

DOI: 10.21802/artm.2021.3.19.58
УДК 616.152.11:616.71-007.234

ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО НЕГАЗОВОГО АЦИДОЗУ НА КІСТКОВУ ТКАНИНУ У ЩУРІВ

Ю.В. Перепелиця, Л.М. Захарцева, В.А. Міхньов, Я.А. Ушко

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра патофізіології,
м. Київ, Україна,
ORCID ID: 0000-0003-1818-6264, e-mail:perepelytsia.yuliia@gmail.com,
ORCID ID: 0000-0001-6838-9970,
ORCID ID: 0000-0001-8164-7671,
ORCID ID: 0000-0003-3017-7766*

Резюме. Різні види негазового ацидозу супроводжуються змінами білкового обміну, які призводять до розвитку остеопорозу.

Мета. Вивчити структурні особливості кісткової тканини стегнової кістки при хронічному негазовому ацидозі у щурів.

Методи. Досліди проводили на 20 інтактних білих безпородних щурах-самцях масою 120-180 г, яких утримували на збалансованому раціоні в умовах віварію. Хронічний негазовий ацидоз моделювали щодобовим внутрішньошлунковим введенням за допомогою зонду протягом 60 діб 20 ммоль/кг NH_4Cl . Контрольним тваринам у тому ж об'ємі вводили водопровідну воду. Для вивчення будови, довжини та товщини стегнової кістки щура було використано гістологічне дослідження та остеометрію. Біохімічним методом визначали вільний, зв'язаний та сумарний оксипролін у сечі щурів.

Результати. При хронічному негазовому ацидозі через 6 місяців спостерігається тенденція до зниження довжини і товщини стегнової кістки, але значно не відрізняється від контрольної групи. У сечі щурів експериментальної групи збільшується сумарний оксипролін переважно за рахунок підвищення вільного оксипроліна, що свідчить про розпад колагену.

Гістологічна будова кістки порушена за рахунок стоншення кісткових балок, міжклітинний матрикс дезорганізований, місцями відмічається його «розволокнення» з утворенням осередків деструкції і циліндроподібних «просвітів». Спостерігається порушення кристалічної будови кісткової тканини, нерівномірна її кальцифікація, утворення тріщин в кісткових балках.

Висновки. Хронічний негазовий ацидоз одночасно призводить до стоншення та дезорганізації міжклітинного матриксу, порушення кристалічної будови кісткової тканини, що вказує на його важливу роль у розвитку остеопорозу.

Ключові слова: негазовий хронічний ацидоз, остеопороз, глюкокортикоїди, оксипролін, амоніогенез.

Вступ. Обґрунтування дослідження. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) визначила остеопороз (ОП) як системне захворювання кісток, що характеризується зниженням кісткової маси і погіршенням мікроархітектури кісткової тканини з подальшим збільшенням крихкості кісток і схильності до переломів. Актуальність проблеми ОП на сьогоднішній день обумовлена високою поширеністю серед населення у всіх країнах світу та соціально-економічними втратами пов'язаними з серйозними ускладненнями ОП – переломами хребців, шийки стегнової кістки й інших зон скелету [1]. Важливим аспектом проблеми є вивчення впливу хронічного негазового ацидозу на розвиток остеопорозу [2].

Ацидоз – це патологічний стан, для якого характерним є зниження рН або тенденція до зниження рН унаслідок зменшення співвідношення між метаболічним і респіраторним компонентами гідрокарбонатного буфера [2, 24].

Хронічний негазовий ацидоз призводить до порушення багатьох обмінних процесів, що зумовлює порушення функцій деяких органів, а саме: може викликати зниження функції нирок, призвести до

загострення серцево-судинних захворювань, розвитку остеопорозу [2, 3].

Аналіз змін, що відбуваються в мінеральному складі кістки при негазовому ацидозі, дозволяє припустити, що кістка активно діє як протонний буфер і, таким чином, відіграє гомеостатичну роль, зменшуючи тяжкість ацидоза [2, 5]. Відповідно до даної точки зору, зменшення вмісту натрію і калію в кістках вказує на обмін протонами, а зменшення гідрокарбоната дає можливість припустити використання даного буфера. Також спостерігається підвищення рівня кальцію в сироватці, який вивільнюється із кістки, це в свою чергу призводить до гіперкальціємії, величина якої пропорційна кислотному навантаженню на організм [2, 5, 6].

Після цього відбуваються клітинні реакції, які підтримують втрату кальцію із кісток. Дані клітинно-опосередковані реакції характеризуються як підвищеною остеокластичною, так і зниженою остеобластною активністю, які супроводжуються зміною експресії остеокластичних і остеобластних генів [4, 6]. Остеокласти можуть визначати кислотність на-

вколишнього середовища за допомогою протонних сенсорних білків таких як OGR-1 [5, 8, 16].

Остеокласти походять із гемопоетичних попередників лінії моноцитів/макрофагів. Ріст попередників остеокластів залежить від макрофагального колонієстимулюючого фактора (M-CSF, що також відомий як CSF 1), тобто це фактор росту, який продукується остеобластами [10, 14]. Остеобласти індують диференціацію остеокластів і їх резорбтивну активність за допомогою ліганд-рецепторної системи RANK/RANKL/OPG [11, 12].

Основою даної системи є рецептор-активатор ядерного транскрипційного фактора NF- κ B (RANK) – трансмембранний білок I типу з молекулярною масою 70 кДа, який складається з 620 амінокислотних залишків та знаходиться на клітинах попередників остеокластів [12, 13]. Поліпептид RANKL – трансмембранний протеїн II типу знаходиться на поверхні остеобластів у вигляді розчиненої форми [13]. Зв'язування RANKL з RANK призводить до ініціації остеогенезу із клітин-предходників і активації зрілих остеокластів [12]. OPG-рецептор-пастка блокує взаємодію RANK з RANKL і, таким чином, блокує утворення остеобластів і резорбцію кісток [12, 13].

При ацидозі підвищується концентрація простагландинів, які продукуються остеобластами і паракринно стимулюють експресію ліганда рецептора-активатора ядерного фактора NF- κ B (RANKL), проте в цей час експресія остеопротегерина залишається незмінною [2, 5, 9, 10, 15, 16]. Це є ключовим механізмом, за допомогою якого метаболічний ацидоз посилює остеокластогенез й активність остеокластів [5]. Крім стимуляції резорбції кісток, хронічний негазовий ацидоз пригнічує активність остеобластів. Знижує активність лужної фосфатази та синтезу колагену і неколагенових білків, таких як остеопонтин і остеокальцин, а також підвищення рівня інтерстиціальної колагенази [16, 17, 23]. Як відомо, хронічний негазовий ацидоз стимулює катаболізм м'язів і кісток та деградацію амінокислот з розгалуженими ланцюгами, що спричинює втрату м'язової маси та розвиток негативного азотистого балансу [18]. З літературних джерел відомо, що одним з механізмів розпаду білків при хронічному ацидозі є активація протеасомального протеолізу глюкокортикоїдами [19, 20, 21]. Глюкокортикоїди у свою чергу негативно впливають на експресію генів в остеобластах, які відповідають за біосинтез колагену I типу, остеокальцину та підвищення синтезу тканинних колагенів, зокрема експресію колагенази 3, яка сприяє деградації колагену [22].

Аналізуючи літературні джерела, можна дійти до висновку, що хронічний негазовий ацидоз сприяє деградації колагену I типу, що входить до складу органічного матрикса кістки, і, таким чином, забезпечує нирковий амоніогенез амінокислотним субстратом і призводить до втрати кісткової маси. Проте механізми втрати кісткової маси при хронічному негазовому ацидозі потребують детальнішого вивчення.

Мета дослідження. Вивчити структурні особливості кісткової тканини стегнової кістки при хронічному негазовому ацидозі.

Матеріали і методи. Досліди проводили на 20 інтактних білих безпородних щурах-самцях масою 120-180 г, яких утримували на збалансованому раціоні в умовах віварію. Хронічний негазовий ацидоз моделювали щодобовим внутрішньошлунковим введенням за допомогою зонду протягом 60 діб 20 ммоль/кг NH₄Cl. Контрольним тваринам у тому ж об'ємі вводили водопровідну воду.

Підготовку тварин до експериментів та інвазивне втручання проводили згідно з вимогами «Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» від 18.03.1986 р., Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV від 21.02.2006 р. і наказом Міністерства освіти і науки України «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» № 249 від 01.03.2012 р.

Для вивчення стану органічного матриксу кістки визначали сумарний, вільний, зв'язаний оксипролін у сечі щурів за методикою П.Н. Шарасєва [25]. Методика ґрунтується на визначенні оптичної щільності червоного хромогена, отриманого в результаті окиснення та декарбоксілювання молекули оксипроліну і конденсації продуктів окиснення з парадіметиламінобензальдегідом.

Для гістологічного дослідження та остеометрії було виділено стегнову кістку, звільнену від м'яких тканин. Довжину стегнової кістки визначали вимірюванням між верхнім полюсом голівки та найбільш дистальною точкою суглобової поверхні медіального виростка та товщину стегнової кістки в середній третині діафіза за допомогою штангенциркуля. Матеріалом для гістологічного дослідження було взято сегмент губчастої кістки статевозрілих щурів. Матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, далі обезводжували у спиртах збільшуваної концентрації, декальцинували в 5% розчині азотної кислоти та залили в целоїдин. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Аналізували пофарбовані зрізи під мікроскопом Axioskop 40 з використанням комп'ютерної програми фотографування «Carl Zeiss Imaging Systems Professional Solutions for Microscopy». Результати обробляли статистично з використанням програми «Medstat».

Результати дослідження та їх обговорення. Під час дослідження довжини та товщини стегнової кістки у експериментальної групи щурів спостерігається тенденція до зниження показників, проте статистично значущих відмінностей не виявлено.

Це дозволяє припустити, що розпад колагену органічного матриксу кістки має локальний характер і на даному етапі дослідження показники експериментальної групи значно не відрізняються від контрольної.

При хронічному негазовому ацидозі сумарний оксипролін збільшився в 2,2 рази, вільний оксипролін в 2,3 рази, зв'язаний оксипролін в 2 рази в порівнянні з контрольною групою.

Таблиця 1

Дані остеометричного дослідження при негазовому ацидозі у щурів ($M \pm m$, мм, $n=10$)		
Досліджувані групи тварин	Стегнова кістка	
	Довжина	Товщина
Контроль	30,36 \pm 0,292	3,27 \pm 0,188
Негазовий ацидоз	29,45 \pm 0,569	3,02 \pm 0,057

Таблиця 2

Показники сумарного, вільного, зв'язаного оксипроліну в сечі щурів при хронічному негазовому ацидозі ($M \pm m$, мг/добу, $n=10$)

Досліджувані групи тварин	Сумарний оксипролін	Вільний оксипролін	Зв'язаний оксипролін
Контроль	0,233 \pm 0,056	0,091 \pm 0,033	0,141 \pm 0,066
Хронічний негазовий ацидоз	0,502 \pm 0,069*	0,213 \pm 0,043*	0,290 \pm 0,061*

Примітка: * – статистично вірогідна різниця у порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

Оксипролін входить до складу колагену, який є компонентом органічного матриксу кістки. Поява оксипроліну в сечі є свідченням руйнування колагену. Вважається, що вільний оксипролін є маркером деструкції сполучної тканини, а рівень білково-зв'язаного оксипроліну – маркером репарації [26]. Підвищення сумарного оксипроліну при хронічному негазовому ацидозі відбувається переважно за рахунок підвищення вільного оксипроліну, що дозволяє припустити переважання розпаду колагену над репарацією.

Гістоморфологічні особливості стегнової кістки.

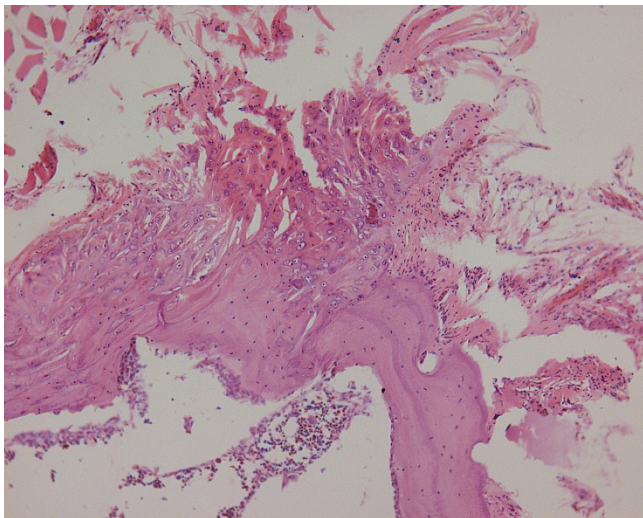


Рис. 1.А. Стегнова кістка щура при хронічному метаболічному ацидозі (зб. $\times 100$).

Примітка. Забарвлення гематоксилином та еозином. Пояснення в тексті.

Гістологічна будова (рис. 1.А.) кістки порушена за рахунок стоншення кісткових балок, дистрофічних змін, що проявляється зменшенням числа остеоцитів. Поодинокі остеоцити неправильної форми, збільшені у розмірах, цитоплазма з базофілією.

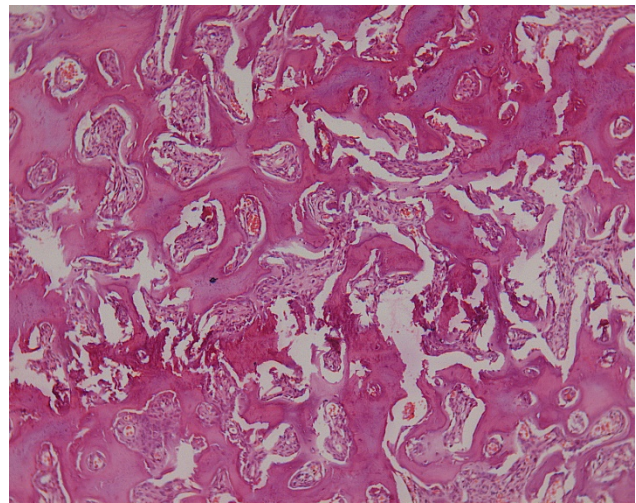


Рис. 1.В. Стегнова кістка контрольного щура. (зб. $\times 100$). Гістологічна будова кістки не змінена. Забарвлення гематоксилином та еозином.

Відмічаються остеоцити з пікнотичними ядрами, що створює ілюзію гіперхромності та проліферації. Для виключення реактивної проліферації остеобластів було виконано імуногістохімічне дослідження, яке не показало експресії Кі67 у цих ділянках кістки.

Міжклітинний матрикс дезорганізований, місцями відмічається його «розволокнення» з утворенням осередків деструкції і циліндроподібних «просвітів».

Крім руйнування міжклітинного матриксу, спостерігаються порушення кристалічної будови кісткової тканини, нерівномірна її кальцифікація, утворення тріщин у кісткових балках.

Важливо відмітити порушення будови судин, що кровопостачають кісткову тканину. Вони мають потоншену стінку з явищами мезенхімальної дистрофії.

Кістковий мозок у більшості випадків гіперклітинний, щільно прилягає до кісткових балок, де

відмічається експресія CD68 – клітин макрофагально-го походження та мегакаріоцитів.

Отримані результати демонструють зменшення товщини кісткової тканини, руйнування міжклітинного матриксу, порушення кристалічної будови, порушена кальцифікація та утворення тріщин у кісткових балках. Це дає можливість стверджувати про пригнічення мінералізації та стимуляції резорбції кісткової тканини на фоні хронічного негазового ацидозу.

Вивченні літературні джерела та проведені нами експериментальні дослідження на статевозрілих щурах свідчать про те, що хронічний негазовий ацидоз патогенно впливає на гістологічну будову кістки. Як відомо, ацидоз є стресовим фактором, що підвищує рівень глюкокортикоїдів, стимулюючи гіпофізарно-наднирникову систему [27]. При ацидозі активується АТФ-залежний убіквітин-протеасомальний протеоліз, який стимулюється глюкокортикоїдами.

Глюкокортикоїди, у свою чергу, пригнічують синтез колагену I типу та підвищують експресію колагенази 3, яка сприяє деградації колагену. Колаген, у свою чергу, є джерелом амінокислот, які є субстратом для ниркового амоніогенезу. Нирковий амоніогенез є компенсаторним механізмом при хронічному негазовому ацидозі, необхідним для відновлення нормального співвідношення між фіксованими катіонами та аніонами плазми крові.

Висновки:

1. Хронічний негазовий ацидоз одночасно призводить до стоншення та дезорганізації міжклітинного матриксу, порушення кристалічної будови кісткової тканини, що вказує на його важливу роль у розвитку остеопорозу.

2. При проведенні остеометрії виявлено, що довжина та товщина стегнової кістки у щурів з хронічним негазовим ацидозом протягом 60 діб суттєво не змінюється, але має тенденцію до зниження порівняно з контрольною групою.

3. При хронічному негазовому ацидозі в сечі збільшується концентрація оксипроліну, що є маркером деструкції колагену органічного матриксу кістки.

4. Порушення органічної основи кісток є адаптацією організму до хронічного негазового ацидозу.

References:

1. Kalashnikov AV, Kuziv YeL. Osteoporoz ta hliukokortykoid-indukovanyi osteoporoz – medykosotsialna problemaiu. Biomedical and biosocial anthropology. 2017; 28:193-97.
2. Luiza Raksa Rezende, Pablo Brandão de Souza, Giselly Rosa Modesto Pereira, Jocemir Ronaldo Ligon. Metabolic acidosis in hemodialysis patients: a review. J Bras Nefrol Jul-Sep. 2017; 39(3):305-11.
3. Adamczak M, Masajtis-Zagajewska A, Mazanowska O, Madziarska K, Stompór T, Więcek A. Diagnosis and Treatment of Metabolic Acidosis in Patients with Chronic Kidney Disease – Position Statement of the Working Group of the Polish Society of Nephrology. Kidney Blood Press Res. 2018; 43(3):959-69.
4. Weiner ID, Verlander JW. Renal Ammonia Metabolism and Transport. Compr Physiol. 2013; Jan, 3(1):201-20.
5. Gasser JA, Hulter HN, Imboden P, Krapf R. Effect of chronic metabolic acidosis on bone density and bone architecture in vivo in rats. Am J Physiol Renal Physiol. 2014; Mar, 1; 306(5):F517-24.
6. Lemann Jr, Gray RW, Maierhofer WJ, Cheung HS. The importance of renal net acid excretion as a determinant of fasting urinary calcium excretion. Kidney Int. 1986; Mar, 29(3):743-6.
7. Bushinsky DA, Frick KK. The effects of acid on bone. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2000; Jul, 9(4):369-79.
8. Frick KK, Krieger NS, Nehrke K, Bushinsky DA. Metabolic acidosis increases intracellular calcium in bone cells through activation of the proton receptor OGR1. J Bone Miner Res. 2009; Feb, 4(2):305-13.
9. Krieger NS, Frick KK, LaPlante Strutz K, Michalanka A, Bushinsky DA. Regulation of COX-2 mediates acid-induced bone calcium efflux in vitro. J Bone Miner Res. 2007; Jun, 22(6):907-17.
10. Frick KK, Bushinsky DA. Metabolic acidosis stimulates RANKL RNA expression in bone through a cyclo-oxygenase-dependent mechanism. J Bone Miner Res. 2003; Jul, 18(7):1317-25.
11. Chambers TJ. Regulation of the differentiation and function of osteoclasts. J Pathol. 2000; Sep, 192(1):4-13.
12. Gershtejn ES, Timofeev YUS, Zuev AA, Kushlins'kij NE. Ligand-receptornaya sistema RANK/RANKL/OPG i ee rol pri pervichnyh novoobrazovaniyah kostej (analiz literatury i sobstvennye rezultaty). Uspekhi molekulyarnoj onkologii. 2015; 2(3):51-59.
13. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. Nature. 2003; May, 15; 423(6937):337-42.
14. Yuan FL, Xu NH, Li X, Xinlong H, Fang W, Dong J. The Roles of Acidosis in Osteoclast Biology. Front Physiol. 2016; Jun, 24(7):222.
15. Krieger NS, Parker WR, Alexander KM and Bushinsky DA. Prostaglandins regulate acid-induced cell-mediated bone resorption. Am J Physiol Renal Physiol. 2000; Dec, 279(6):F1077-82.
16. Jorgetti V, Druce TB, Ott SM. Role of proton receptor OGR1 in bone response to metabolic acidosis. Kidney Int. 2016; Mar, 89(3):529-31.
17. Delany AM, Dong Y, Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone cells. J Cell Biochem. 1994; Nov, 56(3):295-302.
18. Kryshchal MV. Vplyv khronichnoho atsydozu na bilkovyi obmin. Fiziol. zhurn. 2003; 49(5):58-62.
19. May RC, Kelly RA, Mitch WE. Metabolic acidosis stimulates protein degradation in rat muscle by a glucocorticoid-dependent mechanism. J. Clin. Invest. 1986; 77:614-21.
20. Sukhanov S, Semprun-Prieto L, Tadashi Yoshida, Tabony AM, Yusuke Higashi, Galvez S, Delafontaine P. Angiotensin II, Oxidative Stress and Skeletal Muscle Wasting. Am. J. Med. Sci. 2011; 342(2):143-47.

21. Workeneh BT, Mitch WE. Review of muscle wasting associated with chronic kidney disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 2010; 91(4):1128S-1132S.
22. Diedukh NV, Batura IO. Strukturno-metabolichni osoblyvosti kistkovoї tkanyny ta reparatyvnoho osteohenezu v umovakh eksperymentalnoho hliukokortykoid-indukovanoho osteoporozu (ohliad literatury). *Ortopediya, travmatolohiya y protezyrovanye.* 2010; 3:133-38.
23. Krieger NS, Frick KK, Bushinsky DA. Mechanism of acid-induced bone resorption. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2004; Jul, 13(4):423-36.
24. Kryshthal MV, Hozhenko AI, Sirman VM. Patofiziologhiia nyrok: navchalnyi posibnyk. Odesa: Feniks, 2020. P.144.
25. SHaraev PN, Botnikova EA, Ivanova VM i dr. Opredelenie svobodnogo i svyazannogo oksiprolina v moche. *Lab. Delo.* 1990;(12):23-25.
26. Shevchenko OS, Ovcharenko IA, Todoriko LD. Patomorfologichni mekhanizmy ruinatsii spoluchnoi tkanyny lehen pry tuberkulozi. *Infusion & Chemotherapy.* 2019; 2:14-20.
27. Krishtal NV, Gozhenko AI. Rol gipofizarnadpochechnikovoї systemy v regulyacii kislotovydelitel'noj funkcii pochek. *Fiziol. zhurn.* 1989; 35(1):59-62.

УДК 616.152.11:616.71-007.234

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО НЕГАЗОВОГО АЦИДОЗА НА КОСТНУЮ ТКАНЬ

Ю.В. Перепелица, Л.В. Захарцева, В.А. Михнев, Я.А. Ушко

*Національний медичинський університет
ім. А.А. Богомольця, кафедра патофізіології,
г. Київ, Україна,
ORCID ID: 0000-0003-1818-6264,
e-mail:perepelytsia.yuliia@gmail.com,
ORCID ID: 0000-0001-6838-9970,
ORCID ID: 0000-0001-8164-7671,
ORCID ID: 0000-0003-3017-7766*

Резюме. Различные виды негашового ацидоза сопровождаются изменениями белкового обмена, которые приводят к развитию остеопороза.

Цель. Изучить структурные особенности костной ткани бедренной кости при хроническом негашовом ацидозе.

Методы. Опыты проводили на 20 интактных белых беспородных крысах-самцах массой 120-180 г, которых содержали на сбалансированном рационе в условиях вивария. Хронический негашовый ацидоз моделировали ежесуточным внутрижелудочным введением с помощью зонда в течение 60 суток 20 ммоль / кг NH₄Cl. Контрольным животным в том же объеме вводили водопроводную воду. Для изучения строения, длины и толщины бедренной кости крысы были использованы гистологическое исследование и остеометрия. Биохимическим методом определяли

свободный, связанный и суммарный оксипролин в моче крыс.

Результаты. При хроническом негашовом ацидозе через 6 месяцев наблюдается тенденция к снижению длины и толщины бедренной кости, но значительно не отличается от контрольной группы. В моче крыс экспериментальной группы увеличивается суммарный оксипролин преимущественно за счет повышения свободного оксипролина. Гистологическое строение кости нарушено за счет утончения костных балок, межклеточный матрикс дезорганизованный, местами отмечается его «розволокнение» с образованием очагов деструкции и цилиндроподобных «просветов». Наблюдается нарушение кристаллического строения костной ткани, неравномерная ее кальцификация, образование трещин в костных балках.

Выводы. Хронический негашовый ацидоз одновременно приводит к истончению и дезорганизации межклеточного матрикса, нарушению кристаллического строения костной ткани, что указывает на его важную роль в развитии остеопороза.

Ключевые слова: негашовый хронический ацидоз, остеопороз, глюкокортикоиды, оксипролин, амониогенез.

UDC 616.152.11:616.71-007.234

INFLUENCE OF CHRONIC NON-GASEOUS ACIDOSIS ON BONE TISSUE

Yu. V. Perepelytsia, L. M. Zakhartseva, V. A. Mikhnev, Ya. A. Ushko

*Bogomolets National Medical University, department of
pathophysiology, Poremogy avenue, Kyiv, Ukraine,
ORCID ID: 0000-0003-1818-6264,
e-mail:perepelytsia.yuliia@gmail.com,
ORCID ID: 0000-0001-6838-9970,
ORCID ID: 0000-0001-8164-7671,
ORCID ID: 0000-0003-3017-7766*

Abstract. The urgency of the problem is due to the high prevalence among the population in all countries of the world and socio-economic losses associated with serious complications of osteoporosis. Chronic non-gaseous acidosis leads to disruption of many metabolic processes, which causes dysfunction of some organs, namely, can lead to decreased kidney function, exacerbate cardiovascular disease, the development of osteoporosis. Different types of non-gaseous acidosis are accompanied by changes in protein metabolism, which lead to the development of osteoporosis.

Aim: to study the structural features of the bone tissue of the femur in chronic non-gaseous acidosis.

Methods. The experiments were carried out on 60 intact white outbred male rats weighing 120-180 g, which were kept on a balanced diet of vivarium. Chronic non-gaseous acidosis was simulated by daily intragastric administration with a probe for 60 days 20 mmol/kg NH₄Cl. The control animals were injected with the same amount of tap water. Histological examination and oste-

ometry were used to study the structure, length and thickness of the rat femur. Free, bound, and total oxyproline in rat urine was determined by biochemical method.

Results. In chronic non-gaseous acidosis after 6 months there is a tendency to reduce the length and thickness of the femur, but does not differ significantly from the control group. In the urine of rats of the experimental group, the total oxyproline increases mainly due to an increase in free oxyproline, which indicates the predominance of collagen degradation over repair. The histological structure of the bone is disturbed due to the thinning of the bone beams, the intercellular matrix is disorganized, in some places there is its "defibering" with the formation of foci of destruction and cylindrical "lumens". There is a violation of the crystalline structure of bone tissue, its uneven calcification, the formation of cracks in the bone beams.

Studied literature sources and our research indicate that chronic non-gaseous acidosis has a pathogenic effect on the histological structure of bone. Acidosis is a stress factor that increases the level of glucocorticoids. Glucocorticoids inhibit type I collagen syn-

thesis and increase the expression of collagenase 3, which promotes collagen degradation. Collagen is a source of amino acids that are the substrate for renal ammoniogenesis. Renal ammoniogenesis is a compensatory mechanism in chronic non-gaseous acidosis, which required for restores the normal ratio between fixed cations and anions blood plasma. Thus, the violation of the organic basis of bones is the body's adaptation to chronic non-gaseous acidosis.

Conclusions. Chronic non-gaseous acidosis simultaneously leads to thinning and disorganization of the intercellular matrix, disruption of the crystal structure of bone tissue, which indicates its important role in the development of osteoporosis. In chronic non-gaseous acidosis, the concentration of oxyproline in the urine increases, which is a marker of the destruction of collagen in the organic matrix of bone.

Keywords: non-gaseous chronic acidosis, osteoporosis, glucocorticoids, oxyproline, ammoniogenesis.

Стаття надійшла в редакцію 17.06.2021 р.