

УДК [591.84+576.31]:591.471.37

ИЗМЕНЕНИЯ ГИСТОСТРУКТУРЫ ПРОКСИМАЛЬНЫХ И ДИСТАЛЬНЫХ МЕТАФИЗОВ БЕДРЕННЫХ КОСТЕЙ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

О. В. Полковенко

HISTOSTRUCTURAL CHANGES IN PROXYMAL AND DISTAL METAPHYSES FROM WHITE RATS' FEMORAL BONES UNDER MODELED HYPOKINESIA.

O. Polkovenko

С использованием гистологических и морфометрических методов нами установлено, что в проксимальных и дистальных метафизах бедренных костей белых крыс при моделированной гипокинезии наблюдаются деструктивные изменения, а именно "разрежение" костных трабекул. Подсчеты показали достоверное уменьшение удельного объема костных трабекул по сравнению с контролем .

Ключевые слова: белые крысы, гистология, костная ткань, трабекулы, бедренная кость, метафиз, гипокинезия, морфометрия, деминерализация, удельный объем.

With the use of histological and morphometrical methods we established, that under experimental hypokinesia conditions the proximal and distal metaphyses from white rats' femoral bones show the distructural changes of bone trabecules compared with control.

Keywords: white rats, histology, bone tissue, trabeculas, thigh-bone, metaphysis, hypokinesia, morphometry, demineralization, specific volume.

ЗМІНИ ГІСТОСТРУКТУРИ ПРОКСИМАЛЬНИХ І ДИСТАЛЬНИХ МЕТАФІЗІВ СТЕГНОВИХ КІСТОК ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГІПОКІНЕЗІЇ

О. В. Полковенко

З використанням гістологічних і морфометричних методів нами встановлено, що в проксимальних і дистальних метафізах стегнових кісток білих щурів при модельованій гіпокінезії спостерігаються деструктивні зміни, а саме "розрідження" кісткових трабекул. Підрахунки показали достовірне зменшення питомого об'єму кісткових трабекул у порівнянні з контролем.

Ключові слова: білі щури, гістологія, кісткова тканина, трабекули, стегнова кістка, метафіз, гіпокінезія, морфометрія, демінералізація, питомий об'єм.

Введение.

Согласно современных данных костная ткань является динамической системой со своими специфическими внутренними механизмами регуляции и контроля. Она очень чувствительна ко влиянию внешних факторов. Кости формируют скелет организма, защищают и поддерживают жизненно-важные органы. Кроме этого, костная ткань играет важнейшую роль и в минеральном обмене вследствие того, что является депо кальция (именно в костях содержится до 99% всего кальция организма).

Одними из важнейших показателей метаболической активности костной ткани являются процессы перестройки и обновления костных структур, которые продолжаются на протяжении всей жизни. Рост, развитие, физиологическая и репаративная регенерация, а также инволюция костей происходят благодаря ремоделированию – перестройке костной ткани, которая происходит постоянно. Именно эти процессы обеспечивают структурную адаптацию костной ткани к условиям внешней среды, в частности, к изменению

попрной загрузки на костный скелет, а также являются механизмом поддержания минерального гомеостаза организма.

Литературный обзор.

Одним из самых серьезных негативных экосоциальных факторов – спутников современного цивилизованного общества, которое характеризуется снижением доли физической работы в жизни человека, является гипокинезия, обусловленная малоподвижным образом жизни. Она определяется как дефицит двигательной активности. Это сопровождается уменьшением механической загрузки на опорно-двигательный аппарат. Для некоторых категорий людей гипокинезия может быть профессиональной, для других – просто образом жизни. Одним из самых страшных последствий гипокинезии может быть остеопороз. Остеопороз – одно из заболеваний, обусловленное малоподвижным образом жизни (что и является по сути своей гипокинезией). За распространенностью и смертностью от его последствий (переломы костей у людейпожилого возраста, в особенности у женщин) именно остеопороз занимает ведущее место по всему миру (ВООЗ).

Наиболее типичными изменениями в костной ткани при гипокинезия являются следующие: снижение костной массы, деминерализация и уменьшение механической плотности костей, что может привести к развитию остеопении и остеопороза. Кроме того, это увеличивает риск переломов костей, несущих опорную нагрузку .

Целый ряд авторов [1, 2, 5, 6, 7] отмечает, что при длительном постельном режиме или иммобилизации происходит нарушение баланса между процессами формирования и резорбции костной ткани в сторону увеличения процессов резорбции (т.у. разрушения), что и приводит к снижению костного минерального вещества в опорных костях. Вместе с тем, множество вопросов остаются открытыми, в частности, какие именно участки кости подвергаются наибольшему разрушению при снижении опорной нагрузки, что и обуславливает актуальность данной работы.

В связи с вышесказанным, **целью** нашего исследования было изучить гистоструктурные изменения в проксимальных и дистальных метафизах бедренных костей крыс при моделированной гипокинезии. Исследование проводилось в отделе цитологии и гистогенеза Института зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины.

Исследование изменений в гистоструктуре проксимальных и дистальных метафизов бедренных костей крыс в условиях экспериментальной гипокинезии.

Материал и методы

Объектом исследования были 6-месячные самцы белых крыс линии Wistar, содержащиеся в виварии отдела цитологии и гистогенеза Института зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины (база "Феофания"), где был поставлен 28-дневный эксперимент по моделированию гипокинезии. Все животные были приблизительно одного веса (220-240 г) и находились в аналогичных условиях содержания. Всего в опыт было введено 17 животных (8 контрольных и 9 экспериментальных). После окончания эксперимента был отобран материал исследования - бедренные кости для гистологических исследований.

Перед забоем животных подвергали эфирному наркозу. Биоматериал выделяли и фиксировали в 10% нейтральном формалине на протяжении 24 часов, декальцинировали 2,5 - 3 месяца в 10% растворе трилона Б, изготавливали парафиновые блоки и гистологические препараты согласно общепринятым методикам. Гистопрепараты окрашивали гематоксилином Майера - тионин – эозином и гематоксилином Майера - азур2 – эозином [3,5].

На гистопрепаратах бедренных костей крыс в проксимальных и дистальных метафизах костной ткани измеряли и вимірювали удельный объем трабекул.

Для осуществления морфометрического исследования на гистопрепаратах бедренных костей от каждой особи подсчеты проводились на

50 срезах. На каждом срезе в каждой зоне костной ткани (проксимальные и дистальные метафизы) выбирались 3 поля зрения вдоль продольной оси кости: ближе к проксимальному концу, приблизительно середина зоны, а также ближе к дистальному концу кости. Подсчитывали методом точеного подсчета по Автандилову [1] на эквивалентных плоскостях среза – 289 пересечений (3 измерения окулярной сетки (об.х25, ок.х12,5) следующие показатели: удельный объем костных трабекул в проксимальных и дистальных метафазах бедренных костей.

Для осуществления морфометрических подсчетов использовали морфометрическую сетку, а также компьютерную систему анализа изображений для световых микроскопов с цифровой камерой Canon PowerShot и программу "Biowizard".

Статистический анализ полученных результатов проведен с использованием программы "Statistica 6".

В нашем исследовании для изучения влияния опорной разгрузки на костные структуры использована методика "вивешивания" за хвост, которая была разработана Morey-Holton E. та Wronski в 1981р. [8] и модифицирована А.Я Капланским та Г.І Дурновой (ГНЦ Институт медико-біологічних проблем, РАН, Москва, Россия). Однако, в отличие от работ указанных авторов, нами для исследования были взяты половозрелые самцы белых крыс.

Результаты исследований

В нашей работе значительное внимание уделено изучению изменений гистоструктуры бедренной кости крыс при снижении опорной загрузки в сравнении с контролем именно в зонах проксимальных и дистальных метафизов. В костях контрольных животных периост имеет типичную структуру. Он состоит из двух слоёв: внешнего (волоконистого) и внутреннего (остеогенного). Периостальная костная ткань равномерно окрашена.

У контрольных животных в зоне костных трабекул в метафизах, большинство костных трабекул ориентированно параллельно продольной оси кости.

Губчатая кость метафизов является метаболически активной и первой реагирует на изменения опорной и силовой нагрузки [6,7,8,9]. У контрольных животных в зонах костных трабекул в метафизах костная ткань имеет типичную структуру, равномерно окрашена.

Вместе с тем у экспериментальных животных в костной ткани метафизов появляются хорошо заметные отличия от контроля. Так, в бедренных костях опытной группы животных как в проксимальном, так и в дистальном метафизах наблюдаются изменения гистоструктуры костной ткани сравнительно с контролем. Костные трабекулы укорочены их количество уменьшается, а расстояние между ними на оборот, увеличивается. По сравнению с контролем вырастает количество костных трабекул, которые заканчиваются «слепо», не соединяясь с остальными. В целом наблюдается «разреженность» костных трабекул.

Кроме того, наблюдаются изменения в самой структуре костных трабекул. Так, как в проксимальных, так и в дистальных метафизах структура костных трабекул становится более крупно-ячеистой, нарушается их типичная архитектоника. В частности, трабекулы пронизаны большими и мелкими узкими щелями, разрывами неправильной формы, а также более широкими удлиненными полостями. Подобные нарушения гистоструктуры могут быть ориентированы как параллельно продольной оси кости (щели и полости), так и в других направлениях (разрывы). В некоторых случаях полостей так много, что на поперечных срезах костные трабекулы напоминают «сито».

Кроме всего вышесказанного, при действии экспериментальной функциональной разгрузки в метафизах бедренных костей наблюдается такое явление, как замещение костной ткани хрящевой, то есть место разрушенной костной ткани внутри. Костных трабекул занимают хрящевые элементы.

Однако, в отличие от контроля, где тоже наблюдаются элементы хрящевой ткани в зоне замещения хрящевой ткани костной, в опыте хрящевые элементы находятся внутри уже сформированных костных трабекул.

Объективно, изменения гистоструктуры костных трабекул при влиянии опорной разгрузки подтверждаются морфометрическими исследованиями. Так, удельный объем костных трабекул у экспериментальных животных и в проксимальном, и в дистальном метафизах достоверно уменьшается в сравнении с контролем. Если в проксимальном метафизе удельный объем костных трабекул в контроле составляет $0,540 \pm 0,026$, то в опыте он уменьшается до $0,41 \pm 0,017$ ($p < 0,05$). В дистальном метафизе удельный объем костных трабекул составляет $0,540 \pm 0,024$ в контроле та $0,44 \pm 0,02$ в опыте ($p < 0,05$).

Кроме того, удельный объем костных трабекул в проксимальном метафизе в опыте снижен в большей степени, нежели в дистальном (рис.1): если в дистальном метафизе в опыте удельный объем костных трабекул уменьшается на 18,3% в сравнении с контролем, то в проксимальном метафизе удельный объем костных трабекул в сравнении с контролем уменьшается на 24,07 % (рис. 1).

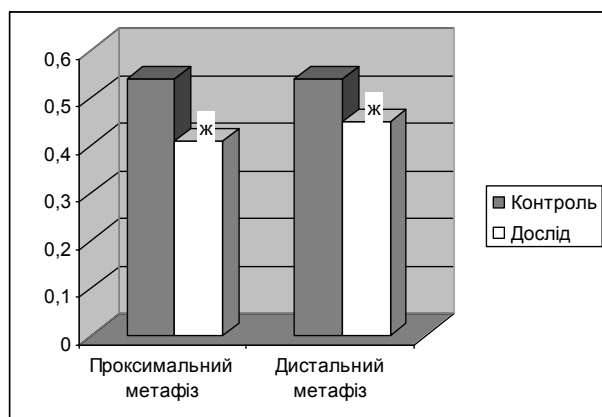


Рис.1. Изменения удельного объема костной ткани в проксимальном и дистальном метафизах бедренных костей белых крыс при моделированной гипокинезии в сравнении с контролем: * – разница достоверна в сравнении с контролем, $p < 0,05$

Наши исследования подтверждаются и более ранними данными [7,9 и др.], но в предыдущих исследованиях не конкретизировано, в каких именно участках трубчатых костей изменения являются наиболее выраженными. Авторы отмечают, что для более глубокого понимания изменений в костной ткани при гипокинезии необходимы дальнейшие исследования.

Выводы

Таким образом, на основании морфометрических исследований установлено, что экспериментальная опорная разгрузка существенно влияет на метафизы бедренных костей, как на метаболически- более активные участки кости, а в проксимальном метафизе эти изменения выражены сильнее всего. Уменьшение удельного объема костной ткани происходит за счет уменьшения количества, толщины и длины костных трабекул, увеличения расстояний между ними, а также из-за появлений щелей и полостей в самих костных трабекулах.

Литература –

1. Avtandilov G.G. Medicinskaya morfometriya /G.G. Avtandilov // Moscow, "Medicine" - 1994. - 383 p.
2. Durnova G.N. Histomorfometrisheskij analiz kostej krysa posle poleta na SLS-2-1 / G. N. Durnova, E. I. Ilyina-Kakueva, E. Morey-Holton et al. // Kosmocheskaya biologiya i aviakosmicheskaya medicina. – 1994. – Т. 28, № 1. – P. 18–20.
3. Durnova G.N. Histomorfometriya podvzdosnyh kostej obesjan posle antiortostaticheskoj hypokinesii i "sykhoz" immersii [Text] / G. N. Durnova, A. S. Kaplanskij, V.I. Korolkov, V.P. Krotov // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya medicina. – 2004. – Т. 38, № 5. – P. 33–37.

4. Oganov V.S., Rahmanov A.S. and oth. Resultaty densitimetrii kostnoj tkani v dlitelnom kosmicheskom polete u chlenov ekipagha stancii "MIR" /V.S. Oganov, A.S. Rahmanov et al. // Tezisy 10-j meghdynarodnoj konferencii «Kosmicheskaya bioiogiya I aviakosmicheskaya medicina». – Moscow. - 1994. - P.346.
5. Polkovenko O.V. Zastosyvannja kombinivanogo zafarbovyvanna gematoxilinom Maiera - azur2 –eosinom dla doslidghennja kistkovoii tkanini ta ii klitinnykh populacij, zokrema, osteoclastiv / O.V. Polkovenko // VI Mighnarodna konferencija studentiv ta molodykh vchenykh «Persnij krok u nauku - 2010». Zbirnik naukovykh prac. - Vinnicya. - 2010. - P. 125-127.
6. Stupakov G.P., Vologhin A.I. Kostnaya sistema I nevesomost / G.P. Stupakov, A.I. Vologhin // Moscow: Nauka. - 1989. - V.63. - 185 p.
7. Huiskes R. , Ruimerman R. , van Lenthe G., Janssen J. Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone/ R. Huiskes, R. Ruimerman , G. van Lenthe , J. Janssen // Nature. – 2000. – V. 405. - № 6787. – P. 704-706.
8. Morey-Holton E, Wronski J. Animal models for simulating weightlessness / E. Morey-Holton, J. Wronski // Physiologist. - 1981. – Vol. 24(Suppl). – P. 45-48.
9. Whitfield M., Willick K. Bone growthstimulators. New tools for treating bone loss and mending fractures / M. Whitfield, K. Willick // Vitamins and hormones. – 2002. – Vol. 65. – P.1-80.
10. Lane N., Wei Yao M., Nakamura M., et al. Mice Lacking the Integrin 5 Subunit Have Accelerated Osteoclast Maturation and Increased Activity in the Estrogen-Deficient State / Lane N., Wei Yao M., Nakamura M., et al. / N. Lane, Yao M., Wei, M. Nakamura, et al. // J. Bone Miner. Res. - 2005. – Vol. 20. - P. 58-69.

Кандидат биологических наук, доцент

E-mail: tpluso@ukr.net

Контактный тел.: 0660601003

Кафедра анатомии и физиологии человека

Институт человека Киевского университета имени Бориса Гринченко

Україна, 04053, м.Київ,
вул. Воровського, 18/2
Київський університет імені Бориса Грінченка
т./ф.: (+38044) 272-19-02
e-mail: kubg@kubg.edu.ua

Polkovenko Olga Vladimirovna –

PhD, associate professor

Department of human anatomy and physiology

Kiev University named of Boris Grinchenko

E-mail: tpluso@ukr.net

Phone: 0660601003

Полковенко О.В.

Проспект Героев Сталинграда, 27-А, кв. 675.

Київ

04210

Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Шейко Віталій Ілліч

Дата надходження рукопису 25.09.2014