Експериментальна фізіологія та біохімія

УДК 612.015.31:611-018.4-09:612.014.45

Н.М. КОСТИШИН, М.Р. ГЖЕГОЦЬКИЙ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

E-mail: kostyshyn.nm@gmail.com

Оцінка мінеральної щільності та метаболізму кісткової тканини щурів під впливом різних параметрів вібрації

Фізіологічна регенерація кісткової тканини відбувається в безперервній заміні кісткових пластинок та формуванні нових остеонів на місці резорбції. Ці взаємопротилежні процеси забезпечуються діяльністю остеокластів і остеобластів. Вивчення впливу різних екстремальних екзогенних чинників на метаболізм кісткової тканини є актуальним питанням, оскільки в світі з кожним роком зростає кількість людей, які працюють за несприятливих мікрокліматичних умов, контактуючи з вібрацією, шумом, зазнаючи впливу інших стресових чинників [5, 7, 15, 22, 28].

Проблема вивчення впливу загальної та локальної вібрації на організм людини є перспективним напрямом наукових досліджень, оскільки спричинені нею патології належать до найпоширеніших професійних хвороб в умовах сучасного виробництва [3, 5, 7, 20–22].

Більшість механізованих інструментів і машин, які генерують вібрацію, працюють на швидкості віброприскорення, що значно перевищують гранично допустимі норми. Рівні транспортної вібрації в промисловості значно вищі й часто перевищують 1 g (гравітаційна стала становить $9,8 \text{ м} \cdot \text{с}^{-2}$) [5, 7, 12, 14, 20, 21, 22]. Нормативний документ ISO 5349-1 (2001), прийнятий Міжнародною організацією з питань стандартизації, включає частотно-вагову криву, яка надає найбільше значення локальній низькочастотній високоамплітудній вібрації ($\leq 16 \text{ Гц}$) та набагато менше – вібрації з частотами 32,5 – 100 Гц [17].

Однак у літературі описано низку досліджень, у яких локальні вібраційні коливання з частотою 100–300 Гц і віброприскоренням $< 1 \text{ g}$, що часто трапляються в промисловості, спричиняють стрес для тканин організму й судинні, нейросенсорні, електролітні та імунологічні порушення. Наведені також дані про порушення в організмі механізмів мембранного транспорту електролітів, розвиток структурно-функціональних змін мембран клітин, руйнування білків цитоскелета та посилення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів клітинних мембран [14, 15].

У гирієнічних стандартах із загальної вібрації (ISO 2631/1, Geneva, Switzerland), прийнятих у 1997 р., вказано безпечний рівень, який становить 20–90 Гц, та рівень віброприскорення менше 0,56 g [18, 19]. Такі коливання не призводять до гострого чи хронічного ушкодження тканин і мають анаболічний чи/або антикатаболічний вплив

на кісткову тканину [13, 26, 29, 30]. За даними ВООЗ, позитивний ефект на мінеральну щільність і міцність кісток мають фізичні навантаження. Коливання, що виникають під час фізичних тренувань, сповільнюють остеокластогенез і мають анаболічний вплив на кісткову тканину.

Сучасні лабораторні методи дослідження дають змогу контролювати стан кісткового ремоделювання під впливом різних стресових чинників. Маркерами метаболізму кісткової тканини є рівень у крові оксипроліну, кальцитоніну, паратиреоїдного гормону, остеокальцину, Procollagen type I N-terminal propeptide, Cross-linked telopeptide I type collagen, електролітів (кальцій і фосфор) тощо. Стандартом визначення мінеральної щільності кісткової тканини є комп'ютерна томографія з денситометрією та двовимірна рентгенівська денситометрія поперекових хребців і шийки стегнової кістки [12, 16].

Мета дослідження. Вивчити вплив вібраційних коливань різної частоти на ремоделювання кісткової тканини щурів. Визначити залежність між мінеральною щільністю кісткової тканини, маркерами кісткового метаболізму та рівнем вібраційного подразника.

Матеріали й методи дослідження. Експериментальне дослідження проводилися на 60 статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г. Тварин поділено на 5 груп, по 12 тварин у кожній. Тварин контрольної та всіх дослідних груп утримували в однакових умовах віварію.

Дослідження на тваринах проводили з дотриманням принципів біоетики відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001).

Експериментальні тварини чотирьох дослідних груп зазнавали впливу вертикальних вібраційних коливань частотою 15, 25, 50 та 75 Гц відповідно двічі на день по 20 хв 5 днів на тиждень протягом 28 днів. Наступних 4 тижні (28 днів) тварин усіх дослідних груп утримували в стандартних умовах віварію та не піддавали впливу вібрації.

Вертикальні вібраційні коливання моделювалися з використанням вібраційної помпи APC Rain-60 потужністю 250 Вт із максимальним тиском 7 бар. До штока вібраційної помпи кріпилася вібраційна платформа з контейнером, де перебувала дослідна група щурів. Частоту роботи приладу визначали за допомогою пульта для моделювання віброрезонансних процесів моделі AFC-120. Амплітуда коливань контролювалася силою струму з використанням лабораторного автотрансформатора (ЛАТР) моделі АОСН-2. В усіх випадках вона становила 2 мм.

Швидкість віброприскорення визначали за формулою $a = \gamma \cdot F^2$, де a – швидкість віброприскорення, $\text{м} \cdot \text{с}^2$; γ – амплітуда коливань, мм; F – частота, Гц.

Швидкість віброприскорення становила 0,05 g для 1-ї дослідної групи; 0,13 g – для 2-ї; 0,51 та 1,15 g – для 3-ї та 4-ї груп відповідно.

По шість тварин із кожної групи виводили з експерименту на 28-й день дослідження швидкою декапітацією з одночасним забором крові та попереднім КТ-скануванням поперекового відділу хребта. Решту тварин утримували в стандартних умовах віварію ЛНМУ ім. Данила Галицького протягом наступних 28 днів, не піддаючи їх впливу вібрації.

На 56-й день дослідження повторно проводили оцінку стану кісткової тканини КТ-скануванням поперекового відділу хребта щурів та визначали рівень вільного оксипроліну в крові.

Мінеральну щільність кісткової тканини трабекулярного шару поперекових хребців (L_1-L_6) досліджували методом комп'ютерної томографії [14]. Щурів обстежували на комп'ютерному томографі Toshiba TSX-101 A, Aquilion 16 (2004) (TOSHIBA MEDICAL SYSTEMS CORPORATION, Японія).

Для сканування використовували стандартний датчик із товщиною зрізу 0,5 мм, 120.0 kV, 50 mA. Дані опрацьовували з використанням програми IQ view-3D, 3D post-processing workstation, certification CE 0482 and FDA 510 (k), London, United Kingdom на операційній платформі Windows 7 Professional SP 1, 32 bit (Microsoft, USA, 2009).

Для оцінки кісткового метаболізму в крові дослідних тварин визначали рівень вільної фракції оксипроліну за методикою Шараєва [6]. Принцип методу ґрунтується на визначенні оптичної густини червоного хроматину, отриманого в результаті конденсації продуктів окиснення оксипроліну з пара-диметиламінобензальдегідом.

Результати дослідження та їх обговорення. У літературі переважна більшість досліджень присвячена вивченню впливу середньо- та високочастотної вібрації зі швидкістю віброприскорення $\leq 0,5$ g, зважаючи на те що в 1994 р. С. Rubin та К. McLeod довели високу чутливість кістки до механічних стимулів [21]. Модулюючи загальні вібраційні коливання частотою 30 Гц з віброприскоренням 0,3 g по 5 хв щоденно протягом 30 днів, учені встановили наростання кісткової маси трабекулярного шару великогомілкової кістки в індиків. У 2001 р. С. Rubin et al. довели анаболічний вплив описаних вище коливань та сповільнення ремоделювання кісткової тканини за рахунок гальмування процесів остеокластогенезу (зниження експресії RANKL та цитокінів, причетних до остеокластогенезу) [22].

Проте деякі сучасні дослідження спростовують анаболічний чи антикатаболічний вплив вібраційних коливань зі швидкістю 0,3–0,5 g у молодих людей та осіб працездатного віку. Зокрема, вчені кафедр ортопедії та біомедичної інженерії Вашингтонського університету К.Н. Wenger et al. підтвердили антикатаболічну дію високочастотних загальних коливань швидкістю 0,3 g у щурів віком 7 місяців, у яких був попередньо змодельований остеопороз, та не виявили позитивного ефекту на кісткову тканину у щурів 22-місячного віку [11].

Літературні джерела вказують також, що пубертатний і постпубертатний вікові періоди характеризуються прискореним ремоделюванням кісткової тканини та швидким нарощенням її маси. Ці вікові періоди прирівнюються приблизно до 3-місячного віку лабораторного щура, коли його кістка дуже чутлива до різних ендогенних і екзогенних чинників, включаючи вібрацію.

У 2011 р. Helmun W. Paschold і Alam G. Mayton з'ясували, що корінцевий синдром, який є основною причиною хронічного болю в попереку, супроводжується втратою кісткової маси трабекулярного шару поперекових хребців у водіїв, спричинюється загальними вібраційними коливаннями, що передаються через опорні точки тіла та переважно призводять до втрати працездатності [20].

Значна кількість населення, яка працює в промисловості, зазнає впливу загальної вібрації, що призводить до зростання кількості хворих із розладами опорно-рухового апарату. Як наслідок, виникають гіпертрофія м'язової тканини, остеоартроз, остеопороз та утворення гіперкальцінатів хребців. Це згодом може призводити до розвитку вторинного корінцевого синдрому з трофічними розладами кінцівок. Ці зміни виникають переважно впродовж 2–5 років роботи в умовах постійної вібрації, яка перевищує гранично допустимі рівні [9, 10].

Комп'ютерна томографія кісткової тканини щурів виявила залежність втрати мінеральної щільності від частоти вібрації. Зокрема, на 28-му добу дослідження мінеральна щільність поперекових хребців

(L₁–L₆) контрольної групи становила від $311,90 \pm 5,44$ до $334,00 \pm 8,08$ мг/см³. Найбільша втрата кісткової маси трабекулярного шару хребців спостерігалася у 3-й та 4-й групах дослідних щурів, яка зменшувалася до $\leq 12\%$ ($p < 0,05$) та до 14% ($p < 0,05$) відповідно, порівняно з групою контролю. У 1-й та 2-й групах показник щільності знизився до значення $\leq 4\%$ ($p > 0,05$) та до 8% ($p < 0,05$) відповідно щодо групи контролю (рис. 1).

Рис. 1. Мінеральна щільність кісткової тканини поперекових хребців щурів на 28-й день експерименту, мг/см³

На 56-й день експерименту динаміка втрати кісткової тканини становила в 1-й групі $\leq 10\%$ ($p < 0,05$), у 2-й – $\leq 12\%$ ($p < 0,05$), у 3-й – $\leq 17\%$ ($p < 0,05$) та в 4-й – $\leq 22\%$ ($p < 0,05$) порівняно з групою контролю (рис. 2).

Рис. 2. Мінеральна щільність кісткової тканини поперекових хребців щурів на 56-й день експерименту, мг/см³

Результати мінеральної щільності кісткової тканини поперекових хребців (L₁–L₆) дослідних щурів, яких піддавали впливу вібрації різних частот, представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Мінеральна щільність кісткової тканини поперекових хребців дослідних щурів на 28-й та 56-й день експерименту, мг/см³ (M±m, n = 6)

Поперекові хребці	Мінеральна щільність кісткової тканини (МЩКТ), мг/см ³				
	28-й день експерименту				
	Контроль	1-ша	2-га	3-тя	4-та
L ₁	311,90 ± 5,44	302,03 ± 4,53	292,82 ± 4,12	281,07 ± 4,76	266,58 ± 7,96
L ₂	319,08 ± 5,51	307,53 ± 5,14	297,45 ± 3,80	285,03 ± 5,05	260,05 ± 4,89
L ₃	315,85 ± 8,50	310,17 ± 8,57	296,42 ± 5,19	285,96 ± 7,33	261,95 ± 5,20
L ₄	320,63 ± 9,28	312,15 ± 4,92	298,07 ± 6,75	283,96 ± 3,88	270,28 ± 4,00
L ₅	324,25 ± 7,37	313,38 ± 5,18	300,10 ± 6,80	286,42 ± 5,81	279,67 ± 8,80
L ₆	334,00 ± 8,08	319,18 ± 5,01	311,40 ± 4,57	288,23 ± 5,87	273,23 ± 6,49
	56-й день експерименту				
	Контроль	1-ша	2-га	3-тя	4-та
L ₁	320,38 ± 8,47	293,34 ± 4,52	286,52 ± 8,54	267,72 ± 5,67	250,34 ± 4,89
L ₂	317,46 ± 6,80	296,49 ± 6,29	284,40 ± 6,54	268,13 ± 7,74	251,15 ± 9,45
L ₃	322,78 ± 5,03	298,12 ± 5,34	284,02 ± 7,04	271,10 ± 6,78	252,03 ± 8,84
L ₄	330,80 ± 7,81	300,76 ± 6,92	291,92 ± 8,93	277,89 ± 8,54	254,74 ± 7,83
L ₅	332,71 ± 6,98	304,47 ± 7,61	292,67 ± 7,78	276,45 ± 9,54	259,98 ± 7,51
L ₆	337,21 ± 7,65	306,08 ± 5,06	294,00 ± 4,23	278,48 ± 7,05	260,47 ± 8,04

Дослідження в сфері імунології підтверджують, що хронічний вплив вібрації на організм призводить до активації CD⁴-лімфоцитів, підвищення синтезу прозапальних (TNF, IL₁, IL₆, IL₈) та зниження синтезу протизапальних цитокінів (IL₄, IL₁₀, IL₁₃). Настає дисбаланс у системі RANKL/RANK/OPG, відбуваються диференціація та активація остеокластів з подальшим підвищенням кісткової резорбції [15, 26, 27]. Тому після припинення впливу вібраційного подразника тривалий час спостерігаються дисбаланс ремоделювання й подальша втрата кісткової маси.

Важливу роль у метаболізмі кісткової тканини відіграє колаген, що є основним білком кістки й становить 70–80 % усього її органічного складу. Під час формування кісток колагенові волокна утворюють “сітчастий каркас”, що забезпечує цілісність їх структури та збереження гнучкості. Колаген є носієм кальцію й забезпечує його абсорбцію остеокитами. За нестачі в організмі колагену кальцій вимивається з кісток; їх щільність порушується, унаслідок чого виникає остеопороз [1, 2, 27].

Під час розпаду колагену оксипролін вивільняється в кровоплин, як у вигляді вільної фракції, так і в поліпептидній формі, бо не може повторно використовуватися для синтезу нового білка. Оскільки половина його кількості міститься в кістках, де метаболізм відбувається швидше, ніж у інших тканинах, то збільшення його кількості в крові та сечі відображає процес резорбції кістки.

Вивільнений оксипролін перетворюється на вільну амінокислоту, циркулює в крові, проходить фільтрацію в нирках, майже повністю реабсорбується та окислюється в печінці. Тому вільний оксипролін є одним із основних маркерів кісткової резорбції, а підвищення його в крові свідчить на користь катаболічної фази обміну колагену [4, 8, 11, 13, 15, 27].

На 28-у добу експерименту рівень вільного оксипроліну в контрольній групі тварин становив 5,50 ± 0,20 мкг/мл. У 1-й дослідній групі

показник сягав $5,84 \pm 0,14$, що є статистично незначущою різницею ($p > 0,05$), у 2-й дослідній групі показники збільшилися на 19,3 % щодо контролю, у 3-й – на 65,3 %, а в 4-й зросли вдвічі ($6,54 \pm 0,35$ мкг/мл, $9,09 \pm 0,19$ мкг/мл і $11,04 \pm 0,39$ мкг/мл ($p < 0,05$) відповідно). Це свідчить про вплив середньо- та високочастотної вібрації на метаболізм кістки, а саме – на стимуляцію катаболічної фази обміну колагену, що провокує втрату кальцію та зниження мінеральної щільності.

На 56-й день експерименту спостерігалася така динаміка рівня оксипроліну: в контрольній групі показник залишився майже без змін ($5,41 \pm 0,11$ мкг/мл). У 1-й дослідній групі середній показник становив $5,80 \pm 0,10$ мкг/мл ($p > 0,05$), у 2-й збільшився на 17,5 % щодо контролю, у 3-й – на 38 %, а в 4-й – на 58,2 % ($6,36 \pm 0,11$ мкг/мл, $7,48 \pm 0,14$ мкг/мл та $8,56 \pm 0,16$ мкг/мл ($p < 0,05$) відповідно).

Результати визначення рівня вільного оксипроліну в крові дослідних щурів на 28-й і 56-й день після виведення з експерименту наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Рівень вільного оксипроліну в крові дослідних щурів
на 28-й та 56-й дні експерименту, мкг/мл ($M \pm m$, $N = 6$)

Дослідна група	Рівень оксипроліну, мкг/мл	
	28-й день експерименту	56-й день експерименту
Контроль	$5,50 \pm 0,20$	$5,41 \pm 0,11$
1-ша	$5,84 \pm 0,14$	$5,80 \pm 0,10$
2-га	$6,56 \pm 0,35$	$6,36 \pm 0,11$
3-тя	$9,09 \pm 0,19$	$7,48 \pm 0,14$
4-та	$11,04 \pm 0,39$	$8,56 \pm 0,16$

Виявлено залежність метаболізму кісткової тканини та її щільності від концентрації оксипроліну в крові дослідних щурів у контрольній та дослідних групах тварин. У всіх дослідних групах спостереження простежується залежність між силою вібраційного подразника та рівнем порушення метаболізму кісткової тканини.

На рис. 3 показано графічне зображення рівня вільного оксипроліну в крові дослідних щурів на 28-й і 56-й дні після виведення з експерименту.

Рис. 3. Рівень вільного оксипроліну в крові дослідних щурів
на 28-й та 56-й дні експерименту, мкг/мл

Зростання рівня вільного оксипроліну після 28-го дня експерименту свідчить про порушення динамічної рівноваги між деструкцією і компенсаторним прискоренням біосинтезу колагену, яке поступово знижується до 56-ї доби.

Таким чином, отримані нами результати дають підставу вважати, що зі збільшенням частоти вібрації та швидкості віброприскорення зростає швидкість метаболізму кісткової тканини. Це супроводжується прискоренням процесу катаболізму колагену та втратою мінеральної маси кістки, внаслідок чого виникає остеопороз навіть у віддалений період після припинення дії цього стресового чинника.

Висновки. За збільшення частоти вібрації (від 15 до 75 Гц) зростає рівень вільного оксипроліну в крові дослідних тварин. Після припинення дії вібраційних коливань на 56-й день експерименту спостерігається поступове зниження рівня оксипроліну, особливо в 2-й, 3-й та 4-й дослідних групах, а в 1-й дослідній групі результати статистично незначущі порівняно з контрольною групою. Комп'ютерна денситометрія показала зниження МЩКТ трабекулярного шару поперекових хребців, а також зворотну залежність між впливом рівня частоти вібрації та щільності кісткової тканини. Зі збільшенням рівня віброприскорення понад 0,51 g (із частотою менше 50 Гц та амплітудою 2 мм) зростає швидкість метаболізму кісткової тканини, прискорюються процеси катаболізму колагену, втрата кальцію, що призводить до виникнення остеопорозу.

Подяка за співпрацю. Дослідження проведено за підтримки Національного університету "Львівська політехніка". Автори статті висловлюють подяку завідувачу кафедри загальної хімії д.т.н., проф. Старчевському Володимирі Людвіковичу та завідувачу кафедри нарисної геометрії та інженерної графіки д.т.н., проф. Афтаназіву Івану Семеновичу, а також завідувачу відділення комп'ютерної діагностики Білику Олександру Володимировичу та лікарю-рентгенологу Бачуну Андрію Олеговичу.

Рекомендовано до друку комісією з біоетики

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гданський С.М. Особливості змін біохімічних показників крові та показників ендогенної інтоксикації у щурів після поєднаної травми грудної клітки і стегна / С.М. Гданський, Н.Є. Лісничук, І.Є. Герасимюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – № 3 (112). – С. 88–91; (*Gdanskij S. Features of Biochemical Blood Parameters and Indicators of Endogenous Intoxication in Rats after Combined Injuries of the Chest and Hips / S. Gdanskij, N. Lisnychuk, I. Herasymyuk // Clinical and experimental medicine. – 2014. – № 3 (112). – P. 88–91*). 2. Геник І.Д. Дослідження кореляційної залежності показників щільності кісткової тканини від вікових, антропометричних та біохімічних чинників у осіб чоловічої та жіночої статі зрілого віку прикарпатського регіону / І.Д. Геник // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 11–12 (*Genyk I. Research of correlation dependence of indicators of density of an osteal tissue age, anthropometric and biochemical factors at persons man's an female Prikarpaty region / I. Genyk // Ukrainian morphological Almanac. – 2010. – Vol. 8, N 3 – P. 11–12*). 3. Державні санітарні норми виробничої загальної та локальної вібрації : ДСН 3.3.6.038–99 / уклад.: В.І. Чернюк, В.І. Назаренко, М.Г. Карнаух [та ін.]. – К., 2000. – 46 с. (*The State Sanitary Norms of industrial general and local vibration: DSN 3.3.6.038–99 / original : V. Chernyuk V. Nazarenko, M. Karnaukh [et al.]. – K., 2000. – 46 p.*). 4. Капустник В.А. Роль змін біоелементного гомеостазу у хворих із вібраційною хворобою у поєднанні з гіпертонічною хворобою / В.А. Капустник, Н.К. Сухонос // Одеський медичний журнал. – 2013. – № 4. – С. 74–78; (*Kapustnik V. The role of bioelemental homeostasis changes in patients suffering from vibration disease combined with hypertension disease / Kapustnik V., Sukhonos N. // Odessa Medical Journal. – 2013. – N 4. – P. 74–78*). 5. Коробчанський В.А. Биохимические критерии донозологической и ранней диагностики вибрационной болезни под воздействием локальной вибрации / В.А. Коробчанський, И.В. Новикова, О.И. Герасименко // Медицина сьогодні і завтра. – 2011. – № 4 (53). – С. 139–144 (*Korobchanskiy V. Biochemical criteria of prenosologic and early diagnostics of vibrating illness under influence of local vibration Korobchanskiy V., Novikova I., Gerasymenko O. // J. Med. today and tomorrow. – 2011. – N 4. – P. 139–144*). 6. Метод определения содержания свободного и связан-

ного оксипролина в сыворотке крове. – 1990. – № 5. – С. 283–285; (*Method of determination free and bound hydroxyproline in the serum.* – 1990. – N 5. – P. 283–285).

7. Оцінка рівнів загальної вібрації на підприємствах, зайнятих видобутком корисних копалин відкритим способом / Т.А. Ковальчук, Г.Б. Дворніченко, А.Б. Яценко [та ін.] // Український журнал з проблем медицини праці. – 2013. – № 3 (36). – С. 3–8 (*Evaluation of level of whole body vibration at enterprises, engaged in open pit mining* / T. Kovalchuk, G. Dvornichenko, A. Yaschenko [et al.] // *Ukrainian Journal of Occupational Health Problems.* – 2013. – N 3 (36). – P. 3–8).

8. Ремодельовання кісткової тканини при недосконалому остеогенезі : з'ясовані і нез'ясовані питання та перспективи їх вирішення / Ю.М. Гук, О.М. Магомедов, А.М. Зима, Т.А. Кінча-Поліщук // Травма. – 2013. – № 6 (14). – С. 32–38 (*Remodeling of bone tissue at osteogenesis imperfecta: undecided and clarified issues and prospects of their decision* / Y. Hook, O. Magomedov, A. Zyma, T. Kincha-Polishchuk // *Trauma.* – 2013. – № 6 (14). – P. 32–38).

9. Bovenzi M. Exposure-response relationship in the hand-arm vibration syndrome: an overview of current epidemiology research / M. Bovenzi // *International Arch. Occupational Environmental Health.* – 1998. – N 71. – P. 509–519.

10. Bovenzi M. An update review of epidemiologic studies on the relationship between exposure to whole-body vibration and low back pain / M. Bovenzi, C. Hulshof // *International Arch. Occupational Environmental Health.* – 1999. – N 72. – P. 351–365.

11. Effect of whole-body vibration on bone properties in aging mice / Karl H. Wenger, James D. Freeman, Sadanand Fulzele [et al.] // *Bone.* – 2010. – Vol. 47, N 4. – P. 746–755.

12. Effect of whole-body vibration on BMD: a systematic review and meta-analysis / L. Slatkovska, S. Alibhai, J. Beyene, A. Cheung // *Osteoporosis Int.* – 2010. – Vol. 21, N 12. – P. 1968–1980.

13. Effects of whole body vibration on bone mineral density and falls: results of the randomized controlled ELVIS study with postmenopausal women / S. Von Stengel, W. Kemmler, K. Engelke, W. Kalender // *Osteoporosis Int.* – 2011. – Vol. 22, N 1. – P. 317–325.

14. Frequency-dependent effects of vibration on physiological systems: experimental with animals and other human surrogates / K. Krainak, D. Riley, J. Wu [et al.] // *Industrial health.* – 2012. – N 50. – P. 343–353.

15. Kim I.S. Human Mesenchymal Stromal Cells are Mechano-sensitive to Vibration Stimuli / I.S. Kim, Y.M. Song, B. Lee, S.J. Hwang // *Journal of dental research.* – 2012. – Vol. 91. – P. 1135–1140.

16. Measurement of Phantomless Thoracic Bone Mineral Density on Coronary Artery Calcium CT Scans Acquired with Various CT Scanner Models / Matthew J. Budoff, Jennifer M. Malpeso, Irfan Zeb [et al.] // *Radiology.* – 2013. – Vol. 267, N 3. – P. 830–836.

17. Mechanical Vibration – Measurement and evaluation of human exposure to hand transmitted vibration, Part 1: General Requirements Medicine. Mechanical Vibration and Shock / International Organization for Standardization (ISO) 5349-1. – London (British standart), 2001. – P. 1–24.

18. Mechanical Vibration and Shock-Evaluation of Human Exposure to Whole-Body Vibration-Part 1: General Requirements / International Organization for Standardization (ISO) 2631-1: 1985 (E). – Geneva, 1997. – P. 28.

19. Mechanical Vibration and Shock-Evaluation of Human Exposure to Whole-Body Vibration-Part 2: Continuous and shock induced vibration in buildings (1 to 80 Hz) / International Organization for Standardization (ISO) 2631-2: 1985 (E). – Geneva, 1997. – P. 10.

20. Paschold H.W. Whole-body vibration: Building Awareness in SH&E / H.W. Paschold, A.G. Mayton // *American Society of Safety Engineers. Occupation Hazards.* – 2011. – Vol. 54, N 4. – P. 30–35.

21. Paschold H.W. Whole-body vibrations / H.W. Paschold // *Professional Safety.* – 2008. – Vol. 53, N 6. – P. 52–57.

22. Rolke R. Hand-arm vibration syndrome: Clinical characteristics, conventional electrophysiology and quantitative sensory testing / R. Rolke // *Clinical Neurophysiology.* – 2013. – N 7. – P. 1275–1281.

23. Rubin C. Promotion of bony ingrowth by frequency-specific, low-amplitude mechanical strain / C. Rubin, K. McLeod // *Clinical Orthopedy.* – 1994. – N 298. – P. 165–174.

24. Rubin C. Low mechanical signals strengthen long bones / C. Rubin, S. Turner, S. Bain [et al.] // *Nature.* – 2001. – N 412. – P. 603–604.

25. Su A. T. Dose-response relationship between hand-transmitted vibration and hand-arm vibration syndrome in a tropical environment / A. T. Su, S. Maeda, J. Fukumoto [et al.] // *Occupational Environmental Medicine.* – 2013. – N 7. – P. 498–504.

26. The effects of whole body vibration therapy on bone mineral density and leg muscle strength in older adults : a systematic review and meta-analysis / R. Lau, L. Liao, F. Yu [et al.] // *Clinical Rehability.* – 2011. – Vol. 25, № 11. – P. 975–988.

27. The predominant role of collagen in the nucleation, growth, structure and orientation of bone apatite / Yan Wang, Thierry Azais, Marc Robin [et al.] // *Nature Materials.* – 2012. – N 11. – P. 724–733.

28. Tiemessen Ivo J.H. Effectiveness of an occupational health intervention program to reduce whole body vibration exposure: An evaluation study with a controlled pretestpost-test design // Ivo J.H. Tiemessen, Carel T.J. Hulshof, Monique H.W. Frings-Dresen // *American journal of industrial.* – 2009. – N 52. – P. 943–952.

29. Vibration exposure and biodynamic responses during whole-body vibration training / A.F. Abercromby, W.E. Amonette, C.S. Layne [et al.] // *Med. Sci. Sports Exercises.* – 2007. – N 39. – P. 1794–1800.

30. Whole body vibration exercise: what do you know about scientific interest? / S.D. Santos-Filho, P.F. Meyer, O.A. Ronzio [et al.] // *Fiep Bulletin.* – 2010. – N 80. – P. 875–878.

Evaluation of Mineral Density and Bone Metabolism in Rats under Various Vibration Parameters

N. KOSTYSHYN, M. GZHEGOTSKYI

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University

Physiological regeneration of bone is in continuous change of bony plates and formation of new osteons in place of resorption. These processes are provided by activity of osteoclasts and osteoblasts. The influence of various extreme factors on bone metabolism is a key issue, since every year the number of people working in adverse microclimatic conditions, contacting with vibration, noise and exposing to other stress factors, grows. Current studies show that most mechanized tools and machines that generate vibrations, operating at the speed of acceleration that significantly exceed the maximum permissible limits. Levels of vibration in the transport industry are much higher and often exceed 1 g (gravity constant = 9.8 m·c⁻²). The aim of our study was to determine the effect of vibration oscillations of various frequencies upon the process of bone tissue remodeling, to determine the relationship between bone mineral density, markers of bone metabolism and level of vibration stimulus.

Rats were divided into 5 groups. Four experimental groups were exposed to vertical vibrations 15, 25, 50 and 75 Hz respectively, twice a day for 20 min, 5 days a week during 28 days. Next 28 days all experimental rats were kept in standard vivarium conditions and were not exposed to vibration. Blood intake and CT-scanning of the lumbar spine was performed on 28th and 56th day of the study. On the 28th day of the study mineral density of the lumbar vertebrae (L₁-L₆) in the control group was from 311,90 ± 5,44 to 334,00 ± 8,08 mg/cm³. The greatest loss of trabecular bone was observed in III-rd and IV-th research groups, which was decreasing to 12 % ($p < 0,05$) and 14 % ($p < 0,05$) correspondingly in comparison with the control group. In the first and second groups bone mass ratio was reduced to a value ≤ 4% ($p > 0.05$) and 8% ($p < 0.05$) in accordance with the control group. After 56th day of experiment bone loss dynamic was: in the I-st group ≤ 10 % ($p < 0.05$), in the II-nd ≤ 12% ($p < 0.05$), in the III-rd ≤ 17 % ($p < 0.05$), and IV-th ≤ 22% ($p < 0.05$) compared to the control group.

Oxyproline released into the bloodstream during destruction of collagen and cannot be reused for the synthesis of new collagen protein. Half of the collagen amount is located in the bones, where its metabolism is faster than in other tissues. Increasing of oxyproline amount in the blood reflects the bone resorption. The level of free oxyproline in the control group on the 28th day of the experiment was 5,50 ± 0,20 mcg/ml. In the I-st experimental group changes were not statistically significant ($p > 0.05$), in the second group – increased by 19,3 % to the control rates, in the third – to 65,3 %, and in IV-th the level doubled ($p < 0.05$). After 56th day dynamics of free oxyproline was: in the control group the level remained practically unchanged and amounted to 5,41 ± 0,11 mcg/ml. In the I experimental group, and the average was 5,80 ± 0,10 mcg/ml ($p > 0.05$), in the II-nd increased to 17,5 %, in the III-rd to 38 % and in the IV-th to 58,2 %, which amounted 6,36 ± 0,11 mcg/ml, 7,48 ± 0,14 mcg/ml and 8,56 ± 0,16 mcg/ml ($p < 0.05$) respectively. Increase of free oxyproline indicates violations in balance between destruction and compensatory acceleration of collagen biosynthesis, which gradually decreases to the 56th day.

Chronic mechanical vibrations combined with the physical attributes amplified the incoming energy and present the potential for negative bone-health effects. Acceleration >0,51g (with frequency >50 Hz and amplitude 2 mm) increases the rate of bone metabolism, causes collagen metabolism disorders, loss of bone mineral mass, which further leads to osteoporosis.

Key words: bone, vibration, mineral density, bone remodeling.