением его толщины, более низкими параметрами удельного количества хондроцитов и количества больших безклеточных участков хрящевого матрикса.

Ключевые слова: глюкокортикоид-индуцированная остеохондропатия, минеральный и D-витаминный обмен, гистоморфологические и гистоморфометрические показатели компактной костной ткани, суставной хрящ, эпифизарный хрящ.

ANNOTATION

Kuziv Ye.L. Effect of combined use of vitamins D₃ and E on changes in the structural and functional state of bone and cartilage tissues in experimental glucocorticoid-induced osteochondropathy. – The manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the candidate of medical sciences on specialty 14.01.21 – traumatology and orthopedics. – Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine. – Kyiv, 2019.

The dissertation presents the solution of the scientific problem, which consists in determining and evaluating the preventive effect of the combined use of vitamins D₃ and E on the development of changes in the structural and functional state of bone and cartilage tissue in experimental glucocorticoid-induced osteochondropathy.

Prolonged administration of prednisolone to experimental animals has been shown to lead to significant structural and functional changes in bone and cartilage tissues that can be interpreted as advanced glucocorticoid-induced osteochondropathy.

The more positive preventive effect of the simultaneous use of vitamins D₃ and E on changes in mineral and D-vitamin metabolism in experimental animals with glucocorticoid-induced osteochondropathy compared to the action of one vitamin D₃.

It is established that the combined use of vitamins D₃ and E provides maximum preservation of histomorphological structure of the femur in animals that have been modeled with glucocorticoid-induced osteochondropathy

A more positive preventive effect of vitamins D₃ and E on changes in the structure and histomorphometric parameters of the articular cartilage of the proximal femur epiphysis compared to the effect of one vitamin D₃ on the background of development of glucocorticoid-induced osteochondropathy was revealed.

Significant prophylactic effect of co-administration of vitamins D₃ and E on changes in histomorphological and histomorphometric parameters of epiphyseal cartilage of the proximal femur epimetaphysis against the background of glucocorticoid-induced osteochondropathy compared with the action of one vitamin D₃.

Keywords: glucocorticoid-induced osteochondropathy, mineral and D-vitamin exchange, histomorphological and histomorphometric indices of compact bone tissue, articular cartilage, epiphyseal cartilage.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГЮ – глюкокортикоїд індукований остеопороз

ГЮХП – глюкокортикоїд-індукована остеохондропатія

ГК – глюкокортикоїди

ГК-індукована остеохондропатія –глюкокортикоїд-індукована остехондропатія

ОП – остеопороз

ЛФ – лужна фосфатаза

МЦКТ – мінеральна щільність кісткової тканини

25(ОН)D₃ – 25-гідроксиколекальціоферол