

УДК: 611.71/.72:531.113:611.068
© Кутя С.А., 2011

ГИСТОМОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗОК НА ПРОЦЕССЫ ПЕРЕСТРОЙКИ В КОМПАКТНОМ ВЕЩЕСТВЕ КОСТЕЙ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Кутя С.А.

ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского»

Предыдущими исследованиями, проводившимися в рамках НИР кафедры нормальной анатомии ГУ «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского» «Возрастные морфофункциональные особенности отдельных органов и систем организма под влиянием гравитационных перегрузок и различных методов их коррекции» были установлены особенности строения позвонков различных отделов позвоночного столба, процессов перестройки губчатого вещества метадиафизарной зоны большеберцовых костей крыс при действии гравитационных перегрузок [1, 2]. Логичным продолжением этой работы стало изучение эффектов их влияния на компактное вещество костей. Тем более, что исследования, посвященные выяснению особенностей его строения в условиях гипергравитации, носят отрывочный характер и касаются только его кровеносного русла [3, 4]. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось установление особенностей перестройки в компактном веществе диафизов большеберцовых костей крыс разного возраста, подвергавшихся воздействию повторяющихся гравитационных перегрузок поперечного направления.

Материал и методы исследования. Эксперимент был проведен на 108 белых крысах самцах линии Вистар в возрасте 2, 6 и 12 месяцев с исходной массой 120-130 г, 200-220 г и 260-280 г соответственно, которые были разделены на две серии – контрольную и экспериментальную. Животных второй серии ежедневно подвергали воздействию поперечных гравитационных перегрузок величиной 9g в течение 10 минут в виде следующих друг за другом трех «площадок» продолжительностью по 3 минуты (с двумя 30-ти секундными перерывами между ними). Гипергравитацию моделировали путем вращения животных в периферических контейнерах на центрифуге Ц-2/500. Контролем служили животные первой серии, которых на период сеанса гипергравитации помещали в аналогичные контейнеры и размещали на платформе центрифуги. Животные содержались в виварии в соответствии с правилами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях.

По истечении сроков эксперимента (10, 30, 60 дней) на следующий день после последнего сеанса гипергравитации животных декапители-

ровали под эфирным наркозом, забирали и очищали от мягких тканей большеберцовые кости. После фиксации в 10% растворе нейтрального формалина, проводили декальцинацию «Трилоном-Б», обезжизнение в спиртах и заливали в парафиновые блоки. Готовили гистологические срезы в горизонтальной плоскости толщиной 6-8 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Микроморфометрическое исследование проводили на компьютерном морфометрическом комплексе, в состав которого входят: микроскоп Olympus CX-31, цифровой фотоаппарат Olympus C5050Z с пятимегапиксельной матрицей, соединенный с микроскопом системой видеоадаптеров этой же фирмы. Гистоморфометрию проводили при помощи лицензионной компьютерной программы Image J. Программа морфометрии включала вычисление следующих показателей: Tt.Ar (total tissue area) – площадь среза; Ma.Ar (marrow area) – площадь костномозговой полости; Ct.Ar (cortical area) – площадь кортикальной пластинки; Ct.Wi (cortical width) – ширина кортикальной пластинки; Ps.Pm (periosteal perimeter) – периостальный периметр; Es.Pm (endosteal perimeter) – эндо-стальный периметр; Es-%Er.Pm (endosteal percentage eroded perimeter) – часть (%) эндо-стального периметра покрытого лакунами резорбции. Определявшиеся показатели рекомендованы комитетом по гистоморфометрической номенклатуре Американского общества по исследованию костей и минералов (American Society of Bone and Mineral Research Histomorphometry Nomenclature Committee) [5].

Цифровые данные обрабатывали статистически. Достоверной считали вероятность ошибки менее 5% ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение. После 10 сеансов моделирования гравитационных перегрузок у подопытных животных двухмесячного возраста обнаружили увеличение в сравнении с данными контрольной серии показателей Tt.Ar, Ct.Ar и Ps.Pm на 5,96% ($p < 0,05$), 7,95% ($p < 0,05$) и 4,63% ($p < 0,05$) соответственно (табл. 1). Эти результаты указывают на активацию периостального костеобразования, что привело к закономерному увеличению массы костного вещества и толщины самого диафиза. С увеличением кратности действия перегрузок до 30 сеансов активацию остеогенеза наблюдали уже со стороны эндоста. В пользу этого заключения сви-

детельствует обнаруженное снижение параметров Es.Pm на 8,61% ($p<0,05$) и Ma.Ar - на 10,37% ($p<0,05$) (табл. 1). При наибольшей кратности воздействия перегрузок (60 сеансов) нами отмечены иные явления. Выявлены признаки, характерные для угнетения костеобразования и активации резорбтивных процессов в кости, причем, как со стороны надкостницы, так и эндоста. А именно, увеличение эндостального периметра на 5,61% ($p<0,05$) и поверхности кости (со стороны эндоста), покрытой лакунами резорбции (показатель Es-

%Er.Pm превышал контрольные значения на 9,26% ($p<0,05$), а так же уменьшением периостального периметра на 6,09% в сравнении с данными контроля. Эти изменения закономерно привели к истончению стенки диафиза, его поперечных размеров и доли компактного вещества в его структуре, о чем говорит уменьшение в сравнении с данными контрольной серии показателей соответственно Ct.Wi на 13,10% ($p<0,05$), Ct.Ar на 21,59% ($p<0,05$) и Tt.Ar на 11,65% ($p<0,05$) (табл. 1).

Таблица 1. Данные гистоморфометрии крыс двухмесячного возраста

Кратность действия перегрузок	Серия	Tt.Ar, мм ²	Ma.Ar, мм ²	Ct.Ar, мм ²	Ct.Wi, мкм	Ps.Pm, мкм	Es.Pm, мкм	Es-%Er.Pm, %
10	контроль	1,51±0,04	0,66±0,03	0,86±0,02	237,65±6,05	4521,83±88,80	3034,67±78,71	2,20±0,06
	перегрузка	1,60±0,01*	0,67±0,02	0,93±0,02*	248,64±3,44	4731,33±28,46*	3055,33±95,16	2,16±0,11
30	контроль	1,82±0,02	0,82±0,03	1,00±0,03	271,22±3,97	5401,17±222,80	3426,17±53,91	2,18±0,08
	перегрузка	1,85±0,07	0,74±0,02*	1,12±0,06	277,37±4,82	5328,33±96,10	3131,17±74,49*	2,03±0,09
60	контроль	1,86±0,05	0,71±0,03	1,15±0,03	289,67±5,01	5291,50±107,95	3112,67±57,68	2,26±0,04
	перегрузка	1,64±0,04*	0,74±0,02	0,90±0,03*	251,72±5,71*	4969,00±82,58*	3287,33±38,51*	2,47±0,05*

Примечание: * (здесь и далее) – ($p<0,05$)

Таблица 2. Данные гистоморфометрии крыс шестимесячного возраста

Кратность действия перегрузок	Серия	Tt.Ar, мм ²	Ma.Ar, мм ²	Ct.Ar, мм ²	Ct.Wi, мкм	Ps.Pm, мкм	Es.Pm, мкм	Es-%Er.Pm, %
10	контроль	1,88±0,06	0,73±0,02	1,15±0,06	304,97±4,56	5393,83±137,75	3218,17±91,90	2,33±0,05
	перегрузка	1,95±0,08	0,76±0,03	1,19±0,05	292,09±5,71	5672,00±189,51	3422,83±79,31	2,27±0,06
30	контроль	2,23±0,05	0,84±0,02	1,39±0,03	313,05±6,68	5973,50±96,35	3792,17±126,52	2,38±0,08
	перегрузка	2,35±0,01*	0,79±0,02	1,55±0,01*	332,34±4,83*	6335,83±167,85	3650,67±132,14	2,47±0,04
60	контроль	2,65±0,06	0,97±0,03	1,69±0,06	310,17±4,47	6138,33±109,46	3845,50±106,32	2,42±0,08
	перегрузка	3,11±0,08*	1,04±0,03	2,07±0,06*	337,29±6,18*	6935,17±50,71*	3777,33±135,33	2,49±0,08

Таблица 3. Данные гистоморфометрии крыс двенадцатимесячного возраста

Кратность действия перегрузок	Серия	Tt.Ar, мм ²	Ma.Ar, мм ²	Ct.Ar, мм ²	Ct.Wi, мкм	Ps.Pm, мкм	Es.Pm, мкм	Es-%Er.Pm, %
10	контроль	2,95±0,04	1,13±0,05	1,81±0,05	315,98±6,44	8122,33±149,62	4730,83±127,23	2,74±0,02
	перегрузка	3,03±0,06	1,11±0,05	1,92±0,02	311,58±3,80	8146,50±281,36	4395,17±106,29	2,87±0,07
30	контроль	2,78±0,09	1,06±0,03	1,72±0,07	321,49±4,88	7653,33±157,34	4849,33±133,29	2,67±0,03
	перегрузка	2,99±0,03*	1,00±0,02	2,00±0,04*	345,35±15,15	8048,50±61,54*	4449,17±89,42*	2,54±0,04*
60	контроль	2,82±0,05	1,16±0,03	1,66±0,05	322,46±3,57	6629,50±80,81	4520,33±100,10	2,87±0,06
	перегрузка	3,08±0,09*	1,09±0,01*	1,99±0,09*	360,45±6,55*	7169,17±275,90	4116,83±143,93*	2,97±0,08

Как видно из таблицы 2, у шестимесячных крыс после 10 сеансов моделирования перегрузок изучавшиеся показатели слабо отличались от контрольных значений и были статистически недостоверными, что говорит о незначительности влияния гипергравитации на процессы перестройки в компактном веществе большеберцовых костей животных этой возрастной группы. После 30 сеансов перегрузок нами обнаружено увеличение (в сравнении с данными контрольной серии) показателей Tt.Ar, Ct.Ar и Ct.Wi на 5,16% ($p<0,05$), 11,75% ($p<0,05$) и 6,16% ($p<0,05$) соответственно, что говорит об увеличении поперечных размеров диафиза, утолщении кортикальной пластинки и увеличении ее доли в структуре диафиза, вызванные активацией остеопластических процессов. С увеличением кратности действия гравитационных перегрузок до 60 выявленные на предыдущем сроке изменения нарастали. Так параметр Tt.Ar превышал контрольные значения на 17,30% ($p<0,05$), Ct.Ar – на 22,58% ($p<0,05$), а Ct.Wi – на 8,74%

($p<0,05$). Также обнаружили увеличение показателя Ps.Pm на 12,98% ($p<0,05$), отражающего состояние периостального костеобразования.

Как следует из данных, представленных в таблице 3, изменения, возникающие под действием гравитационных перегрузок в костях крыс двенадцатимесячного возраста, в общем аналогичны предыдущей возрастной группе. Так, при наименьшей кратности воздействия, гравитационные перегрузки не вызывали существенных изменений перестройки костной ткани компактного вещества диафизов большеберцовых костей. При действии тридцатикратных перегрузок обнаружено увеличение относительно контроля показателей Tt.Ar на 7,67% ($p<0,05$), Ct.Ar – на 16,09% ($p<0,05$) и Ps.Pm – на 5,16% ($p<0,05$), а также уменьшение показателей Es.Pm на 8,25% ($p<0,05$) и Es-%Er.Pm – на 4,99% ($p<0,05$). При этом, в отличие от животных предыдущей возрастной группы, стимуляция костеобразования на аналогичном сроке наблюдения сочетается с угнетением эн-

достальной резорбции (судя по изменению показателя Es-%Eg.Pm). После 60 сеансов моделирования гравитационных перегрузок наблюдаются признаки активации как периостального, так и эндостального остеогенеза, о чем свидетельствует увеличение в сравнении с данными контроля показателя Ps.Pm на 8,14% ($p>0,05$) и уменьшение Es.Pm на 8,93% ($p<0,05$). Эти изменения привели к уменьшению площади костномозговой полости (Ma.Ar) на 6,18% ($p<0,05$), а также увеличению толщины кортикальной пластинки (Ct.Wi, на 11,78% ($p<0,05$)), ее доли в структуре диафиза (Ct.Ar, на 19,98% ($p<0,05$)) и его поперечных размеров (Tt.Ar, на 9,22% ($p<0,05$)).

Заключение. Проведенное исследование позволяет заключить, что костная ткань компактного вещества диафизов большеберцовых костей крыс различных возрастных групп по-разному реагирует на гравитационные пере-

грузки. Так, у двухмесячных животных они вызывают активацию остеопластических процессов (при малой и средней кратности их действия), сменяющейся формированием отрицательного костного баланса. У шести- и двенадцатимесячных животных гипергравитационное воздействие не оказывает существенного влияния на остеогенез при малой кратности (10 сеансов) и вызывает стимуляцию костеобразовательных процессов при средней (30 сеансов) с ее нарастанием при большой (60 сеансов). Выявленные возрастные отличия, по всей видимости, связаны с высокой лабильностью костной ткани у неполовозрелых животных.

В перспективе планируется изучение гистологической структуры костей крыс при воздействии гравитационных перегрузок с использованием различных способов повышения устойчивости к их действию.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Верченко И.А.** Морфологические изменения позвонков различных топографических отделов в процессе систематического воздействия гипергравитации и защите от нее / И.А. Верченко // Труды КГМУ «Проблемы достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения». – Симферополь, 2007. – Т. 143, Ч. IV. – С. 13-22.
2. **Кутя С.А.** Гістоморфометрична оцінка впливу гравітаційних перевантажень на перебудову кісткової тканини щурів / С.А. Кутя // Матеріали VI міжнародної науково-практичної конференції «Наука і wykształcenie bez granic - 2010» (Przemysl, 07-15.12.2010), 2010. – Vol. 20. – Przemysl: Nauka I studia. – P. 53 – 55.
3. Изменения микроциркуляторного русла ком-

пактного вещества костей при местном механическом давлении, гравитационных перегрузках и гипокинезии / Е.А. Дыскин, Э.Н. Беллендир, Н.М. Патлас [и др.] // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1976. – №4. – С. 45 – 52.

4. **Патлас Н.М.** Микроциркуляторное русло и строение компактного вещества диафиза большеберцовой кости кошки в норме и после многократного воздействия гравитационных перегрузок / Н.М. Патлас // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1978. – №5. – С. 36 – 44.

5. **Parfitt A.M.** Bone Histomorphometry: Standardization of Nomenclature, Symbols, and Units / A.M. Parfitt, M.K. Drezner, F.H. Glorieux [et al.] // J. Bone Min. Res. – 1987. – Vol. 2, №6. – P. 595 – 610.

Кутя С.А. Гистоморфометрическая оценка влияния гравитационных перегрузок на процессы перестройки в компактном веществе костей крыс разного возраста // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С.89-91.

В статье приведены результаты исследования перестройки компактного вещества диафизов костей крыс разного возраста, подвергавшихся действию гравитационных перегрузок, методом гистоморфометрии. Установлено, что гипергравитационное воздействие оказывает, в основном, стимулирующий эффект на остеопластические процессы. Более выраженные изменения у двухмесячных крыс выявлены при малой (10 сеансов) и средней (30 сеансов), а у шести- и двенадцатимесячных животных при средней и большой (60 сеансов) кратности действия перегрузок.

Ключевые слова: гравитационные перегрузки, гистоморфометрия, компактное вещество кости.

Кутя С.А. Гістоморфометрична оцінка впливу гравітаційних перевантажень на процеси перебудови в компактній речовині кісток щурів різного віку // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С.89-91.

У статті наведені результати дослідження перебудови компактною речовиною діафізів кісток щурів різного віку, що піддавалися дії гравітаційних перевантажень, методом гістоморфометрії. Встановлено, що гіпергравітаційне навантаження здебільшого стимулює остеопластичні процеси. Більш виражені зміни у двомісячних щурів виявлені при малій (10 сеансів) та середній (30 сеансів), а у шести- та дванадцятимісячних тварин при середній та великій (60 сеансів) кратності дії перевантажень.

Ключові слова: гравітаційні перевантаження, гістоморфометрія, компактна речовина кістки

Kutya S.A. Histomorphometric assessment of effects of gravitational overloads on cortical bone turnover in various age rats // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С.89-91.

Article contains results of investigation of cortical bone turnover in various age rats subjected to gravitational overloads. Histomorphometry was used. It was revealed that hypergravity basically stimulates bone formation. More pronounced changes were observed in 2nd month-old rats after 10 and 30 sessions of hypergravity, whereas in 6th and 12th month-old rats after 30 and 60 sessions.

Key words: gravitational overloads, histomorphometry, cortical bone

Надійшла 17.02.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін