

ФІЗІОЛОГІЯ, ПАТОЛОГІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І МОРФОЛОГІЯ

УДК 636.5.09:611.018.4:612.014.2

Мікроархітектоніка та гістоморфометричні показники кісткової тканини за ремоделювання

Новак В.П. , Бевз О.С. , Мельниченко А.П. ,Ільницький М.Г. , Присяжнюк Н.М. *Білоцерківський національний аграрний університет* Кореспондентний автор Бевз О.С. E-mail: olga-bevz@ukr.net

Новак В.П., Бевз О.С., Мельниченко А.П., Ільницький М.Г., Присяжнюк Н.М. Мікроархітектоніка та гістоморфометричні показники кісткової тканини за ремоделювання. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2023. № 2. С. 173–181.

Novak V., Bevs O., Melnychenko A., Ihnitsky M., Prisyazhnyuk N. Microarchitectonics and histomorphometric parameters of bone tissue during remodeling. *Nauk. visn. vet. med.*, 2023. № 2. PP. 173–181.

Рукопис отримано: 04.09.2023 р.

Прийнято: 18.09.2023 р.

Затверджено до друку: 23.11.2023 р.

Doi: 10.33245/2310-4902-2023-184-2-173-181

В статті подано та статистично обґрунтовано особливості ремоделювання та структури кортикальної та медулярної кісткових тканин у двох вікових групах (160 та 225 діб) курей-несучок перед початком та під час яйцекладки. Метою роботи було проаналізувати структурну організацію кісткової тканини за різних станів продуктивності. Матеріалом для досліджень були ліктьові кістки передпліччя курей-несучок двох дослідних груп. Гістологічні дослідження: фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, декальцинували у рідині Віленсона, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заходили в парафін, готували поперечні зрізи із середньої третини діафіза, зафарбовували за Френкелем, Хартом, Малорі, гематоксилином та еозином. Мікроскопували та проводили морфометричні дослідження на мікроскопі Axiolar plus (Carl Zeiss), фотографували та вимірювали за інструментів відеокамери Sigeta MDC-200 (окуляр x10, об'єктиви x25/0,50, x40/0,65, 100/0,25), інтегрованою з персональним комп'ютером Axiolar plus (Carl Zeiss). Статистичну обробку цифрового матеріалу проводили за t-критерієм Стюдента. Зміна структури кортикальної кісткової тканини в дослідний період пов'язана з фізіологічним ремоделюванням, про це свідчить наявність цементуючих ліній окремих остеонів, напівостеонів та гаверсових каналів з розширеним діаметром. Відсутність або незначне розвинення вставної системи кісткових пластинок вказує на низьку швидкість фізіологічного ремоделювання компактної речовини кісткової тканини. Зовнішня генеральна система пластинок не змінює структури. Внутрішня генеральна система кісткових пластинок розвинена нерівномірно. Із 160- до 225-добового періоду відбувається розвиток та накопичення медулярної кісткової тканини, що підтверджено достовірним зростанням площі трабекул у 2,8 рази ($P_3 = 0,999$), ускладненням їхньої структури та зменшенням площі міжтрабекулярних просторів у 1,7 рази ($P_2 = 0,99$). Достовірно більший у 3,4 рази ($P_1 = 0,95$) об'єм ядер остеобластів у період 160 діб свідчить про їхню активну функціональну діяльність – формування трабекул медулярної кісткової тканини. У період 160 діб варто звернути особливу увагу на збалансованість раціону курей-несучок для забезпечення утворення достатньої кількості якісної медулярної кісткової тканини.

Ключові слова: пластинчаста кісткова тканина, кортикальна, медулярна, губчаста та компактна речовина, перебудова, морфометрія, кури-несучки.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. На сьогодні галузь птахівництва з виробництва яєць прагне продовжити яйценосність курей до 100 тижнів та довше. Однак інтенсивна яєчна продуктивність зумовлює проблеми здоров'я курей, особливо страждає метаболізм кісток, оскільки утворення яєчної шкаралупи мобілізує значну кількість кальцію зі скелета, спричинюючи важку форму остеопорозу та переломи кісток [1]. Натомість ламкість кісток або переломи через постійну демінералізацію спричиняють серйозні проблеми з добробутом курей-несучок та економічною ефективністю. Порушення добробуту тварин внаслідок скелетних розладів, ймовірно, є однією з найбільших проблем, з якими зараз стикається галузь птахівництва з виробництва яєць [2]. Кури-несучки мають унікальний метаболізм кісток завдяки щоденному циклу відкладання яєць [3, 4]. У курей-несучок є три різних типи кісткової тканини, які пов'язані з утворенням яєць: кортикальна, губчаста і кістково-мозкова – медулярна кісткова тканина. Кортикальна кісткова тканина є компактною структурною кісткою, тимчасом губчаста кісткова тканина є тривимірною ґратчастою стільниковою структурою на кінцях довгих кісток. Медулярна кісткова тканина – це досить лабільна, ендостальна тканина, яка знаходиться в порожнинах кісткового мозку. Медулярна кісткова тканина, що утворюється в кістках самок птиці слугує сховищем кальцію для утворення твердої яєчної шкаралупи. Отже, якість кісток тісно пов'язана з яйценосністю і якістю яєчної шкаралупи. Під час щоденного циклу яйцекладки остеокласти кісткової тканини поперемінно припиняють і прискорюють резорбцію кістки [3, 5, 6]. Важливий вплив щодо механічних властивостей кісток справляє накопичення достатньої кількості медулярної кісткової тканини на ранніх етапах життя для підтримки цілісності скелета і якості яєчної шкаралупи у старих курей [1]. Розвиток різних структурних типів кісткової тканини триває до настання статевої зрілості у молодняку. У цей період значний сплеск естрогену змінює функцію остеобластів на формування медулярної кістки, а не структурної [4, 6]. Медулярна кісткова тканина формується лише за високої концентрації естрогену в плазмі крові в період яйцекладки. Естроген продукується фолікулами яєчника, які розвиваються ще до початку яйцекладки. У період яйцекладки резорбція кісток використовується для поповнення екзогенного (харчового) кальцію, необхідного для утворення яєчної шкаралупи [7]. Кури-несучки постачають кальцій до своїх яєчних шкаралуп

у процесі формування та розсмоктування динамічної кісткової тканини, що називається ремоделюванням. Кісткова тканина у міру старіння курей стає слабкою та крихкою через дисбаланс в її реконструкції, що призводить до порушення мікроархітекτονіки кісток [8]. Втрата кісткової маси призводить до збільшення ламкості кісток, що зумовлює переломи та становить до 30 % за період несучості [9]. Курям-несучкам на початку життя потрібно наростити достатньо медулярної кісткової тканини, щоб підтримувати запаси кальцію та цілісність скелета впродовж періоду яйценосності. Водночас, медулярна кісткова тканина має значний вплив щодо механічних властивостей кісток. Отже, дозволяючи курям накопичувати більшу кількість медулярної кісткової тканини можливо зменшити остеопороз та переломи кісток [1]. Для цього необхідні знання щодо формування медулярної кісткової тканини, її стану та функціонування кортикальної кісткової тканини на початку та впродовж періоду яйценосності.

Метою дослідження було проаналізувати гістологічну структуру та морфометрію кортикальної й медулярної кісткових тканин на початку періоду яйцекладки та під час інтенсивної продуктивності курей-несучок у двох вікових групах.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом для досліджень були ліктьові кістки передпліччя від 160- та 225-добових курей-несучок породи Леггорн вагою 1,5–1,6 кг по 6 у групі. Курей утримували в клітках, раціон годівлі був збалансований щодо основних показників норм поживності для курей-несучок (268 ккал обмінної енергії та 17 % сирого протеїну на 100 г комбікорму) та вільний доступ до води. Для виготовлення гістологічних зрізів матеріал (24 ліктьові кістки) відпрепарувували від оточуючих тканин, фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, декальцинували у рідині Віленсона (10 % розчин азотної кислоти, приготований на 5 % формаліні з додаванням ацетату калію з розрахунку 5 г на кожні 100 мл), зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заводили в парафін, готували поперечні зрізи із середньої третини діафіза на ротаційному мікромомі. Для світлової мікроскопії фарбували за Френкелем, Хартом, Малорі, гематоксиліном та еозином. Для аналізу гістологічних препаратів використовували мікроскоп Axiolar plus (Carl Zeiss). Мікрофотографії були зроблені за допомогою відеокamera Sigeta MDC-200 (окуляр x10, об'єктиви x25/0,50, x40/0,65, 100/0,25), інтегрованою з персональним комп'ютером Axiolar plus (Carl Zeiss). Визначали гістологічну структу-

ру та гістоморфометричні показники кортикальної та медулярної кісткових тканин за наступними параметрами: кортикальна кісткова тканина – діаметр остеонів, діаметр гаверсових каналів, середній об'єм остеоцитарних лакун, середнє значення кількості вторинних остеонів, товщину зовнішніх, внутрішніх генеральних систем та вставних систем кісткових пластинок; медулярна кісткова тканина – середня площа трабекул, середня площа міжтрабекулярних просторів, середнє значення кількості трабекул, середнє значення кількості остеоцитарних лакун, середній об'єм остеоцитарних лакун, середній об'єм ядер остеобластів.

Статистичну обробку цифрового матеріалу проводили за t-критерієм Стьюдента [10].

Морфологічні дослідження проводили із суворим дотриманням біоетичних норм, відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 28.03.2006 р. [22].

Результати дослідження. Компактна речовина пластинчастої кісткової тканини (кортикальна кістка) курей-несучок утворена чотирма системами кісткових пластинок, які неоднаково розвинені. Остеонна система кісткових пластинок є основною структурно-функціональною одиницею компактної речовини. Вона утворена концентричними кістковими пластинками, які розташовані навколо судинно-нервових гаверсових каналів та формують, здебільшого, первинні остеони. Остеони витягнуті поперечно, поздовжньо і прямо за ходом гаверсових каналів. Орієнтація остеонів пов'язана із поздовжньою віссю кісток та характеризується високою щільністю. Остеоцитарні лакуни мають округло-овальну та округлу форми. Середній об'єм остеоцитарних лакун достовірно збільшується з 1917±413,9 μm^3 у 160 діб до 6558,6±612,2 μm^3 – у 225 діб (табл. 1). Середній діаметр остеонів у 160-добовому віці 189,4±18,7 μm достовірно збільшується у 225-добовому віці до 264,4±27,3 μm , здебільшого через збільшення кількості вторинних остеонів. Однак діаметр остеонів коливається від 129,5 до 336,4 μm . Діаметр гаверсових каналів з віком збільшується з 32,1±5 до 120±36,2 μm . У 225-добовому віці окремі вторинні остеони мають найбільший діаметр гаверсових каналів 201,4 μm . Такі вторинні остеони утворені концентричними пластинками навколо гаверсового каналу та оточені чіткими периферійними цементуючими лініями. Причому кількість вторинних остеонів збільшується у 225-добовому віці – 26±3,9. Вставні системи кісткових пластинок локалізуються між остеонами і є їх залишками в процесі перебудови. Вставна система кісткових

пластинок нерівномірно розташована серед деяких остеонних конструкцій. Здебільшого остеони щільно прилягають один до одного без вставних пластинок і утворюють щільну гаверсову кісткову тканину – Dense Haversian Bone. На це вказує достовірна різниця товщини вставної системи у 160-добовому віці – 47,7±2 μm , у 225-добовому віці – 179,9±22 μm . Зовнішні та внутрішні генеральні системи кісткових пластинок межували з періостом та ендостом. Зовнішні та внутрішні генеральні пластинки були перфоровані фолькмановими каналами, які контактували із судинами медулярної кісткової тканини та періостом. Товщина зовнішніх генеральних систем кісткових пластинок достовірно не змінюється, але перевищує товщину внутрішніх систем. Внутрішні загальні системи кісткових пластинок розвинені нерівномірно в ділянках контакту кортикальної та медулярної кісткових тканин. Вони у 225-добовому віці слабо виражені та відсутні або, навпаки, потовщені – 107,1±11,5 μm порівняно із 160-добовим віком – 60,8±2,8 μm . У ділянках де відсутня внутрішня система знаходилися резорбційні тунелі та вторинні остеони на початку процесу перебудови або напівостеони та молоді остеони з концентрично нашарованими пластинками і оточені цементуючими лініями на периферії. На ендостальній поверхні компактної речовини з боку медулярної кісткової тканини локалізувалися одним або декількома шарами остеобласти з великими слабобазофільними ядрами (рис. 1).

Медулярна кісткова тканина розташована в центральній частині діафіза. Вона утворена системою кісткових трабекул різноманітної конфігурації та міжтрабекулярними просторами, заповненими кістковим мозком. Трабекули медулярної кісткової тканини у 160-добовому віці мали невелику площу 27000,8±5603,6 μm^2 , незначну кількість – 13,5±1,1 та розташовувалися поодинокі (табл. 2). У 225-добовому віці площа трабекул медулярної кістки достовірно зростала 75666,7±7067,2 μm^2 , внаслідок злиття декількох трабекул в одну 14±1,9, тому їхня кількість теж збільшувалася. Такі трабекули анастомозували між собою та формували складні, розгалужені комплекси. Відповідно, середня площа міжтрабекулярних просторів достовірно зменшувалася з 63000±4670 μm^2 у 160-добовому віці до 37666,7±4670 μm^2 у 225 діб. У 160-добовому віці остеоцитарні лакуни трабекул були не виражені, розташовані поодинокі та мали здебільшого округлу форму. Середнє значення кількості остеоцитарних лакун – 5,3±1,1, а їх середній об'єм – 2164,9±824,9 μm^3 .

Остеоцитарні лакуни трабекул у 225-добовому віці мали переважно еліпсоподібну форму, але поодинокі лакуни були округлої форми. У 225-добовому віці середнє значення кількості остеоцитарних лакун – $11,7 \pm 1,1$ та середній об'єм – $6374,7 \pm 1325,7 \mu\text{m}^3$ достовірно збільшувалися порівняно з 160-добовим

віком. На поверхні трабекул локалізувалися остеобласти, які мали вигляд плоских клітин з видовженими слабобазофільними ядрами та розташовувалися ланцюжком в один шар. Середній об'єм ядер остеобластів достовірно зменшувався з $3237,1 \pm 948,5 \mu\text{m}^3$ у 160 діб до $954,9 \pm 140,5 \mu\text{m}^3$ у 225 діб (рис. 2).

Таблиця 1 – Морфометричні показники за ремоделювання кортикальної кісткової тканини

n/n	Морфометричні показники кортикальної кісткової тканини	Вік курей-несучок		Різниця, (d)	Критерій вірогідності, (td)	Рівень вірогідності, ($P_{1;2;3}$)
		160 діб	225 діб			
		x±m	x±m			
1	Діаметр остеонів, μm	189,4±18,7	264,4±27,3	75	2,3	$P_1 = 0,95$
2	Діаметр гаверсових каналів, μm	32,1±5	120±36,2	88	2,4	$P_1 = 0,95$
3	Середнє значення кількості вторинних остеонів, (M)	13,5±1,1	26±3,9	12,5	3,1	$P_2 = 0,99$
4	Товщина зовнішніх генеральних систем кісткових пластинок, μm	174,1±17,3	171,7±30,7	2,4	0,1	недостовірна
5	Товщина внутрішніх генеральних систем кісткових пластинок, μm	60,8±2,8	107,1±11,5	46,3	3,9	$P_2 = 0,99$
6	Товщина вставних систем кісткових пластинок, μm	47,7±2	179,9±22	132,2	6	$P_3 = 0,999$
7	Середній об'єм остеоцитарних лакун, μm^3	1917±413,9	6558,6±612,2	4641,6	7,4	$P_3 = 0,999$

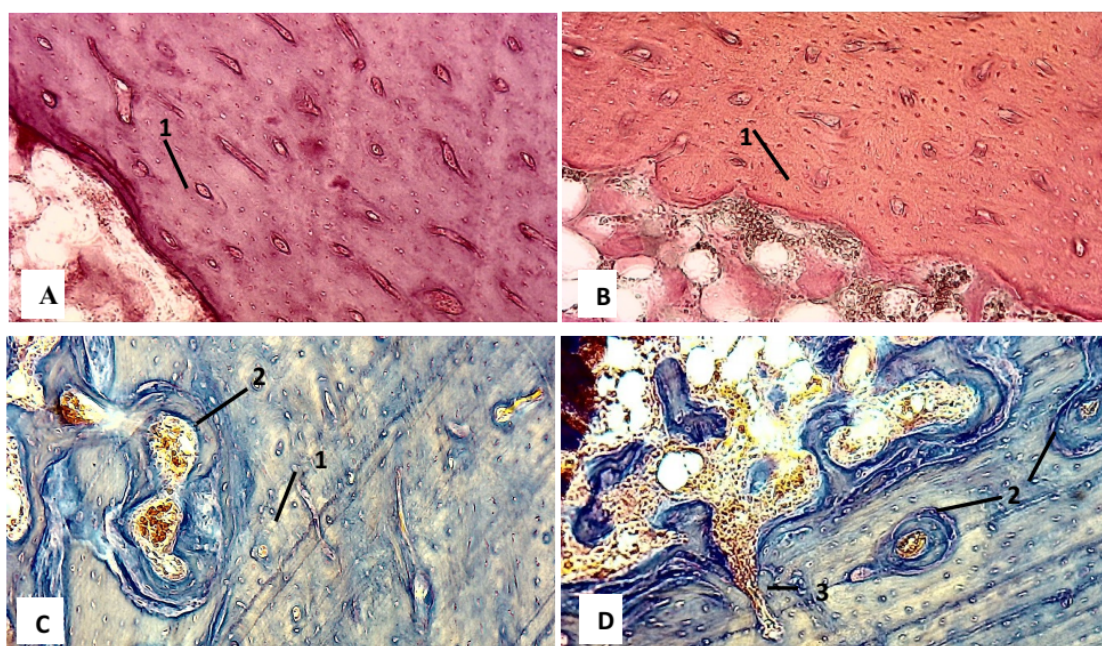


Рис. 1. Кортикальна кісткова тканина 160 діб (А, В), гематоксилін-еозин, x100; 225 діб (С, D), Малорі, x100: 1 – остеон; 2 – вторинні остеони; 3 – резорбційний канал.

Таблиця 2 – Морфометричні показники за ремоделювання медулярної кісткової тканини

n/n	Морфометричні показники медулярної кісткової тканини	Вік курей-несучок		Різниця, (d)	Критерій вірогідності, (td)	Рівень вірогідності, (P)
		160 діб	225 діб			
		x±m	x±m			
1	Середня площа трабекул, μm^2	27000,8±5603,6	75666,7±7067,2	48665,9	5,4	$P_3 = 0,999$
2	Середня площа міжтрабекулярних просторів, μm^2	63000±4670	37666,7±4670	25333,3	3,8	$P_2 = 0,99$
3	Середнє значення кількості трабекул, (M)	7,5±0,5	14±1,9	6,5	3,3	$P_2 = 0,99$
4	Середнє значення кількості остеоцитарних лакун, (M)	5,3±1,1	11,7±1,1	6,4	4	$P_2 = 0,99$
5	Середній об'єм остеоцитарних лакун, μm^3	2164,9±824,9	6374,7±1325,7	4209,8	2,7	$P_1 = 0,95$
6	Середній об'єм ядер остеобластів, μm^3	3237,1±948,5	954,9±140,5	2288,6	2,4	$P_1 = 0,95$

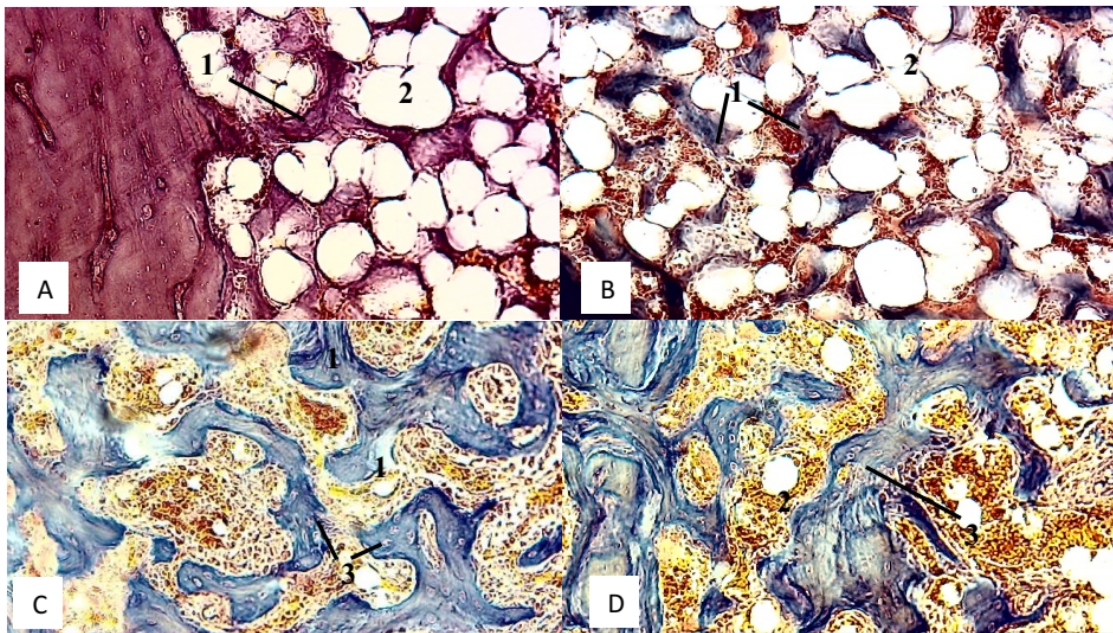


Рис. 2. Медулярна кісткова тканина: 160 діб (А, В), гематоксилін-еозин, x100; 225 діб (С, D), Малорі, x100: 1 – трабекула; 2 – міжтрабекулярні простори; 3 – остеоцитарні лакуни.

Обговорення. В ділянках періостальної і ендостальної поверхонь компактної речовини пластинчастої кісткової тканини (кортикальної кісткової тканини) визначали загальні, або генеральні, системи кісткових пластинок, які були розташовані паралельними рядами вздовж кістки. З боку періосту у вигляді декількох

шарів локалізувалися зовнішні (генеральні) системи кісткових пластинок. Всередині, з боку ендосту – шар внутрішніх пластинок [11]. Товщина зовнішніх генеральних систем кісткових пластинок з віком достовірно не змінювалася. Можливо, це пов'язано з її остаточним формуванням на 175–228-му добу за даними [12].

У 225-добовому віці внутрішня загальна система кісткових пластинок була нерівномірно розвинена – у деяких ділянках взагалі відсутня або потовщена. В ділянках де були відсутні внутрішні системи локалізувалися структури, які вказували на ознаки ремоделювання – резорбційні тунелі та напівостеони (геміостеони) або молоді, сформовані остеони. Процес ремоделювання полягає в повному руйнуванні точкових ділянок кістки (резорбції) і заповненні дефектів, що виникають, новоутвореною кісткою та домінуючим негативним балансом ендостальної поверхні [13]. Наявність цементуючих ліній на деяких остеонах свідчить про місця контакту старої і новосформованої тканин у фазу реверсії під час формування кістки. Дослідження [14] показали, що фаза реверсії є перехідним періодом, в який процес резорбції пов'язаний з процесом формування кістки – утворюється цементуюча лінія (або клей), яка з'єднує нову і стару кістки. Поверхня реверсії, яка залишається – є фізичною демаркацією, де резорбція кістки змінюється на формування кістки. Виглядає як тонка лінія на поперечних зрізах та є лінією реверсії або цементу. Середній діаметр остеонів достовірно збільшувався у 1,4 рази ($P_1 = 0,95$). Це пов'язано з появою нових, молодих остеонів в процесі ремоделювання [8]. У 225-добовому віці окремі остеони мали більший діаметр гаверсових каналів у 3,7 ($P_1 = 0,95$) разів, що можливо, пов'язано із зниженням якості компактної речовини у зв'язку з яйцекладкою [16]. Остеоцитарні лакуни кортикальної кісткової тканини були, переважно, округло-овальної форми. Округло-овальна форма лакун остеоцитів зберігається в курей-несучок, що співпадає з даними [17], які вказують, що на поперечних зрізах лакун остеоцитів у курчат мають еліптично-округлу форму, що пов'язано з двоопуклою кришталіковою формою остеоцитів. Достовірно зростання середнього об'єму остеоцитарних лакун кортикальної кістки у 3,4 рази ($P_3 = 0,999$) свідчить про активне остеоцитарне ремоделювання. Достовірно збільшення діаметра гаверсових каналів з $32,1 \pm 5$ до $120 \pm 36,2$ μm – у 3,7 рази ($P_1 = 0,95$) відбувалося завдяки вторинним остеонам та залежало від віку остеона, що співпадає з даними [18]. Це пов'язано з реконструкцією кортикальної кістки та остеокласторозсмоктувальною активністю для розширення гаверсового каналу [19]. Остеокластична резорбція у старих курей призводить до збільшення гаверсових каналів з перфорованою структурою (пористістю) [20]. Ці факти пояснюють, чому кіркова кістка стає тоншою і пористішою з тривалим періодом відкладання

яєць [16]. У період перед яйцекладкою (160 діб) вставна система кісткових пластинок незначно та нерівномірно розвинена, що сприяє щільному контакту остеонів та утворенню Dense Haversian Bone. В період яйцекладки (225 діб) товщина вставної системи достовірно збільшується у 3,8 рази ($P_3 = 0,999$). Це свідчить про процеси перебудови кортикальної кісткової та співпадає з даними [18], що інтерстиціальні ламели (вставні пластинки) є показником постійного кругообігу у кістковій тканині. Після ремоделювання фрагменти остеонів завжди наявні між знову сформованими остеонами у вигляді вставних кісткових пластинок [14]. Помірна перебудова компактної речовини пластинчастої кісткової тканини діафіза ліктьової кістки, пов'язана з постійним та швидким відновленням медулярної кісткової тканини, яка є основним джерелом кальцію для формування яєчної шкаралупи під час яйцекладки [4]. Метаболізм кісток вищий в тих кістках, які несуть навантаження, в порівнянні з фалангами [21]. Отже, швидкість процесів ремоделювання компактної речовини пластинчастої кісткової тканини ліктьової кістки не була інтенсивною. На ендостальній поверхні кортикальної кісткової тканини з боку медулярної кісткової тканини локалізувалися одним або декількома шарами остеобласти з великими слабобазофільними ядрами. За даними [21], це свідчило про їх функціональну активність. У 225-добовому віці відбувалося достовірне зменшення середнього значення об'єму ядер остеобластів медулярної кістки у 3,4 рази ($P_1 = 0,95$), що, можливо, свідчить про сповільнення активності клітин. У сучасній остеології остеоцити мають механорецепторну функцію, вони регулюють вектор активності як остеобластів, так і остеокластів, беруть участь у метаболізмі фосфату та кальцію, підтримують параметри ремоделювання перилакунарного матриксу [21]. Під час фази вбудовування остеоцити зазнають значної фенотипової трансформації від кубоподібного, високометаболічно активного остеобласту, що секретує позаклітинний матрикс, до невеликого зірчастого остеоциту з численними довгими дендритами [17]. Можливо, ці чинники обумовлювали зміну форми остеоцитарних лакун медулярної кісткової тканини від округлої до округло-овальної, а також достовірно збільшення середнього значення їх кількості у 2,2 ($P_2 = 0,99$) рази та об'єму – у 2,9 ($P_1 = 0,95$). Це вказує на активні метаболічні процеси остеоцитарного ремоделювання медулярної кісткової тканини з трансформацією форми та розмірів лакунарно-каналцевого простору, що збігається з даними [21].

Це припущення підтверджується даними нашого дослідження, що відбувалось достовірне збільшення площі трабекул у 2,8 рази ($P_3 = 0,999$), їх середнього значення кількості у 2 рази, а також ускладнення їх архітектоники внаслідок злиття та формування складних анастомозуючих комплексів. Відповідно, достовірно зменшувалася площа міжтрабекулярних просторів у 1,7 рази ($P_2 = 0,99$) в період активної продуктивності. Морфометричні дані та гістологічна структура щодо площі трабекул, середнього значення кількості трабекул та площі міжтрабекулярних просторів свідчить про поступове початкове накопичення медулярної кісткової тканини у 160-добовий період до відкладання яєць, що співпадає з даними [7].

Висновки. Зовнішня генеральна система кісткових пластинок не змінювала структуру в дослідний період. Внутрішня генеральна система кісткових пластинок була розвинена нерівномірно. У період 225 днів в курей-несучок відбувалася фізіологічна перебудова компактної речовини пластинчастої кісткової тканини, про що свідчила наявність цементуючих ліній окремих остеонів, напівостеонів та гаверсових каналів з розширеним діаметром у 3,7 рази ($P_1 = 0,95$). Відсутність або незначне розвинення вставної системи кісткових пластинок формувало Dense Haversian Bone та вказувало на низьку швидкість фізіологічного ремодулювання компактної кісткової тканини. У 160-добовий період трабекули медулярної кісткової тканини були прості, нерозвинені з незначною площею, що свідчило про поступове накопичення медулярної кісткової тканини на початку яйцекладки. У 225-добовому періоді медулярна кісткова тканина була добре розвинена внаслідок утворення складних, анастомозуючих, розгалужених трабекулярних комплексів з достовірно більшою площею у 2,8 рази ($P_3 = 0,999$), але ще не повністю заповненим медулярним простором. Розвинена медулярна кісткова тканина є джерелом кальцію та забезпечує якість шкаралупи яєць. Достовірно більший об'єм ядер остеобластів у 3,4 рази ($P_1 = 0,95$) у період 160 днів свідчив про їх активну функціональну діяльність – утворення трабекул медулярної кістки. У період 160 днів варто звернути особливу увагу на збалансованість раціону курей-несучок для забезпечення утворення достатньої кількості якісної медулярної кісткової тканини.

Відомості про дотримання біоетичних норм. Всі дослідження були проведені на трупному матеріалі.

Відомості про конфлікт інтересів. Конфлікт інтересів відсутній.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Relationship between Bone Quality, Egg Production and Eggshell Quality in Laying Hens at the End of an Extended Production Cycle (105 Weeks) / C. Alfonso-Carrillo et al. *Animals*, 2021. 11. 623 p. DOI:10.3390/ani11030623
2. Relationship between Bone Stability and Egg Production in Genetically Divergent Chicken Layer Lines / S. Jansen et al. *Animals*, 2020. 10 (5). 850 p. DOI:10.3390/ani10050850
3. Kim W., Bloomfield S., Sugiyama T., Ricke S. Concepts and methods for understanding bone metabolism in laying hens. *World's Poultry Science Journal*. 2012. 68 (1). P. 71–82. DOI:10.1017/S0043933912000086
4. Genetic Regulation of Bone Metabolism in the Chicken: Similarities and Differences to Mammalian Systems / M. Johnsson et al. *PLoS Genet*. 2015. 11 (5). e1005250. DOI:10.1371/journal.pgen.1005250
5. Prondvai E. Medullary bone in fossils: function, evolution and significance in growth curve reconstructions of extinct vertebrates. *Journal of Evolutionary Biology*. 2017. P. 440–460 DOI:10.1111/jeb.13019
6. Whitehead C.C. Overview of bone biology in the egg-laying hen. *Poult. Sci.*, 2004. 83. P. 193–199. DOI:10.1093/ps/83.2.193
7. Explanations for keel bone fractures in laying hens: are there explanations in addition to elevated egg production? / M.J. Toscano et al. *Poultry Science*. 2020. Vol. 99. Issue 9. P. 4183–4194. DOI:10.1016/j.psj.2020.05.035.
8. Yamada M., Chen C., Sugiyama T., Kim W.K. Effect of Age on Bone Structure Parameters in Laying Hens. *Animals*, 2021. 11. 570. DOI:10.3390/ani11020570
9. Susceptibility to keel bone fractures in laying hens and the role of genetic variation / L. Candelotto et al. *Poult. Sci.*, 2017. 96. P. 3517–3528. DOI:10.3382/ps/pex146
10. Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. / за ред. Л.П. Горальського. Житомир: «Полісся», 2015. 286 с. URL: docplayer.net/67107205-L-p-goralskiy-v-t-h-o-m-i-ch-ol-kononskiy-osnovi-gistologichnoyi-tehniki-i-morfofunkcionalni-metodi-doslidzen-u-normi-ta-pri-patologiyi.html
11. Ткачук С.А. Морфологічні критерії видової ідентифікації м'яса курей. Київ: КП "КОМПРИНТ", 2014. 154 с. URL: nubip.edu.ua/sites/default/files/u110/FRF%201_24.pdf
12. Ткачук С.А. Закономірності морфогенезу волокнистих кісток курей м'ясного напрямку продуктивності в постнатальному періоді онтогенезу. Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2010. 30 с. URL: dglib.nubip.edu.ua/server/api/core/bitstreams/cf7c994a-a195-49fe-b7c5-c17ec61864cb/content
13. Riggs B.L., Melton L.J. *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management*. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 1995. 275 p.

14. Skedros J.G., Holmes J.L., Vajda E.G., Bloebaum R.D. Cement lines of secondary osteons in human bone are not mineral-deficient: New data in a historical perspective. 2005. Vol. 286. Issue 1. P. 781–803. DOI:10.1002/ar.a.20214

15. Domenis L., Squadrone S., Marchis D., Abete M.C. Osteocyte lacunae features in different chicken bones. BASE [En ligne]. 2009. Vol. 13. P. 29–32. URL: <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=3519>.

16. Importance of osteocyte-mediated regulation of bone remodeling in inflammatory bone disease / J. Intemann et al. Swiss Med Wkly., 2020. 150:w20187. DOI:10.4414/smw.2020.20187. PMID: 32031236.

17. The effect of five proteins on stem cells used for osteoblast differentiation and proliferation: A current review of the literature / P. Chatakun et al. Cell. Mol. Life Sci., 2014. 71. P. 113–142. DOI:10.1007/s00018-013-1326-0

18. Newman S., Leeson S. The effect of feed deprivation and subsequent refeeding on the bone characteristics of aged hens. Poultry Sci., 1999. 78. P. 1658–1663. ArticleDownload PDF CrossRefView Record in ScopusGoogle Scholar

19. Bone-remodeling transcript levels are independent of perching in end-of-lay white leghorn chickens / M.D. Dale et al. Int. J. Mol. Sci. 2015. 16 (2). P. 2663–2677. DOI:10.3390/ijms16022663

20. Dedukh N.V., Sykal A.A. Bone repair under type 2 diabetes mellitus (experimental investigation). Проблеми остеології. 2015. 18 (14). P. 12–7. URL: 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=prost_2015_18_4_4

21. Пошелок Д.М., Малишкіна С.В., Бенгус Л.М. Морфологічні зміни в остеонітах компактною кістки щурів після дії змодельованої гіпотермії. Український морфологічний альманах. 2013. Том 11. № 4. С. 68–73. URL: morpha.inf.ua/UMorpha_2013/UMorpha_2013_4/UMorpha_2013_4.pdf

22. Про захист тварин від жорстокого поводження: Закон України № 3447-IV від 21.02.2006. Відомості Верховної Ради України. Стаття 26. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>.

REFERENSES

1. Alfonso-Carrillo, C., Benavides-Reyes, C., de los Mozos, J., Dominguez-Gasca, N., Sanchez-Rodriguez, E., Garcia-Ruiz, A.I., Rodriguez-Navarro, A.B. (2021). Relationship between Bone Quality, Egg Production and Eggshell Quality in Laying Hens at the End of an Extended Production Cycle (105 Weeks). *Animals*, 11, 623 p. DOI:10.3390/ani11030623

2. Jansen, S., Baulain, U., Habig, C., Weigend, A., Halle, I., Manfred, Scholz, A., Simianer, H., Reza Sharifi, A., Weigend, S. (2020). Relationship between Bone Stability and Egg Production in Genetically Divergent Chicken Layer Lines. *Animals*, 10 (5), 850 p. DOI:10.3390/ani10050850

3. Kim, W., Bloomfield, S., Sugiyama, T., Ricke, S. (2012). Concepts and methods for understanding bone metabolism in laying hens. *World's Poultry*

Science Journal, 68 (1), pp. 71–82. DOI:10.1017/S0043933912000086

4. Johnsson, M., Jonsson, K.B., Andersson, L., Jensen, P., Wright, D. (2015). Genetic Regulation of Bone Metabolism in the Chicken: Similarities and Differences to Mammalian Systems. *PLoS Genet.*, 11 (5), e1005250. DOI:10.1371/journal.pgen.1005250

5. Prondvai, E. (2017). Medullary bone in fossils: function, evolution and significance in growth curve reconstructions of extinct vertebrates. *Journal of Evolutionary Biology*, pp. 440–460. DOI:10.1111/jeb.13019

6. Whitehead, C.C. (2004). Overview of bone biology in the egg-laying hen. *Poult. Sci.*, 83, pp. 193–199. DOI:10.1093/ps/83.2.193

7. Toscano, M.J., Dunn, I.C., Christensen, J.-P., Petow, S., Kittelsen, K., Ulrich, R. (2020). Explanations for keel bone fractures in laying hens: are there explanations in addition to elevated egg production? *Poultry Science*, Vol. 99, Issue 9, pp. 4183–4194. DOI:10.1016/j.psj.2020.05.035.

8. Yamada, M., Chen, C., Sugiyama, T., Kim, W.K. (2021). Effect of Age on Bone Structure Parameters in Laying Hens. *Animals*, 11, 570 p. DOI:10.3390/ani11020570

9. Candelotto, L., Stratmann, A., Gebhardt-Henrich, S.G., Rufener, C., van de Braak, T., Toscano, M.J. (2017). Susceptibility to keel bone fractures in laying hens and the role of genetic variation. *Poult. Sci.*, 96, pp. 3517–3528. DOI:10.3382/ps/pex146

10. Horal's'kyi, L.P., Khomych, V.T., Konon's'kyi, O.I. (2015). Osnovy histolohichnoyi tekhniki i morfofunktsional'ni metody doslidzhen' u normi ta pry patolohiyi [Fundamentals of histological technology and morphofunctional methods for monitoring the norm and pathology]. Zhytomyr: «Polissya», 286 p. Available at: docplayer.net/67107205-L-p-goralskiy-v-t-h-o-m-i-ch-ol-kononskiy-osnovi-gistologichnoyi-tehniki-i-morfofunktsionalni-metodi-doslidzhen-u-normi-ta-pri-patologiyi.html (in Ukrainian)

11. Tkachuk, S.A. (2014). Morfolohichni kryteriyi vydovoyi identyfikatsiyi m'yasa kurey [Morphological criteria for species identification of chicken meat]. K: CP "COMPRINT", 154 p. Available at: https://nubip.edu.ua/sites/default/files/u110/FRF%201_24.pdf (in Ukrainian)

12. Tkachuk, S.A. (2010). Zakonomirnosti morfohenezu fibroznykh kistok kurey m'yasnoho napryamu produktyvnosti v postnatal'nomu periodi ontogenezu [Regularities of morphogenesis of fibrous bones of hens of meat direction of productivity in the postnatal period of ontogenesis]. National University of Biore-sources and Nature Management of Ukraine. Kyiv, 30 p. Available at: <https://dglb.nubip.edu.ua/server/api/core/bitstreams/cf7c994a-a195-49fe-b7c5-c17ec-61864cb/content> (in Ukrainian)

13. Riggs, B.L., Melton, L.J. (1995). Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 275 p.

14. Skedros, J.G., Holmes, J.L., Vajda, E.G., Bloebaum, R.D. (2005). Bloebaum Cement lines of secondary osteons in human bone are not mineral-deficient: New data in a historical perspective. Vol. 286, Issue 1, pp. 781–803. DOI:10.1002/ar.a.20214

15. Domenis, L., Squadrone, S., Marchis, D., Abete, M.C. (2009). Osteocyte lacunae features in different chicken bones. BASE [En ligne], Vol. 13,

pp. 29–32. Available at: <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=3519>.

16. Intemann, J., De Gorter, D.J.J., Naylor, A.J., Dankbar, B., Wehmeyer, C. (2020). Importance of osteocyte-mediated regulation of bone remodelling in inflammatory bone disease. *Swiss Med Wkly.*, 7, 150:w20187. DOI:10.4414/ smw.2020.20187. PMID: 32031236.

17. Chatakun, P., Núñez-Toldrà, R., López, E.J.D., Gil-Recio, C., Martínez-Sarrà, E., Hernández-Alfaro, F., Ferrés-Padró, E., Giner-Tarrida, L., Atari, M. (2014). The effect of five proteins on stem cells used for osteoblast differentiation and proliferation: A current review of the literature. *Cell. Mol. Life Sci.*, 71, pp. 113–142. DOI:10.1007/s00018-013-1326-0

18. Newman, S., Leeson, S. (1999). The effect of feed deprivation and subsequent refeeding on the bone characteristics of aged hens. *Poult. Sci.*, 78, pp. 1658–1663. ArticleDownload PDFCrossRefView Record in ScopusGoogle Scholar

19. Dale, M.D., Mortimer, E.M., Kolli, S. (2015). Bone-remodeling transcript levels are independent of perching in end-of-lay white leghorn chickens. *Int J Mol Sci.*, 16 (2), pp. 2663–2677. DOI:10.3390/ijms16022663

20. Dedukh, N.V., Sykal, A.A. (2015). Bone repair under type 2 diabetes mellitus (experimental investigation). *Problemy osteolohiyi [Problems of osteology]*. 18 (14), pp. 12–7. Available at: 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&S21P03=FILE=&S21STR=prost_2015_18_4_4

21. Poshelok, D.M., Malyshkina, S.V., Benhus, L.M. (2013). Morfolohichni zminy v osteotsytakh kompaktnoyi kistky shehuriv pislya imitovanoyi hipotermiyi [Morphological changes in osteocytes of the compact bone of rats after simulated hypothermia]. *Ukrayins'kyi morfolohichnyi al'manakh [Ukrainian morphological almanac]*. Vol. 11, no. 4, pp. 68–73. Available at: morpha.inf.ua/UMorphA_2013/UMorphA_2013_4/UMorphA_2013_4.pdf (in Ukrainian)

22. Pro zahyst tvaryn vid zhorstokogo povodzhennja: Zakon Ukrainy № 3447-IV vid 21.02.2006. Vidomosti Verhovnoi' Rady Ukrainy. Stattja 26 [On the protection of animals from cruelty. Law of Ukraine No. 3447-IV dated February 21, 2006. Information of the Verkhovna Rada of Ukraine. Article 26]. Available at: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (in Ukrainian)

Microarchitectonics and histomorphometric parameters of bone tissue during remodeling

Novak V., Bevs O., Melnychenko A., Ilnitsky M., Prisyazhnyuk N.

The article shows and statistically substantiates the peculiarities of remodeling and structure of cortical and medullary bone tissue in two age groups (160- and 225 days) of laying hens before and during egg-laying. The aim of the study was to analyze the structural organization of bone tissue in different states of performance. The material for the study was the ulnae of the forearm of laying hens of two experimental groups. Histological studies: fixed in a 10% solution of neutral formalin, decalcified in Wilenson's fluid, dehydrated in alcohols of increasing concentration, embedded in paraffin, prepared transverse sections from the middle third of the diaphysis, stained by Frankel, Hart, Malory, hematoxylin and eosin. Microscopy and morphometric studies were performed using an Axiolar plus microscope (Carl Zeiss), photographs were taken and measured using a Sigeta MDC-200 video camera (eyepiece x10, lenses x25/0.50, x40/0.65, 100/0.25) integrated with an Axiolar plus personal computer (Carl Zeiss). Statistical processing of digital material was performed by Student's t-test. Changes in the structure of cortical bone tissue during the study period are associated with physiological remodeling. This is evidenced by the presence of cementing lines of individual osteons, semi-osteons and Haversian canals with an enlarged diameter. The absence or insignificant development of the insertion system of the forming bone plates indicates a low rate of physiological remodeling of the compact bone substance. The external general system of plates does not change the structure. The internal general system of bone plates is unevenly developed. From 160 to 225 days of age, the development and accumulation of medullary bone tissue occurs, which is confirmed by a significant increase in the area of trabeculae by 2.8 times ($P_3 = 0.999$), a complication of their structure and a decrease in the area of intertrabecular spaces by 1.7 times ($P_2 = 0.99$). A significantly higher 3.4-fold ($P_1 = 0.95$) volume of osteoblast nuclei at 160 days indicates their active functional activity - the formation of trabeculae of medullary bone tissue. During the period of 160 days, special attention should be paid to the balance of the diet of laying hens to ensure the formation of a sufficient amount of high-quality medullary bone tissue.

Key words: lamellar bone tissue, cortical, medullary, spongy and compact substance, restructuring, histomorphometry, laying hens.



Copyright: Новак В.П. та ін. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

Новак В.П.

Бевз О.С.

Мельниченко А.П.

Ільницький М.Г.

Присяжнюк Н.М.

<https://orcid.org/0000-0002-4741-648X>

<https://orcid.org/0000-0003-0218-1784>

<https://orcid.org/0000-0002-1157-1672>

<https://orcid.org/0000-0001-6130-6001>

<https://orcid.org/0000-0002-4737-0143>