

a significant problem. One of the important criteria that must be taken into account when constructing a matrix is its ability to form an optimal substrate for substrate substrate. The purpose of the study is to experimentally assess the nature of the development of the microvasculature in all periods of subcutaneous implantation of a biopolymer fibrous matrix.

The study was conducted on 50 laboratory animals (rabbits), which were divided into 2 groups. The first comparison group: 25 animals underwent surgery, which included the formation of a defect in the bone tissue. The second group: 25 animals developed a defect with subsequent implantation of a biopolymer matrix.

Based on the histological studies, it was found that the formation of bone tissue occurred through the entire thickness of the fibrous polymer matrix in three mutually perpendicular directions. This fact is confirmed by the formation of a large proportion of osteoid in the early stages of regeneration. This in turn indicates a pronounced frame function of the polymeric microfibrillar matrix synthesized by us. That is, a group of polymer fibers creates a kind of substrate for the construction of tissues on it.

Key words: biopolymer, bioimplant, collagen fibers.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 09.07.2020 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2020-3-157-245-251

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

Ртайл Р. А., Максимова О. С., Ткач Г. Ф.

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ РЕГЕНЕРАЦІЇ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ

Сумський державний університет (м. Суми)

transmitter@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Виконана робота є частиною науково-дослідної теми з держбюджетним фінансуванням «Молекулярно-генетичні та морфологічні особливості регенерації тканин нижньої кінцівки за умов хронічної гіперглікемії» (№ державної реєстрації 0117U003926).

Вступ. Травматичні ушкодження скелетних м'язів складають близько 30 % від усіх професійних захворювань в індустріально розвинених країнах [1]. Разом із цим пошкодження м'язів також становлять одну із основних причин припинення діяльності у спортсменів [2].

Одним із перспективних терапевтичних засобів, здатних покращувати регенерацію різних тканин і органів, зокрема і пошкоджених м'язів, є збагачена тромбоцитами плазма (Platelet-rich plasma, PRP). Wright-Carpenter et al. [3] показали, що введення аутологічної сироватки прискорює активацію міосателітоцитів (МС) та призводить до збільшення розміру регенеруючих волокон. Gigante et al. [4] встановили, що введення PRP покращує регенерацію пошкоджених м'язів та сприяє неоваскуляризації. Також відомо, що введення у місце травматичного дефекту PRP зменшує термін регенерації, покращує гістологічні показники та функціональне відновлення скелетних м'язів у щурів [5-7]. Крім цього Namid et al. [8] продемонстрували, що ін'єкція PRP здатна пришвидшувати відновлення травмованих скелетних м'язів у спортсменів, а Nitecka-Buchta et al. [9] встановили, що введення PRP у жувальний м'яз зменшує біль у хворих із ураженням скронево-щелепної ділянки. Слід відмітити, що низка систематичних оглядів не змогли зробити кінцевого висновку стосовно ефективності та безпечності застосування PRP під час лікування м'язових травм у людей [10,11].

Хронічна гіперглікемія (ХГ) є одним із найпоширеніших розладів метаболізму, а кількість осіб, що

страждають від надмірної кількості глюкози крові, продовжує зростати з кожним роком [12]. Відомо, що ХГ пов'язана із розвитком вторинних ускладнень у скелетних м'язах і призводить до порушення процесу їх відновлення. ХГ послаблює експресію транскрипційних факторів (MyoD і міогеніна) [13], а також призводить до зменшення кількості МС у скелетних м'язах щурів і людей [14,15]. Щодо регенерації, то Jeong et al. показали, що МС, отримані від щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом, не здатні до утворення міотуб [16].

У нашому попередньому дослідженні був проведений гістологічний, та морфометричний аналіз впливу ХГ на процес відновлення пошкоджених м'язів щурів [17]. Крім того, нами також на мікроскопічному рівні були вивчені структурні ефекти застосування PRP під час посттравматичного відновлення скелетних м'язів щурів із ХГ. При цьому, на сьогодні у світовій літературі відсутні роботи, в яких був би представлений опис процесу регенерації пошкодженої мускулатури в наведених вище умовах на ультрамікроскопічному рівні. Це і стало метою нашого поточного дослідження.

Мета дослідження – встановлення ультраструктурних характеристик посттравматичної регенерації скелетних м'язів щурів із ХГ за умов застосування PRP.

Об'єкт і методи дослідження. В експерименті було використано 130 лабораторних білих щурів-самців зрілого віку (7-9 місяців), яких поділили на чотири групи: I – контрольна група (40 щурів); II – тварини зі змодельованою ХГ (40 щурів); III – щури з експериментальною ХГ та введенням у ділянку пошкодження м'яза PRP (40 щурів); IV – група контролю гіперглікемії (10 щурів).

Тварини доглядалися відповідно до загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт з використанням

експериментальних тварин», додаток 4, затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р., «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин»; «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); Хельсинська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000); положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Під час проведення експериментальних робіт норми етики і моралі порушені не були. Щури знаходились у кімнаті виварю за умов сталої температури (24-25 °C), вологості (60 ± 5%) та за умов 12-годинного циклу зміни темряви та освітлення. Поточне прибирання кліток виконували щоденно.

Моделювання ХГ у тварин II, III та IV груп проводили раніше описаним способом [17]. Тварини групи контролю гіперглікемії слугували для оцінки стану глюкозного гомеостазу та підтвердження наявності гіперглікемії. Для цього на 60 добу після відтворення моделі визначали показники вмісту глюкози натще, інсуліну та С-пептиду в плазмі крові тварин. Також у рамках біохімічного аналізу крові визначали у щурів показники ліпідного обміну.

Після 60-и діб від відтворення ХГ щурам I, II і III груп була змодельована механічна травма триголового м'яза литки. Оперативне втручання проводили в асептичних умовах під кетаміновим наркозом. За 30 хвилин до початку операції тваринам внутрішньом'язово вводили ксилазин (3 мг/кг) та кетамін (8 мг/кг). Травму відтворювали шляхом лінійного глибокого розрізу перпендикулярно ходу м'язових волокон з подальшим зіставленням та зшиванням країв рани.

Тваринам III групи з метою можливої корекції негативного впливу ХГ на процеси регенерації м'язів перед накладанням шва у рану було введено збагачену тромбоцитами плазму (PRP) крові (доза – 200 мкл). Із цією метою попередньо у тварин із латеральної хвостової вени проводили забір 0,9 мл крові у вакуїтайнери, що містили розчин натрію цитрату. Втрачений об'єм крові негайно відновлювали інфузією стерильного фізіологічного розчину. Відібрану кров центрифугували впродовж 20 хв зі швидкістю 2 000 об/хв. У результаті в пробірці спостерігалися дві фракції компонентів крові: нижня фракція темно-червоного кольору (клітинні компоненти) та верхня фракція солом'яно-жовтого кольору (компоненти сироватки). Після цього піпетували весь вміст верхньої фракції та верхньої частини нижньої фракції і перенесли їх в іншу пробірку. Отриманий матеріал центрифугували впродовж 15 хв зі швидкістю 2 000 об/хв, що призводило до утворення двох фракцій: нижньої – збагаченої тромбоцитами плазми, верхньої – збідненої на тромбоцити плазми. Вміст нижньої фракції перенесли в стерильну пробірку та доводили об'єм до 0,5 мл за допомогою 10 % розчину кальцію хлориду. Отриманий розчин вводили тваринам у ділянку травмованого м'язу.

Вивчення морфологічних особливостей регенерації скелетних м'язів проводили на 3, 14 та 28 добу

після нанесення механічної травми. Тварин із експерименту виводили по 10 істот з групи у кожний термін шляхом передозування тіопенталового наркозу (4мг/100 г маси тіла).

Ультрамікроскопічне дослідження реалізували за допомогою електронного мікроскопу ПЕМ-100м (Суми, Україна) з напругою прискорення 75-100 кВ. Світліни досліджуваних препаратів при збільшенні 4800-12600 разів отримували із використанням цифрової відеокамери Baumer/optronic Тур: CX 05с. Усі виміри ультраструктурних компонентів проводили у динамічному режимі із застосуванням електронних програм «Відео Розмір 5.0» та «Відео Тест 5.0».

Статистичне опрацювання проводили із використанням пакету програм SPSS (версія 17.0, США). Величини на нормальність розподілу перевіряли за допомогою критерію Колмогорова-Смірнова. Визначення достовірності відмінностей між вибірками проводили із використанням двостороннього t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок. Значення P < 0,05 вважали статистично значущим.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати біохімічного аналізу крові щурів контрольної групи та тварин зі стрептозотоцин-індукованою гіперглікемією представлено у **таблиці**. Показано, що в останніх був значно вищим вміст глюкози натще (P < 0,001) та зменшений вміст інсуліну (P = 0,005). Концентрація С-пептиду між групами не відрізнялась (P = 0,267). Також у крові щурів із ХГ був підвищений вміст загального холестеролу (P < 0,001), тригліцеридів (P < 0,001), ЛПНЩ (P < 0,001) та зменшена концентрація ЛПВЩ (P = 0,004).

Таблиця – Показники біохімічного аналізу крові щурів контрольної та дослідної груп

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

Примітка: результати представлені у вигляді M ± SD; ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності; ХГ – хронічна гіперглікемія; ЛПВЩ – ліпопротеїди високої щільності; n – кількість тварин.

Морфологічний аналіз за допомогою електронної мікроскопії показав, що у щурів контрольної групи на 3 добу після нанесення травми місце дефекту було інфільтровано еритроцитами, нитками фібрину, нейтрофільними гранулоцитами, тканинними базофілами та макрофагами (**рисунок 1**). Макрофаги характеризуються вираженою фагоцитарною активністю з переважанням у цитоплазмі фагосом і лізосом. Еритроцити знаходилися на різних стадіях руйнування.

На 14 добу експерименту місце дефекту було заповнено міогенними клітинами різної форми, що розміщувались серед фібробластів та пучків колагенових волокон (**рисунок 2**). Міоїдні клітини мали великі розміри, одне, інколи декілька ядер та пучки міофіламентів, що розташовувались по усьому об'єму саркоплазми. Між міофіламентами знаходилися невеликі за розмірами електронно світлі мітохондрії. У

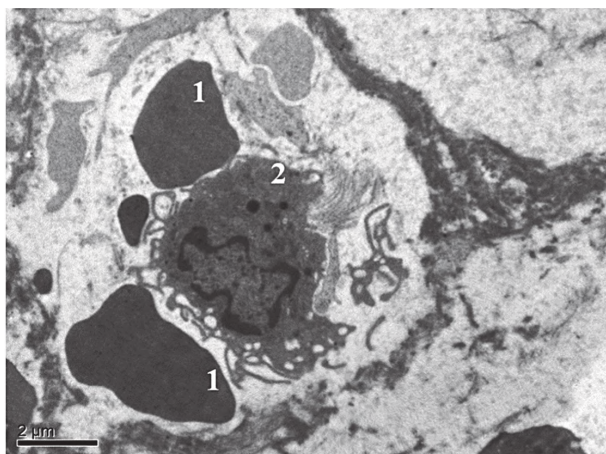


Рисунок 1 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 3 добу після нанесення травми. Еритроцити в центральній зоні дефекту (1), макрофаг (2). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 3б. Х6200.

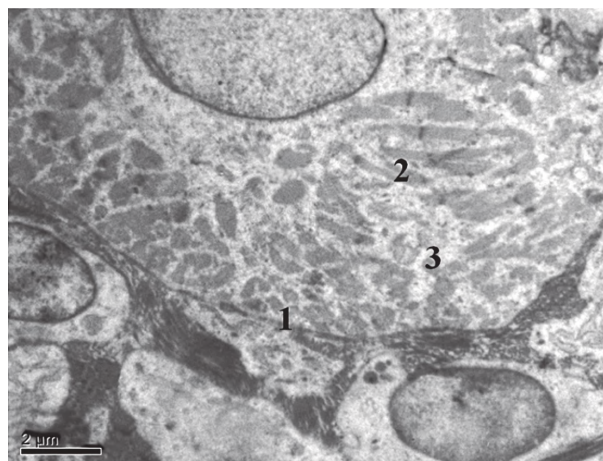


Рисунок 2 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 14 добу після нанесення травми. Міогена клітина (1), міофіламенти (2), мітохондрії (3). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 3б. Х6200.

ядра переважав еухроматин. Плазмолема мала чіткі контури.

На 28 добу дослідження після нанесення травми, місце дефекту у групі контролю було заповнено сполучнотканинно-м'язовим регенератом з переважанням сполучної тканини (рисунок 3). Частіше за все подальший розвиток міогенних клітин у міосимпласти не відбувався через інтенсивний синтез сполучної тканини навколо м'язових волокон клітини. Поряд із цим, у сформованих міосимпластах відзначалась саркомерна організація, чітко візуалізувались Z-лінії, спостерігались різноманітність та злиття мітохондрій.

На 3 добу після нанесення травми у тварин із ХГ місце дефекту було заповнено запальним детритом з великою кількістю нейтрофільних гранулоцитів, еозинофілів, базофілів та жирових клітин. Агранулоцитарні лейкоцити в цей термін не зустрічались. Біля країв рани відзначалися некротизовані м'язові волокна. Сегментоядерні нейтрофіли мали велику кількість електронно-щільних аутофаголізосом та електронно-прозорих вакуоль (рисунок 4).

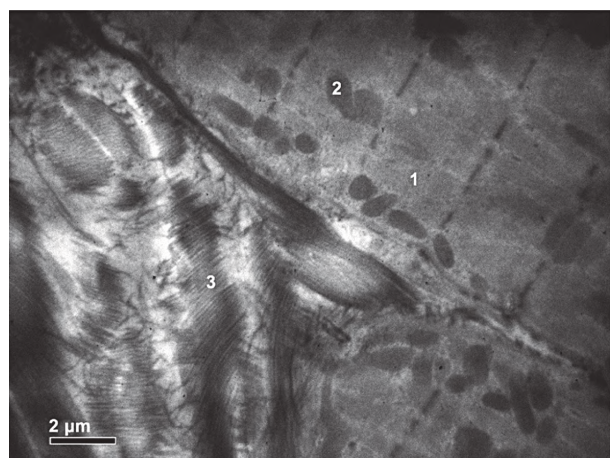


Рисунок 3 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура контрольної групи на 28 добу після нанесення травми. Саркомер (1), мітохондрія (2), колагенові волокна (3). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 3б. Х6200.

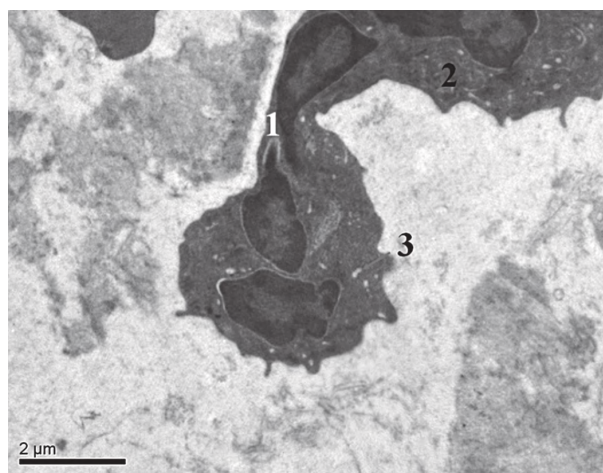


Рисунок 4 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із ХГ на 3 добу після нанесення травми. Нейтрофільний гранулоцит (1), електронно-щільні аутофаголізосоми (2), вакуолі (3). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 3б. Х6200.

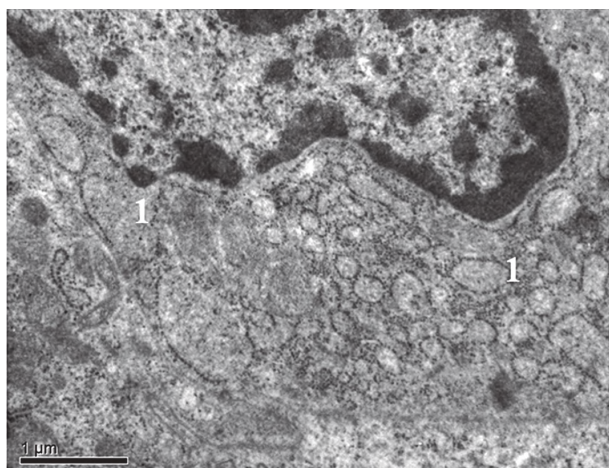


Рисунок 5 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура дослідної групи на 14 добу після нанесення травми. Фібробласт. Ділятовані цистерни гЕПР (1). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. Зб. X8000.

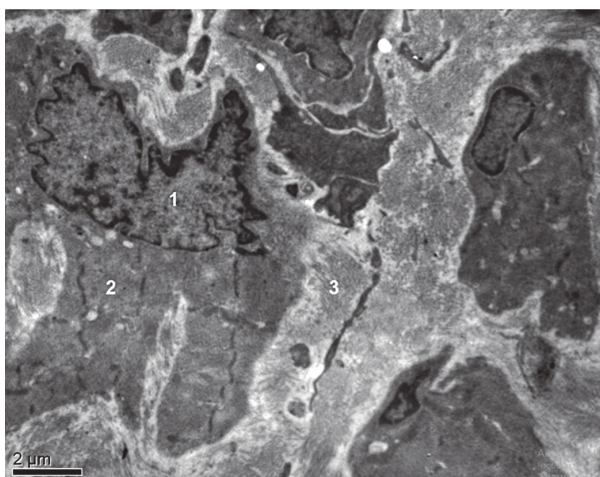


Рисунок 6 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура дослідної групи на 28 добу після нанесення травми. Ядро міосателітоцита (1), дезорганізовані саркомери (2), сполучна тканина (3). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. Зб. X4500.

ступеню. Крім того, серед клітин відзначалися лейкоцитарні агранулоцити (**рисунок 7**).

На 14 добу експерименту у ділянці дефекту спостерігались активовані міогенні клітини, що зливалися з утворенням міотуб (**рисунок 8**). Ядра таких клітин містили значну кількість еухроматину. У цитоплазмі відзначалось утворення нових міофіламентів із чітко диференційованою саркомерною організацією.

На 28 добу після нанесення травми та застосування PRP регенерат складався із масивних тяжів сполучної тканини, великої кількості судин та різної форми м'язових волокон. Цитоплазма м'язових клітин містила здебільшого правильної форми ядра, значну кількість мітохондрії в перинуклеарному просторі та пучки міофібрил із хвилястою і частково розірваною Z-лінією (**рисунок 9**).

Ультрамікроскопічний аналіз процесу посттравматичної регенерації скелетних м'язів щурів із ХГ виявив у ранні терміни переважання гранулоцитів на тлі зменшеної кількості агранулоцитів. Схожі результати були отримані Krause et al, що продемонстрували зменшення кількості макрофагів в регенеруючих м'язах щурів із ЦД1 типу [18]. Разом із цим Nguyen et al. виявили зменшення вмісту макрофагів

у регенератах скелетних м'язів щурів із генетичними моделями ЦД2 типу [19]. Дослідження останніх років показали, що макрофаги є необхідною умовою успішної регенерації скелетних м'язів. Ці клітини виступають важливим регуляторним чинником у процесі посттравматичної активації камбіальних клітин м'язів [20]. Xiao et al. показано, що зменшення кількості макрофагів у скелетних м'язах призводить до надмірного розвитку сполучної тканини та зменшення розміру новоутворених м'язових волокон під час посттравматичного відновлення [21].

У нашій роботі було встановлено зменшення кількості та розміру новоутворених волокон у регенеруючих посмугованих м'язах щурів із ХГ. Поряд із цим Jeong et al. показали, що у щурів зі стрептозоцин-індукованим ЦД спостерігається значне зменшення кількості регенеруючих м'язових волокон під час посттравматичної регенерації [16]. Крім цього, процес регенерації м'язів у щурів із генетичними моделями ЦД також характеризувався значущим зменшення активності та кількості сателітоцитів [19].

Слід також сказати, що процес відновлення скелетних м'язів щурів із ХГ характеризувався масивним утворенням колагенових волокон, затримкою та не-

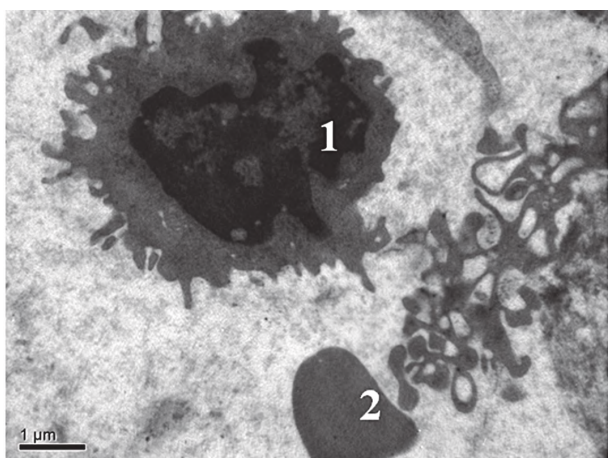


Рисунок 7 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із ХГ на 3 добу після нанесення травми та застосування PRP. Лімфоцит (1), еритроцит (2). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. Зб. X8000.

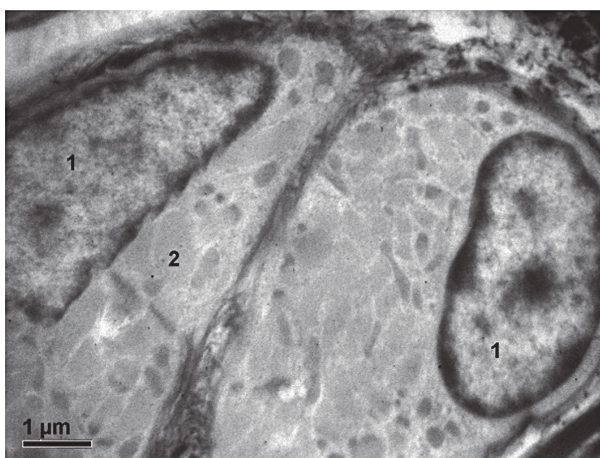


Рисунок 8 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із ХГ на 14 добу після нанесення травми та застосування PRP. Ядро міогенної клітини (1), міофіламент (2). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. Зб. X6200.

завершеністю, що здебільшого відповідає результатам, отриманих під час інших подібних досліджень [18,19].

Нещодавній огляд Setayesh et al. [22] показав, що PRP сприяє регенерації скелетних м'язів за допомогою анаболічних факторів росту, що виділяються з активованих тромбоцитів, і, таким чином, зменшує ознаки запалення та час відновлення. Поряд із цим два мета-аналізи показали, що місцеве застосування PRP під час лікування діабетичних виразок пришвидшує загоєння ран та значно зменшує кількість ускладнень [10,11]. Враховуючи це ми вирішили дослідити вплив PRP на процес регенерації скелетних м'язів у щурів із ХГ.

Результати ультраструктурного аналізу у групі тварин із ХГ, яким було виконане уведення PRP, показали, що вираженість та характер запалення відрізнявся від щурів із ХГ да здебільшого був схожий із контрольною групою. Слід сказати, що Gigante et al. [4] повідомили, що перебіг запалення під час регенерації скелетних м'язів щурів, яким вводили у рану PRP не відрізнявся від щурів без застосування PRP.

Застосування PRP у щурів із ХГ під час нашого дослідження призвело до активації неоангіогенезу, в результаті чого кількість судин в регенератах м'язів щурів цієї групи була практично такою ж як і в контрольній групі. Посилення неоангіогенезу під час м'язового відновлення після застосування PRP було виявлено і колективом Gigante et al. [4]. Результати нашого дослідження також показали, що у щурів із ХГ використання PRP призводить до збільшення кількості регенеруючих волокон та зростання їх загальної площі, що значно відрізняється від тварин із ХГ та без використання PRP. Збільшення кількості новоутворених волокон внаслідок застосування PRP під час м'язового відновлення було виявлено і низкою інших досліджень на тваринах із різними моделями

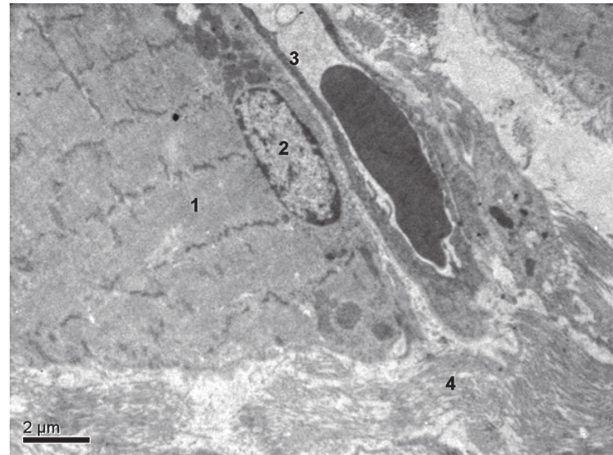


Рисунок 9 – Ділянка дефекту триголового м'яза литки щура із ХГ на 28 добу після нанесення травми та застосування PRP. Міофіламент (1), ядро міосимпласта (2), капіляр (3), ендомізій (4). Контрастування уранілацетатом та цитратом свинцю за Рейнольдсом. 36. X4500.

механічного ушкодження [5-7]. Разом із цим у цих роботах також повідомляється про зменшення площі колагену та ступеню фіброзу в регенератах поспругованих м'язів внаслідок використання PRP.

Висновки. Отже, ультрамікроскопічний аналіз виявив негативний вплив ХГ на процес посттравматичної регенерації скелетних м'язів, що характеризується масивним розвитком елементів сполучної тканини на тлі пригнічення та недосконалого формування нових м'язових волокон. Застосування PRP у щурів із ХГ покращує процес м'язового відновлення, зміщуючи його від розвитку сполучнотканинного рубця в бік формування повноцінного м'язового органу.

Перспективи подальших досліджень полягають у дослідженні молекулярно-генетичних особливостей посттравматичної регенерації скелетних м'язів щурів із хронічною гіперглікемією.

Література

- Ge H, Sun X, Liu J, Zhang C. The Status of Musculoskeletal Disorders and Its Influence on the Working Ability of Oil Workers in Xinjiang, China. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(5). DOI: 10.3390/ijerph15050842
- Baoge L, Van Den Steen E, Rimbaut S, Philips N, Witvrouw E, Almqvist KF, et al. Treatment of skeletal muscle injury: a review. *ISRN Orthop*. 2012;2012:689012. DOI: 10.5402/2012/689012
- Wright-Carpenter T, Opolon P, Appell HJ, Meijer H, Wehling P, Mir LM. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: animal experiments using a muscle contusion model. *Int J Sports Med*. 2004;25(8):582-7. DOI: 10.1055/s-2004-821303
- Gigante A, Del Torto M, Manzotti S, Cianforlini M, Busilacchi A, Davidson PA, et al. Platelet rich fibrin matrix effects on skeletal muscle lesions: an experimental study. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2012;26(3):475-84.
- Contreras-Muñoz P, Torrella JR, Serres X, Rizo-Roca D, De la Varga M, Viscor G, et al. Postinjury Exercise and Platelet-Rich Plasma Therapies Improve Skeletal Muscle Healing in Rats But Are Not Synergistic When Combined. *Am J Sports Med*. 2017;45(9):2131-41. DOI: 10.1177/0363546517702864
- Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, Muriel JM, Lovering RM. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. *Am J Sports Med*. 2009;37(6):1135-42. DOI: 10.1177/0363546508330974
- Quarteiro ML, Tognini JR, de Oliveira EL, Silveira I. The effect of platelet-rich plasma on the repair of muscle injuries in rats. *Rev Bras Ortop*. 2015;50(5):586-95. DOI: 10.1016/j.rboe.2015.08.009
- Hamid MS, Mohamed Ali MR, Yusof A, George J. Platelet-rich plasma (PRP): an adjuvant to hasten hamstring muscle recovery. A randomized controlled trial protocol (ISRCTN66528592). *BMC Musculoskelet Disord*. 2012;13:138. DOI: 10.1186/1471-2474-13-138
- Nitecka-Buchta A, Walczynska-Dragon K, Kempa WM, Baron S. Platelet-Rich Plasma Intramuscular Injections – Antinociceptive Therapy in Myofascial Pain Within Masseter Muscles in Temporomandibular Disorders Patients: A Pilot Study. *Front Neurol*. 2019;10:250. DOI: 10.3389/fneur.2019.00250
- Hamid MS, Yusof A, Mohamed Ali MR. Platelet-rich plasma (PRP) for acute muscle injury: a systematic review. *PLoS One*. 2014;9(2):e90538. DOI: 10.1371/journal.pone.0090538
- Grassi A, Napoli F, Romandini I, Samuelsson K, Zaffagnini S, Candrian C, et al. Is Platelet-Rich Plasma (PRP) Effective in the Treatment of Acute Muscle Injuries? A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 2018;48(4):971-89. DOI: 10.1007/s40279-018-0860-1
- Forouhi NG, Wareham NJ. Epidemiology of diabetes. *Medicine (Abingdon)*. 2014;42(12):698-702. DOI: 10.1016/j.mpmed.2014.09.007
- Aragno M, Mastrocola R, Catalano MG, Brignardello E, Danni O, Boccuzzi G. Oxidative stress impairs skeletal muscle repair in diabetic rats. *Diabetes*. 2004;53(4):1082-8. DOI: 10.2337/diabetes.53.4.1082
- D'Souza DM, Zhou S, Rebalak IA, MacDonald B, Moradi J, Krause MP, et al. Decreased Satellite Cell Number and Function in Humans and Mice With Type 1 Diabetes Is the Result of Altered Notch Signaling. *Diabetes*. 2016;65(10):3053-61. DOI: 10.2337/db15-1577
- Fujimaki S, Wakabayashi T, Asashima M, Takemasa T, Kuwabara T. Treadmill running induces satellite cell activation in diabetic mice. *Biochem Biophys Rep*. 2016;8:6-13. DOI: 10.1016/j.bbrep.2016.07.004

16. Jeong J, Conboy MJ, Conboy IM. Pharmacological inhibition of myostatin/TGF- β receptor/pSmad3 signaling rescues muscle regenerative responses in mouse model of type 1 diabetes. *Acta Pharmacol Sin.* 2013;34(8):1052-60. DOI: 10.1038/aps.2013.67
17. Rtail R, Maksymova O, Illiashenko V, Gortynska O, Korenkov O, Moskalenko P, et al. Improvement of Skeletal Muscle Regeneration by Platelet-Rich Plasma in Rats with Experimental Chronic Hyperglycemia. *BioMed Research International.* 2020. ID 6980607. 9 p. Available from: <https://doi.org/10.1155/2020/6980607>
18. Krause MP, Al-Sajee D, D'Souza DM, Rebalka IA, Moradi J, Riddell MC, et al. Impaired macrophage and satellite cell infiltration occurs in a muscle-specific fashion following injury in diabetic skeletal muscle. *PLoS One.* 2013;8(8):e70971. DOI: 10.1371/journal.pone.0070971
19. Nguyen MH, Cheng M, Koh TJ. Impaired muscle regeneration in Ob/ob and Db/db mice. *Scientific World Journal.* 2011;11:1525-35. DOI: 10.1100/tsw.2011.137
20. Ceafalan LC, Fertig TE, Popescu AC, Popescu BO, Hinescu ME, Gherghiceanu M. Skeletal muscle regeneration involves macrophage-myoblast bonding. *Cell Adh Migr.* 2018;12(3):228-35. DOI: 10.1080/19336918.2017.1346774
21. Xiao W, Liu Y, Chen P. Macrophage Depletion Impairs Skeletal Muscle Regeneration: the Roles of Pro-fibrotic Factors, Inflammation, and Oxidative Stress. *Inflammation.* 2016;39(6):2016-28. DOI: 10.1007/s10753-016-0438-8
22. Setayesh K, Villarreal A, Gottschalk A, Tokish JM, Choate WS. Treatment of Muscle Injuries with Platelet-Rich Plasma: a Review of the Literature. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2018;11(4):635-42. DOI: 10.1007/s12178-018-9526-8

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ РЕГЕНЕРАЦІЇ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ЗБАГАЧЕНОЇ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМИ

Ртайл Р. А., Максимова О. С., Ткач Г. Ф.

Резюме. Представлені результати вивчення ультрамікроскопічних характеристик відновлення скелетних м'язів у щурів із хронічною гіперглікемією (ХГ) за умов застосування збагаченої тромбоцитами плазми (Platelet-rich plasma, PRP). В експерименті було використано 130 лабораторних білих щурів-самців зрілого віку: I – контрольна група (40 щурів); II – тварини із експериментальною ХГ (40 щурів); III – щури з експериментальною ХГ та введенням PRP (40 щурів); IV – група контролю гіперглікемії (10 щурів).

На 28 добу після нанесення травми у щурів із ХГ м'язові волокна були зменшеними, деформованими та оточеними значним шаром сполучної тканини. У саркоплазмі відзначались дезорганізовані саркомери з розірваними Z-лініями. У групі щурів із ХГ та застосуванням PRP регенерат складався із масивних тяжів сполучної тканини, великої кількості судин та різної форми м'язових волокон. Саркоплазма містила значну кількість мітохондрії та пучки міофібрил із хвилястою і частково розірваною Z-лінією.

Ключові слова: скелетні м'язи, регенерація, хронічна гіперглікемія, збагачена тромбоцитами плазма.

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ АНАЛІЗ РЕГЕНЕРАЦІЇ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ КРИС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ И ПРИМЕНЕНИЯ ОБОГАЩЕННОЙ ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ

Ртайл Р. А., Максимова А. С., Ткач Г. Ф.

Резюме. Представлены результаты изучения ультрамикроскопических характеристик восстановления скелетных мышц у крыс с хронической гипергликемией (ХГ) в условиях применения обогащенной тромбоцитами плазмы (Platelet-rich plasma, PRP). В эксперименте было использовано 130 лабораторных белых крыс-самцов зрелого возраста: I – контрольная группа (40 крыс); II – животные с экспериментальной ХГ (40 крыс); III – крысы с экспериментальной ХГ и введением PRP (40 крыс); IV – группа контроля гипергликемии (10 крыс).

На 28 сутки после нанесения травмы у крыс с ХГ мышечные волокна были уменьшенными, деформированными и окруженными значительным слоем соединительной ткани. В саркоплазме отмечались дезорганизованные саркомеры с разорванными Z-линиями. В группе крыс с ХГ и применением PRP регенерат состоял из массивных тяжей соединительной ткани, большого количества сосудов и разной формы мышечных волокон. Саркоплазма содержала значительное количество митохондрии и пучки миофибрилл с волнистой и частично разорванной Z-линией.

Ключевые слова: скелетные мышцы, регенерація, хроническая гипергликемия, обогащенная тромбоцитами плазма.

ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF RAT SKELETAL MUSCLE REGENERATION UNDER CHRONIC HYPERGLYCEMIA CONDITION AND USING OF PLATELET-RICH PLASMA

Rtail R. A., Maksymova O. S., Tkach G. F.

Abstract. Chronic hyperglycemia (CH) is one of the most widespread metabolic disorders worldwide. CH is associated with secondary complications development in skeletal muscle and also may impair its regeneration ability. Platelet-rich plasma (PRP) is one of the promising therapeutic agents capable of enhancing regeneration of various tissues and organs, including striated muscles. Unfortunately, there are no current experiments devoted to revealing the ultramicroscopic effect of PRP on skeletal muscle regeneration under CH influence.

The aim of the study was to identify the ultramicroscopic features of post-traumatic skeletal muscle recovery in rats with CH and PRP using.

Object and methods. 130 white laboratory male rats divided into four groups (I – control (40 rats); II – rats with CH (40 rats); III – rats with CH and PRP injection (40 rats); IV – rats for CH confirmation (10 rats)) were used for the experiment. CH was simulated by streptozotocin and nicotinic acid administration. Triceps surae muscle injury was reproduced by transverse linear incision. Autologous PRP was used in order to correct the possible negative effect of CH on skeletal muscle regeneration. Ultramicroscopic examination was performed using electron microscope PEM-100m (Ukraine, Sumy). The mathematical analysis was done using SPSS software package (v. 17.0).

Results. On the 28th day after the injury, weak signs of post-traumatic myogenesis were observed in rats with CH. The muscle fibers were significantly reduced, deformed, and surrounded by a significant layer of connective tissue. Polymorphic nuclei with numerous intussusception, disorganized sarcomeres with ruptured Z-lines were noted in the sarcoplasm. The muscle regenerate of animals with CH and PRP using consisted of massive connective tissue

strands, a large number of vessels, and various muscle fibers. The sarcoplasm contained mostly the regularly shaped nuclei, a significant amount of mitochondria in the perinuclear space, and bundles of myofibrils with a wavy and partially ruptured Z-lines

Conclusion. The ultramicroscopic analysis revealed a negative effect of CH on the process of skeletal muscle regeneration, which is characterized by the massive development of connective tissue against the background of suppression and imperfect formation of new muscle fibers. The using of PRP in rats with CH improves the process of muscle recovery, shifting it from the development of connective tissue scar towards the formation of a full-fledged muscular organ.

Key words: skeletal muscles, regeneration, chronic hyperglycemia, platelet-rich plasma.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 16.07.2020 року

DOI 10.29254/2077-4214-2020-3-157-251-254

УДК 616.742+616-092.9+616.441-008.64

Саган Н. Т., Заяць Л. М., Антимис О. В., Дутчак У. М., Пітулей А. В.

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ЖУВАЛЬНОГО М'ЯЗА ПРИ ЙОДОДЕФІЦИТНОМУ СТАНІ

Івано-Франківський національний медичний університет (м. Івано-Франківськ)

sagan_1993@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Морфофункціональні та цитогенетичні особливості органів і тканин при йододефіцитних станах, гіпотиреозі» (№ державної реєстрації 0114U005624).

Вступ. При огляді наукових джерел ми вияснили, що існують фрагментарні відомості про виникнення міопатії при дефіциті гормонів щитоподібної залози (ЩЗ) [1,2]. Однак, потрібно відзначити, що в доступній нам медико-біологічній літературі на сьогодні немає робіт, в яких би вивчалася морфологія жувальних м'язів (ЖМ) при йододефіцитних станах у віковому аспекті. Ми не виявили жодних робіт, в яких була б використана морфометрія та отримані кількісні показники щодо аналізу змін у ЖМ при йододефіцитних станах в онтогенезі.

Це вказує на необхідність проведення комплексного дослідження, в якому у тварин на етапах постнатального онтогенезу вивчатимуться морфофункціональні особливості ЖМ та його структурно-метаболичні перетворення в умовах змодельованого йододефіциту (ЙД).

Метою нашого дослідження було встановити особливості структурної організації ЖМ на етапах постнатального онтогенезу та їх морфофункціональні особливості при експериментальному ЙД.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом для дослідження був ЖМ 48 білих безпородних щурів-самців. I група тварин – інтактні, які служили контролем (не проводили жодних маніпуляцій) ((n=24) по 12 тварин нестатевозрілого (3 місячного віку, масою 120-150 г) та статевозрілого віку (6 місячного віку, масою 180-200 г); II група – дослідна – в умовах ЙД ((n=24) по 12 тварин нестатевозрілого та статевозрілого віку). Утримання тварин, їх харчування та маніпуляції з ними проводилися згідно з положенням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Директивою Ради Європи 86/609/ЄЕС (1986), Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 15 груд-

ня 2009 року та наказами МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р.

Евтаназія тварин здійснювалася шляхом введення тіопенталу натрію (2 % розчин у дозі 25 мг/кг маси). Для забору крові на біохімічне дослідження тварин декапітували в умовах знеболення (2 % розчин тіопенталу натрію у дозі 25 мг/кг маси внутрішньоочеревино).

Використані такі методи дослідження: моделювання йододефіцитного стану [3]; гістологічне дослідження (забарвлення гематоксилином та еозином, альціановим синім за Сідменом, трихромне забарвлення за Масоном, PAS [4]; гістохімічне вивчення (активність сукцинатдегідрогенази (СДГ); електронномікроскопічне дослідження; дослідження біохімічного складу крові (вміст тиреотропного гормону (ТТГ), гормонів ЩЗ (Т₃, Т₄); морфометричне дослідження (кількість м'язових волокон (МВ) різного гістохімічного фенотипу). Комп'ютерне опрацювання даних здійснювали за допомогою статистичного пакета Stat. Soft. Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 10.

Результати дослідження та їх обговорення. На 60 добу при біохімічному дослідженні крові у нестатевозрілих тварин вміст гормонів ЩЗ зменшувався, тоді як вміст ТТГ збільшувався, порівняно з нормою як у статевозрілих так і у нестатевозрілих тварин.

Гістологічно МВ ЖМ нестатевозрілих щурів при ЙД характеризуються нерегулярним чергуванням темних і світлих смужок. Ядра МВ збільшені, стають округлими та більш світлими. Ендомізій та перимізій розширені, втрачають структурну організацію. В основній речовині сполучної тканини чітко виявляється значна кількість глікозаміногліканів. Такі ж набрякові зміни були описані в інших дослідженнях [5] й обґрунтовуються позаклітинним нагромадженням в органах і тканинах мукополісахаридів, які підвищують їх гідрофільність. Також набряк пояснюється нагромадженням у крові продуктів розпаду м'язового білка – креатинінфосфокінази, глікозаміногліканів, холестерину й інших ліпідних фракцій.

При дослідженні СДГ-ої активності МВ ми спостерігали зміну в розподілі різних типів волокон (**рис. 1**). Так, у нестатевозрілих тварин зменшувалася кіль-