

Вплив механічних коливань на структурну організацію великогомілкової кістки у щурів з глюкокортикоїдіндукованим остеопорозом

Н.М. Костишин¹, М.Р. Гжегоцький¹, Л.П. Костишин¹, Ю.О. Кулик²

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького;

² Львівський національний університет імені Івана Франка;

e-mail: kostyshyn.nm@gmail.com

Метою дослідження було оцінити вплив нефізіологічної загальної вібрації (0,3g) на кристалічну структуру та метаболізм кісток у щурів, які отримували метилпреднізолон (3 мг/кг через день, 24 тиж). Відносну кількість кристалічного компоненту та колагену в кістках визначали за допомогою рентгеноструктурного методу, а вміст кальцію – за допомогою атомно-адсорбційної спектроскопії. Метаболізм кісткової тканини оцінювали, визначаючи концентрацію маркерів, а саме остеокальцину та тартратрезистентної кислоти фосфатази 5b. Застосування метилпреднізолону призводило до зниження вмісту мінерального компоненту у великогомілковій кістці (-16,8%) щурів порівняно зі значеннями у контрольній групі. При цьому значно прискорювався процес метаболізму кістки, про що свідчить підвищений рівень маркерів ремоделювання. Слід зазначити, що загальна нефізіологічна вібрація не допускала зниження мінерального компоненту кісток до 16-го тижня експерименту порівняно зі значеннями у щурів, які отримували метилпреднізолон, хоча показники були нижчими за результати у групі контролю (-28,3%). Ми встановили, що механічна високочастотна вібрація низької інтенсивності здатна гальмувати негативні наслідки глюкокортикоїдів на структуру кісток. Ключові слова: глюкокортикоїди; загальна вібрація; ремоделювання; мінеральна щільність кісткової тканини; остеопороз; кісткові наноконpozити; рентгенівська дифракція.

ВСТУП

Метилпреднізолон належить до групи синтетичних глюкокортикоїдів, що широко застосовуються в клініці для протизапальної та імуносупресивної терапії багатьох системних хвороб. Проте при тривалому використанні, вони можуть проявляти численні побічні ефекти. Втрата мінеральної щільності кісток, спричинена дією глюкокортикоїдів, є однією із основних причин вторинного остеопорозу, що призводить до патологічних переломів та до погіршення стану пацієнта через тривалий реабілітаційний період [1, 2]. Результати рентгенівської денситометрії кісток у людей свідчать про те, що більш як 50% пацієнтів, що піддавалися тривалій терапії глюкокортикоїдами, розвивався вторинний

остеопороз. Ризик переломів при цьому зростає вже через 2–4 міс після початку вживання цих препаратів [3]. Відомо також, що патологічні переломи не завжди пов'язані із втратою кісткової мінеральної маси, але можуть залежати від ймовірного порушення мікроархітекtonіки кісткової тканини [4, 5]. Наразі патофізіологія остеопорозу, викликаного дією глюкокортикоїдів, не повністю з'ясована, але останні повідомлення вказують на порушення кісткового балансу, спричиненого апоптозом остеоцитів і остеобластів та збільшенням тривалості життя попередників остеокластів, що сприяє швидкому руйнуванню кісткової структури [6–8].

Інші експериментальні дослідження показали, що механічні навантаження на кістку навпаки можуть бути анаболічними,

© Н.М. Костишин, М.Р. Гжегоцький, Л.П. Костишин, Ю.О. Кулик

регулюючи тривалість життя остеоцитів пригніченням диференціювання остеокластів [9–11]. Остеоцити, котрі знаходяться у кістковому матриксі, піддаються механічному впливу і надсилають сигнали до остеобластів. Механочутливі іонні канали Piezo1 активуються загальною вібрацією через коливання внутрішньоклітинної рідини в остеоцитах та остеобластах, що може призводити до їх активації та зростання кісткової маси [12–15]. Все це пояснює той факт, що метаболізм кісткової тканини може регулюватися механічними навантаженнями, в тому числі і нефізіологічною вібрацією [16, 17].

Щоб зрозуміти особливості будови кістки на тканинному рівні, слід дослідити її структуру, що представлена еластичними волокнами і мінеральним компонентом, та їх організацію на рівні мікро- та наноструктури. Це допоможе встановити механізми втрати мінеральної маси, що призводить до зміни властивостей кістки, зокрема жорсткості та міцності. За останні роки методи рентгенівської дифракції викликали підвищений інтерес в експериментальній медицині як інструмент для дослідження наноструктури кісток. Ми застосували в нашому експерименті рентгенівську дифракцію для з'ясування структурних та механічних властивостей мінеральних кристалітів та волокон колагену у зразках великогомілкової кістки у щурів з точки зору вивчення кристалічної ґратки та співвідношення їх компонентів [18–21].

Метою нашого дослідження було оцінити кісткове ремодельовання та мінеральну структуру великогомілкової кістки у експериментальних щурів за умов тривалої терапії метилпреднізолоном та впливу високочастотної нефізіологічної вібрації.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 54 самцях щурів лінії Вістар, двомісячного віку, масою 180–200 г. Усі експерименти на тваринах прово-

дили з дотриманням біоетичних принципів відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (протокол комісії з етики № 10, 16.12.2019 ЛНМУ ім. Данила Галицького). Щури у випадковому порядку були розділені на 3 групи по 18 у кожній: тварини контрольної групи перебували у стандартних умовах віварію, I дослідної групи отримували метилпреднізолон натрію сукцинат, II – метилпреднізолон натрію сукцинат та вібрацію всього тіла. Метилпреднізолон натрію сукцинат (SOLU MEDROL®) вводили підшкірно у дозі 3 мг/кг через день протягом 24 тиж, а контрольній групі – по 0,3 мл фізіологічного розчину натрію хлориду. Всіх експериментальних щурів зважували кожні два тижні для корекції дози препарату та утримували в однакових умовах віварію. Після 8, 16 і 24-го тижнів по шість тварин від кожної групи були виведені з експерименту декапітацією під загальною внутрішньоочеревиною анестезією уретаном у дозі 0,3 г/кг.

Щурів піддавали впливу вібрації протягом 30 хв 5 днів на тиждень протягом 24 тиж. Рівень прискорення вібрації становив $3,0 \text{ м/с}^2 - 0,3\text{g}$ при частоті 50 Гц. Вертикальні коливання моделювали за допомогою вібраційного насоса APC Rain-60 потужністю 250 Вт з максимальним тиском 7 бар та регулятором напруги моделі AFC-120. Віброплатформа з контейнером, на яку поміщали дослідну групу щурів була прикріплена до штока вібронасоса.

Концентрацію маркерів ремодельовання кісток у плазмі крові визначали за допомогою комерційних наборів для імуноферментного аналізу (ІФА). Визначали концентрації остеокальцину (DRG® Mouse Osteocalcin ELISA) та тартратстійкої кислоти фосфатази 5b (TRAP5b, MyBioSource) [22, 23]. Всі аналізи проводили відповідно до інструкцій виробника.

Для вивчення ультраструктури мінеральної складової кістки гомілки ми вико-

ристовували метод рентгеноструктурного аналізу. Великогомілкову кістку сушили при 110°C у сушильній шафі. Спектри дифракції рентгенівських проб зразків отримували на автоматизованому дифрактометрі в $\text{Cu K}\alpha$ -випромінюванні ($\lambda = 0,15148$ нм), монохроматизованому відбиттям від площини (002) одиночного кристала пірографіту і встановленого на дифракційному пучку [18–21, 24–26]. При цьому використовували схему фокусування Брегга-Брентано (θ – 2θ). Дифрактограми реєстрували в режимі безперервного руху детектора з кутовою швидкістю $20/\text{хв}$, постійним значенням часу інтегрування $\tau = 1$ с, напругою рентгенівської трубки при $U = 26$ кВ та анодним струмом при $I = 15$ мА. Фон дифрактограми в такому інтервалі кутів розсіяння апроксимували лінійною функцією. Об'ємну частку аморфної фази визначали за формулою: $X = I_a/I$, де I_a – інтегральна інтенсивність аморфної фази, I – повна інтегральна інтенсивність. Середній розмір кристалітів визначали за формулою Дебая – Шерера за розширенням дифракційного максимуму (002): $L = \lambda/(\beta \cos(\theta))$, де $\lambda = 0,15148$ нм – довжина хвилі рентгенівського випромінювання, β – фізична півширина максимуму (002), 2θ – кут дифракції відбивання (002) кристалічної фази.

Для визначення вмісту кальцію методом атомно-адсорбційної спектроскопії у кістковій тканині, зразки попередньо мінералізували за допомогою сухого озолення з подальшою кислотною екстракцією. У підготовлених пробах досліджували елементний склад вказаним методом на приладі С-115ПК з використанням ацетилен-повітряної суміші. Дослідний зразок розпилювали у полум'ї, де утворюється холодна атомна пара, через яку проходять промені світла резонансної частоти кальцію. Електронами зовнішньої оболонки поглинається частина світлового потоку, подальша інтенсивність якого визначається детектором, що пропорційна концентрації елемента у полум'ї.

Статистичний аналіз результатів прове-

дено в програмі Stat Soft STATISTICA 8.0.360. Порівняння середніх двох вибірок нормально розподілених ознак (за t критерієм Стьюдента) реалізовано в модулі *Basic Statistics/Tables*. Для двох різних генеральних сукупностей використано субмодуль *t-test, independent, by variable*.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ремодельовання кісток оцінювали за концентраціями кісткових маркерів у плазмі крові, TRAP5b та остеокальцину у щурів на 8, 16 та 24-му тижні дослідження. Варто зазначити, що під впливом введених ін'єкцій метилпреднізолону збільшувалась активність остеокластів, про що свідчить підвищена концентрація TRAP5b, але при цьому знижувалася функція остеобластів (знижений рівень остеокальцину). На 8-й тиждень у щурів II групи спостерігалось вірогідне підвищення вмісту остеокальцину порівняно зі щурами, які отримували тільки метилпреднізолон та контрольною групою. Варто зазначити, що на 16-й та 24-й тижні експерименту цей показник утримувався приблизно в однакових межах (рис. 1, а).

Вміст TRAP5b у сироватці крові щурів, які отримували глюкокортикоїди та загальну вібрацію, практично нормалізувався на 16-й тиждень дослідження, проте суттєво відрізнявся від значень у щурів, що отримували глюкокортикоїди на 8-й та 24-й тижні ($P < 0,01$). Вміст остеокальцину у плазмі щурів II дослідної групи був значно вищим на 8-й та 16-й тижні, ніж у щурів які отримували лише глюкокортикоїди ($P < 0,01$), та суттєво відрізнявся від контролю. Проте на 24-ту добу дослідження зміни вмісту маркерів у цих дослідних групах статистично не відрізнялися (див. рис. 1, б).

Кількісний склад співвідношення кристалічної та аморфної фази гомілкової кістки визначали наявністю дифузного гало на малих кутах розсіяння, зокрема на ділянці кутів $2\theta = 15$ – $37,5^{\circ}$. Дифрактограму розкладали

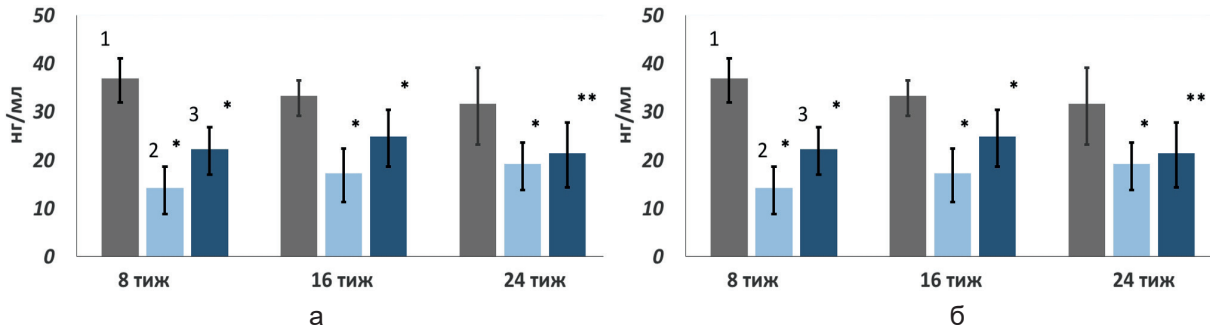
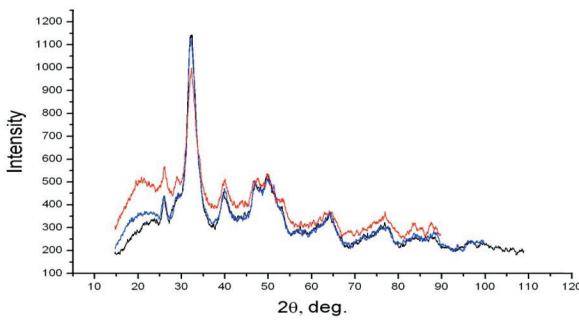


Рис. 1. Концентрація остеокальцину (а) та тартратрезистентної кислоти фосфатази 5b (б) у щурів: 1 – контроль; 2 – метилпреднізолон; 3 – метилпреднізолон і загальна вібрація. *P < 0,01; **P < 0,05 щодо контрольної групи

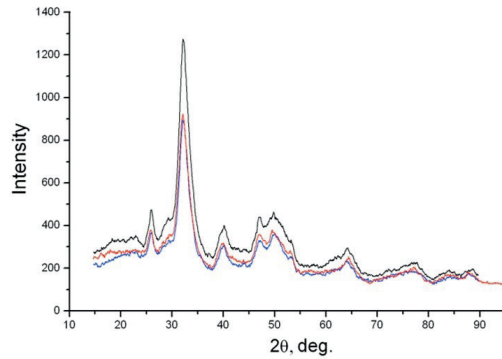
на окремі максимуми, що відповідають розсіянню аморфною та кристалічною фазами кістки.

На рис. 2 представлені дифрактограми кісткових мінералів, а наведені піки характеризують дифракцію від ґраток кристалітів. Періодичне розташування атомів у мінеральних кристалах та періодичність ділянки перекриття щілини в колагенових волокнах дає змогу ефективно використовувати

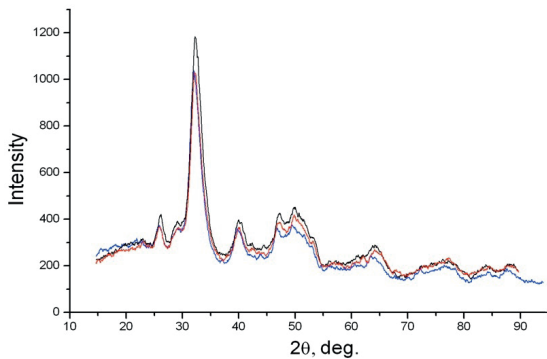
рентгенівську дифракцію для дослідження кісткової наноструктури у експерименті. Рентгеноструктурний аналіз кристалічної фази дає багато інформації про структуру кістки. Піки площини ґраток характеризуються залежно від їх розподілу, кристалічності та вирівнювання кристалів. Однак мінеральні частинки в кістці – це різні форми апатиту, зокрема гідроксіапатиту, які мають меншу кристалічність. Тому у дифракційних про-



а



б



в

Рис. 2. Дифрактограми зразків фрагментів гомілкової кістки: а – контроль, б – введення метилпреднізолону, в – введення метилпреднізолону та застосування загальної вібрації на 8, 16, 24-й тиждень. На рисунку зображено рівень мінералізації великогомілкової кістки. Введення метилпреднізолону зменшує відносну кількість мінерального компонента кісток, а загальна вібрація призводить до сповільнення втрати кристалічного компонента аж до рівня контрольної групи на 8-й та 16-й тиждень

філях кісткових мінеральних кристалів, які мають характеристики близькі до кристалів апатиту, відсутні чіткі піки. Результати розрахунків кристалічної та аморфної фази кісткової тканини великогомілкової кістки у щурів наведені на рис. 2. Як видно із зображення, на спектрах зразків протягом експерименту до 24-го тижня об'ємна частка кристалічної фази незначно збільшується у щурів контрольної групи.

У I групі достовірно знижувалася абсолютна кількість гідроксіапатиту на 8-16-ті тижні. Цей процес стабілізувався на 24-й тиждень щодо контролю (табл. 1). Також простежувалося збільшення об'ємної частки аморфної фази, колагену, що свідчить про прискорене ремоделювання та позитивну залежність збільшення розмірів зерен кристалітів усіх груп протягом всього експерименту ($P < 0,05$). У щурів, яким вводили метилпреднізолон та впливали вібрацією, спостерігалися статистично достовірно більші значення кристалічної фази порівняно з показниками контролю

протягом такого самого періоду часу. Загальна вібрація запобігала ранній втраті мінерального компоненту після тривалого введення метилпреднізолону протягом 8–16 тиж ($P < 0,05$). Незважаючи на те, що вібрація позитивно впливала на кісткову тканину у щурів з глюкокортикоїдіндукованим остеопорозом на 24-й тиждень цей вплив не був статистично достовірним.

У табл. 2 представлено вміст кальцію в дослідних зразках великогомілкової кістки. На 8-й тиждень експерименту він знижувався в зразках I групи на 16,8% порівняно з групою контролю ($P < 0,05$). В II групі також цей показник знижувався, проте значення були на 12,9% меншими щодо контролю ($P > 0,05$) та на 4,6% щодо значень I групи ($P > 0,05$). А на 16-й та на 24-й тижні вміст кальцію різко зменшився в I дослідній групі ($P < 0,01$). Ймовірно це вказує на продовження кісткового ремоделювання з високою активністю остеокластів і остеобластів та призводить до втрати мінеральної маси великогомілкової кістки. На 16-й тиждень

Таблиця 1. Структурні параметри зразків великогомілкової кістки

Зразки	Об'ємна частка аморфної фази, ум.од.	Інтегральна інтенсивність аморфної фази, ум.од.	Повна інтегральна інтенсивність, ум.од.	Середній розмір кристалітів фази $\text{Ca}_{10}\text{P}_6\text{O}_{26}\text{H}_2$, нм
Контроль				
8 тиж	$0,209 \pm 0,018$	806	3862	$13,7 \pm 0,5$
16 тиж	$0,190 \pm 0,025$	695	3667	$13,5 \pm 0,6$
24 тиж	$0,294 \pm 0,050$	668	2270	$12,0 \pm 0,5$
Метилпреднізолон				
8 тиж	$0,158 \pm 0,023^*$	406	2575	$14,4 \pm 0,6$
16 тиж	$0,156 \pm 0,012^*$	577	3698	$13,8 \pm 0,5$
24 тиж	$0,174 \pm 0,028^*$	455	2616	$16,4 \pm 0,8$
Метилпреднізолон і вібрація				
8 тиж	$0,179 \pm 0,017$	511	2860	$12,1 \pm 0,5$
16 тиж	$0,167 \pm 0,011$	582	3481	$11,6 \pm 0,4$
24 тиж	$0,202 \pm 0,020^*$	603	2982	$14,8 \pm 0,8$

* $P < 0,05$ щодо контролю

Таблиця 2. Вміст кальцію (мг/г) у фрагментах великогомілкової кістки щурів (M ± m)

Схема досліджу	8 тиж	16 тиж	24 тиж
Контроль	112,33 ± 4,69	116,19 ± 7,09	104,5 ± 7,21
Метилпреднізолон	93,44 ± 6,08**	71,5 ± 4,89*	62,86 ± 3,83*
Метилпреднізолон і вібрація	97,9 ± 6,83	83,36 ± 7,9*	68,9 ± 9,03*

*P < 0,01; **P < 0,05 щодо контролю

динаміка втрати кальцію становила 38,9% в I групі (P < 0,01), а в II групі, де застосовували механічну стимуляцію, показник був значно вищим (-28,3%). На 24-й тиждень ці значення сягали -39,8 та -34,1% відповідно. Варто зазначити, що втрата кальцію за умов застосування метилпреднізолону в комбінації з механічними стимулами значно сповільнювалася, починаючи з 8-го і аж до 16-го тижня експерименту.

Слід відмітити, що нефізіологічна вібрація низької інтенсивності та високої частоти (50 Гц, 0,3g) здатна гальмувати деякі побічні впливи глюкокортикоїдів на структуру кісток у щурів та їх метаболізм. Ці коливання максимально наближені до тих, які виникають в процесі життєдіяльності людини та при фізичних навантаженнях. Рентгеноструктурним методом було встановлено, що тривале застосування метилпреднізолону суттєво зменшує кількість кристалічного компоненту у кістковій тканині. Проте у щурів, на яких додатково впливали вібрацією (II група), кристалічні параметри великогомілкової кістки суттєво не змінювалися аж до 16-го тижня експерименту та дали змогу зберегти на 10% більше мінеральної маси кістки порівняно з кількісними показниками у I групі.

Варто зазначити, що об'єм мінеральної маси кістки збільшується через процес ремоделювання, а саме стимуляцію остеоцитів та остеобластів. Для підтвердження змін у ремоделюванні скелета у щурів ми використовували лабораторні маркери TRAP5b та остеокальцин. Важливим залишається не тільки вивчення втрати мінеральної фази кісткової тканини а і діагностика волокон

колагену, бо від поєднання цих компонентів залежить міцність кістки [5–7, 18–20, 24]. Крім мінеральної щільності існують інші характеристики, котрі пов'язані з мінеральними кристалітами, зокрема форма, розмір, орієнтація тощо, та такі які можуть мати прямий вплив на механічні властивості цілісної кісткової тканини. Інформація про стан основної структурної одиниці кістки, а саме мінерально-колагенового композиту, забезпечує краще розуміння об'ємної структури та міцності кісткової тканини [25].

Зважаючи на те, що рентгеноструктурний метод дає змогу розкривати нові аспекти кісткової наноструктури за умови різної патології, він обмежується тільки експериментальним застосуванням. В нашому дослідженні була використана саме великогомілкова кістка, оскільки велика частина патологічних переломів припадає саме на цю ділянку. Ми не змогли встановити мінеральну щільність кісткової тканини окремо трабекулярного та кортикального шарів, проте дослідили відносне співвідношення кристалічного та аморфного компонентів а також структуру кристалічної ґратки у щурів, яким вводили метилпреднізолон та застосовували вібрацію всього тіла.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що вібрація з високим рівнем віброприскорення (0,3g, 50 Гц) змінює ремоделювання кісток у щурів після лікування метилпреднізолоном. Механічні навантаження у вигляді нефізіологічної вібрації не призводили до ушкодження кристалічної

гратки кісткової тканини та еластичних волокон в ранні періоди та навіть у подальшому сповільнювали втрату кристалічного компонента. Нефізіологічні вертикальні механічні коливання можуть бути ефективним засобом для запобігання ранньої втрати мінеральної щільності великогомілкової кістки. Описані фізіологічні ефекти є корисними для розуміння метаболізму у кістках за різних умов життя, для профілактики та доповнення у лікуванні остеопенії різної етіології, і зокрема при тривалому лікуванні глюкокортикоїдами.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

**N.M. Kostyshyn¹, M.R. Gzhegotskiy¹,
L.P. Kostyshyn¹, Yu.O. Kulyk²**

EFFECT OF BODY VIBRATION ON STRUCTURAL ORGANISATION OF TIBIA NANOCOMPOSITES IN RATS WITH GLUCOCORTICOID-INDUCED OSTEOPOROSIS

¹ Danylo Halytsky Lviv National Medical University;

² Ivan Franko National University, Lviv.

e-mail: kostyshyn.nm@gmail.com

The aim of the study was to evaluate the effect of non-physiological whole body vibration (0,3g) on the bone structure and metabolism in rats treated with methylprednisolone (3 mg/kg/day every other day, 24 weeks). Amount of crystalline component and collagen in the bones was determined by X-ray diffraction method, and the level of calcium by atomic adsorption spectroscopy. Bone metabolism was assessed by determining the concentration of markers - osteocalcin and tartrate-resistant acid phosphatase 5b. Methylprednisolone reduced the content of the mineral component in the tibia (-16.8%) in I group compared with the control. This significantly accelerated the process of bone metabolism, as evidenced by the increased level of bone remodeling markers. It should be noted that the total non-physiological whole body vibration did not allow a decrease in the mineral component of the bone until 16 weeks of the experiment compared with I group, although these values were lower than the control group (-28.3%). We suggest that mechanical high-frequency low-intensity whole body

vibration can inhibit the negative effects of glucocorticoids on bone structure.

Key words: glucocorticoids; whole body vibration; remodeling; bone mineral density; osteoporosis; bone nanocomposites; X-ray diffraction.

**Н.М. Костишин, М.Р. Гжегоцкий,
Л.П. Костишин, Ю.О. Кулик**

ВЛИЯНИЕ МЕХАНИЧЕСКИХ КОЛЕБАНИЙ НА СТРУКТУРНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ НАНОКОМПОЗИТОВ БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ У КРЫС ИЗ ГЛЮКОКОРТИКОИДИНДУЦИРОВАННЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ

Целью исследования было оценить влияние нефизиологично общей вибрации (0,3g) на кристаллическую структуру и метаболизм костей у крыс, получавших метилпреднизолон (3 мг/кг через день, 24 нед). Относительное количество кристаллического компонента и коллагена в костях определяли с помощью рентгеноструктурного метода, а содержание кальция – с помощью атомно-адсорбционной спектроскопии. Метаболизм костной ткани оценивали, определяя концентрацию маркеров, а именно остеокальцина и тартратрезистентной кислой фосфатазы 5b. Применение метилпреднизолона приводило к снижению содержания минерального компонента в большеберцовой кости (-16,8%) крыс по сравнению со значениями в контрольной группе. При этом значительно ускорялся процесс метаболизма кости, о чем свидетельствует повышенный уровень маркеров ремоделирования. Следует отметить, что общая нефизиологическая вибрация не допускала снижения минерального компонента костей до 16-й недели эксперимента по сравнению со значениями у крыс, получавших метилпреднизолон, хотя показатели были ниже результатов в группе контроля (-28,3%). Мы установили, что механическая высокочастотная вибрация низкой интенсивности способна тормозить негативные последствия глюкокортикоидов на структуру костей.

Ключевые слова: глюкокортикоиды; общая вибрация; ремоделирование; минеральная плотность; остеопороз; костные наноконпозиты; рентгеновская дифракция.

REFERENCES

1. Lin S, Huang J, Zheng L, Liu Y, Liu G, Li N, Wang K, Zou L, Wu T, Quin L, Cui L, Li G. Glucocorticoid-induced osteoporosis in growing rats. *Calcif Tissue Int.* 2014;95(4):362-73.
2. Musumeci G, Loreto C, Leonardi R, Castorina S, Giunta S, Carnazza M, Trovaro FM, Pichler K, Weinberg AM. The effects of physical activity on apoptosis and lubricin expression in articular cartilage in rats with glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Metab.* 2013; 31(3): 274-84.
3. Golovach IY. Clinical Hospital «Feofaniya» of State

- Administration of Affairs, Kyiv, Ukraine Glucocorticoid-Induced Osteoporosis: Generation of Doctrine in Ukraine and Current State of Problem. Pain, Joints, Spine. 2011;3: 47-53.
4. Pichler K, Loreto C, Leonardi R, Reuber T, Weinber AM, Musumeci G. RANKL is down regulated in bone cells by physical activity (treadmill and vibration stimulation training) in rat with glucocorticoid-induced osteoporosis. 2013;28:1185-96.
 5. Nakajima K, Matsunaga S, Morioka T, Nakano T, Abe S, Furuya Y, Yajima Y. Effects of unloading by tail suspension on biological apatite crystallite alignment in mouse femur. Dental Materials J. 2020;2019-187.
 6. Shiau HJ, Aichelmann-Reidy ME, Reynolds MA. Influence of sex steroids on inflammation and bone metabolism. Periodontology. 2000.2014;64(1): 81-94.
 7. Khosla S, Monroe DG. Regulation of bone metabolism by sex steroids. Cold Spring Harb Perspect Med. 2018;8(1): a031211.
 8. Vandewalle S, Taes Y, Fiers T, Toye K, Van Caenegem E, Roggen I, De Schepper J, Kaufman JM. Associations of sex steroids with bone maturation, bone mineral density, bone geometry, and body composition: a cross-sectional study in healthy male adolescents. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99(7):e1272-82.
 9. Pang MY, Lau RW, Yip SP. The effects of whole-body vibration therapy on bone turnover, muscle strength, motor function, and spasticity in chronic stroke: a randomized controlled trial. Eur J Phys Rehabil Med. 2013;49(4):439-50.
 10. McGee-Lawrence ME, Wenger KH, Misra S, Davis CL, Pollock NK, Elsalanty M, Ding K, Isaacs CM, Hamrick MW, Wosiski-Kuhn M, Arounleut P, Mattson MP, Cutler RG, Yu JC, Stranahan AM. Whole-body vibration mimics the metabolic effects of exercise in male leptin receptor-deficient mice. Endocrinology. 2017;158(5):1160-71.
 11. Minematsu A, Nishii Y, Imagita H, Sakata S. Whole body vibration at low-frequency can increase trabecular thickness and width in adult rats. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2019;19(2):169.
 12. Cahalan SM, Lukacs V, Ranade SS, Chien S, Bandell M, Patapoutian A. Piezo1 links mechanical forces to red blood cell volume. Elife. 2015;4:e07370.
 13. Choi D, Park E, Jung E, Cha B, Lee S, Yu J, Cho CW. Piezo1 incorporates mechanical force signals into the genetic program that governs lymphatic valve development and maintenance. JCI insight. 2019;4(5): e125068.
 14. Fotiou E, Martin-Almedina S, Simpson MA, Lin S, Gordon K, Brice G, Vogt J. Novel mutations in Piezo1 cause an autosomal recessive generalized lymphatic dysplasia with non-immune hydrops fetalis. Nat Commun. 2015;6:8085.
 15. Li X, Han L, Nookaew I, Mannen E, Silva MJ, Almeida M, Xiong J. Stimulation of Piezo1 by mechanical signals promotes bone anabolism. Elife. 2019;8: e49631.
 16. Huang CC, Tseng TL, Huang WC, Chung YH, Chuang HL, Wu JH. Whole-body vibration training effect on physical performance and obesity in mice. Int J Med Sci. 2014;11(12):1218.
 17. Kostyshyn N, Kulyk Y, Kostyshyn L, Gzhegotskyi M. Metabolic and structural response of bone to whole-body vibration in obesity and sedentary rat models for osteopenia. Rom J Diabetes Nutr Metab Dis. 2020;27(3):200-8.
 18. Tadano S, Giri B. X-ray diffraction as a promising tool to characterize bone nanocomposites. Sci Technol Adv Mater. 2012;12(6): e064708.
 19. Schuster L, Ardjomandi N, Munz M, Umrath F, Klein C, Rupp F, Alexander D. Establishment of collagen: Hydroxyapatite/BMP-2 mimetic peptide composites. Materials. 2020;13(5):1203.
 20. Clark SM, Iball J. The X-ray crystal analysis of bone. Prog Biophys Biophys Chem: Prog Ser. 2016;7:226.
 21. Bunaciu AA, Udriștioiu EG, Aboul-Enein HY. X-ray diffraction: instrumentation and applications. Crit Rev Analyt Chem. 2015;45(4):289-99.
 22. Hlaing TT, Compston JE. Biochemical markers of bone turnover—uses and limitations. Ann Clin Biochem. 2014;51(2):189-202.
 23. Morris HA, Eastell R, Jorgensen NR. Clinical usefulness of bone turnover marker concentrations in osteoporosis. Clin Chim Acta. 2017;467:34-41.
 24. Kostyshyn NM, Kostyshyn LP, Gzhegotskyi MR. Age and sex-related structural and functional changes of bone remodelling during simulate abdomen ct-scanning. Wlad Lek, 2020;73(1):91-4.
 25. Piga G, Solinas G, Thompson TJU, Brunetti A, Malgosa A, Enzo S. Is X-ray diffraction able to distinguish between animal and human bones? J Archaeol Sci. 2013;40(1):778-85.

*Матеріал надійшов
до редакції 01.12.2020*