

ОСОБЕННОСТИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ ПОЗВОНКОВ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА ПРИ ГИПЕРГРАВИТАЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Кутя С.А.

Государственное учреждение «Крымский государственный медицинский университет имени С.П. Георгиевского»

Кутя С.А. Особенности ремоделирования костной ткани позвонков крыс разного возраста при гипергравитационном воздействии // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 114-116.

Цель исследования – установить особенности костной перестройки в позвонках крыс ювенильно-молодого и зрелого возраста в условиях воздействия гравитационных перегрузок. Гипергравитацию (9g) моделировали ежедневно в течение 10 минут, кратность – 10, 30 и 60 раз. Проводили статическую гистоморфометрию: определяли параметры, отражающие костеобразование (поверхность, толщина и объем остеоида, остеобластная поверхность) и остеорезорбцию (эрозированную поверхность и удельное количество остеокластов). У животных ювенильного возраста имеет место выраженная активация остеопластических процессов. У молодых и зрелых крыс воздействие многократно повторяющихся перегрузок угнетает костное ремоделирование, что может привести к остеопении.

Ключевые слова: ремоделирование кости, гипергравитация, возраст.

Кутя С.А. Особливості ремоделювання кісткової тканини хребців щурів різного віку при гіпергравітаційному впливі // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 114-116.

Мета дослідження – встановити особливості кісткової перебудови в хребцях щурів ювенільного, молодого та зрілого віку за умов дії гравітаційних перевантажень. Гіпергравітацію (9g) моделювали щоденно протягом 10 хвилин, кратність – 10, 30 та 60 разів. Проводили статичну гістоморфометрію: визначали параметри, що відображають кісткоутворення (поверхню, товщину та об'єм остеоїду) та остеорезорбцію (еродовану поверхню та питому кількість остеокластів). У тварин ювенільного віку має місце значна активація остеопластичних процесів. У молодих та зрілих щурів вплив перевантажень багаторазово повторювалися, пригнічує кісткове ремоделювання, що може привести до остеопенії.

Ключові слова: ремоделювання кістки, гіпергравітація, вік.

Kutya S.A. Features of bone tissue remodeling in various age rats' vertebrae under hypergravity conditions // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 1. – С. 114-116.

Aim of current research is determination of bone turnover in vertebrae of juvenile, young and adult rats under hypergravity (9g, 10 min, daily, 10, 30 and 60 times) conditions. Static histomorphometry was performed. Parameters of bone formation (osteoid surface, thickness, volume and osteoblast surface) and bone resorption (eroded surface and osteoclast number) were calculated. Hypergravity activates bone remodeling, especially formation, in juvenile rats. In young and adult rats many times repeated gravitational overloads inhibit bone remodeling. This might cause osteopenia.

Key words: bone remodeling, hypergravity, age.

Основной функцией костей в организме человека и животных является обеспечение необходимых прочностных характеристик тела или его отдельных органов при статических и динамических нагрузках. Нашими предыдущими работами [3, 5] были установлены изменения механико-пластических свойств позвонков при воздействии гравитационных перегрузок различной кратности на организм экспериментальных животных разного возраста, а также факторов, их предопределяющих [1, 2, 4]. Одним из них является количество костной ткани, зависящее от выраженности процессов костеобразования и остеорезорбции, исследование которых при действии такого экстремального фактора как гипергравитация не предпринималось.

В связи с этим **целью** нашего исследования явилось установление особенностей перестройки костной ткани позвонков под воздействием гипергравитационных перегрузок в возрастном аспекте.

Материал и методы исследования. Исследование проведено на 108 крысах самцах линии Вистар ювенильного, молодого и зрелого возраста. На начало эксперимента ювенильные животные были двухмесячными (их исходная масса составила 120-130 г), молодые – шестимесячными (исходная масса 200-220 г), зрелые – двенадцатимесячными (исходная масса 260-280 г). Все животные были разделены на две серии. Крысы первой 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 (рабочий диапазон от 1 до 50 g, радиус плеча 50 см, градиент нарастания - 1,6 g/c, градиент спада - 0,6-0,8 g/c). Контролем служили животные второй серии, которых на период сеанса гипергравитации помещали в аналогичные контейнеры и размещали на платформе центрифуги.

По истечении сроков эксперимента (10, 30, 60 дней) на следующий день после последнего сеанса гипергравитации животных декапитировали под эфирным наркозом, забирали и очищали от мягких тканей IV поясничные позвонки. Дальнейшие манипуляции осуществляли по оригинальной методике, разработанной автором [6].

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

компьютерной программы Image J. Определяли следующие показатели:

- параметры костеобразования: толщина остеоида (средняя толщина (мкм) слоев остеоида), объем остеоида (часть (%) губчатой костной ткани, которая не подверглась кальцификации), поверхность остеоида (часть (%) общего периметра губчатой костной ткани, которая покрыта остеоидом), поверхность остеобластов (часть (%) общего периметра губчатой костной ткани, покрытой активными остеобластами);
- параметры остеорезорбции: эрозивная поверхность (часть (%) поверхности губчатой кости покрытой лакунами резорбции), количество остеокластов на квадратный миллиметр среза кости.

Все показатели измеряли в соответствии с рекомендациями American Society of Bone and Mineral Research Histomorphometry Nomenclature Committee [7].

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

Результаты исследования. Гистоморфометрия срезов позвонков крыс ювенильного возраста, подвергавшихся действию гравитационных перегрузок десять раз, продемонстрировала значительное утолщение слоев остеоида на 21,18 %* (здесь и далее * - $p < 0,05$) и увеличение количества остеокластов в единице площади среза на 14,29 %* относительно данных контроля. Наряду с этим, обнаружили увеличение доли периметра губчатого вещества, покрытого активными остеобластами и процентного содержания неминерализованного костного вещества. Отклонение значения этих показателей от величин в контрольной серии составило 7,87 %* и 7,49 % соответственно. Показатели поверхности остеоида и эрозивной поверхности несущественно отличались от контрольных значений.

Похожие изменения в губчатом веществе позвонков крыс обнаружили и после тридцатого сеанса моделирования гравитационных перегрузок. При определении показателей, характеризующих остеопластический процесс, выявили увеличение, по сравнению с данными в контрольной серии, значения показателей средней толщины слоев остеоида на 22,32 %*, части периметра, покрытого активными остеобластами и пластинами остеоида на 13,05 %* и 9,10 %* соответственно, а также процентного содержания остеоида на 6,50 %* (рис. 1). Среди параметров, отражающих остеорезорбцию, в большей степени изменялся показатель количества остеокластов в единице площади среза. Его значение превышало контрольное на 9,69 %.

При наибольшей кратности действия гравитационных перегрузок (60 раз) на организм крыс этой возрастной группы обнаружили менее выраженные изменения по сравнению с серией эксперимента с тридцатикратным моделированием гипергравитации. Значения всех изучавшихся показателей в разной степени превышали данные в контрольной серии животных. Более других изменились показатели количества остеокластов в единице площади среза – на 14,77 %*, средней толщины слоев остеоида – на 11,57 %* и остеобластной поверхности – на 7,03 %*. Отклонение показателей доли периметра губчатого вещества, покрытого резорбционными лакунами, поверхности и объема остеоида составило соответ-

ственно 5,98 %, 4,74 % и 3,63 %.

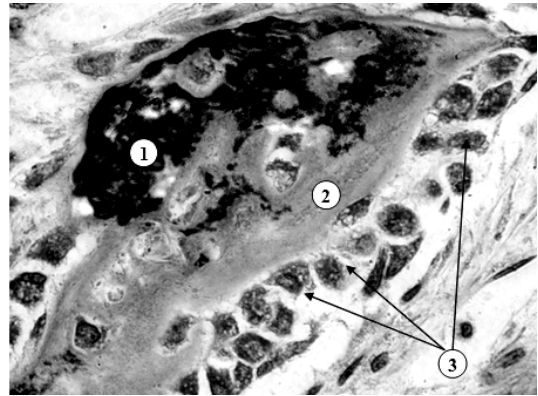


Рис. 1. Трабекула в теле позвонка крыс ювенильного возраста, подвергавшихся тридцатикратному воздействию гравитационных перегрузок. Недекальцинированные срезы. Окраска по оригинальной методике. Ув. 1000. 1 – минерализованный матрикс, 2 – остеоид, 3 – активные остеобласты.

У животных молодого возраста десятикратные гравитационные перегрузки не вызывают существенных изменений в их структуре. Обращает на себя внимание более выраженное отклонение значений показателей, количественно характеризующих резорбцию костного матрикса по сравнению с параметрами, отражающими остеопластические процессы. Так, количество остеокластов в единице площади среза в позвонках животных этой серии было больше, чем в контрольной серии на 6,88 %*, а доля поверхности трабекул губчатого вещества, покрытой лакунами резорбции – больше на 4,33 %. При этом отклонение значений параметров, отражающих остеопластические процессы, по сравнению с данными контроля не превышало 3,62 % (это отклонение было обнаружено при определении показателя поверхности губчатого вещества, покрытой активными остеобластами).

При увеличении кратности действия гравитационных перегрузок до тридцати обнаружили более выраженные изменения в структуре губчатого вещества позвонков крыс. Количество остеокластов в единице площади среза было увеличенным в сравнении с контрольной серией на 14,54 %*, а эрозивная поверхность – на 11,29 %* (рис. 2). Значения показателей, отражающих костеобразование, также были выше контрольных. Часть поверхности губчатого вещества, покрытой остеоидом и активными остеобластами была большей на 8,88 %* и 5,58 %* соответственно. Изменения остальных изучавшихся показателей носили статистически недостоверный характер.

После шестидесяти сеансов моделирования гравитационных перегрузок в губчатом веществе позвонков животных серии П выявили признаки угнетения костеобразовательных процессов, судя по достоверному уменьшению средней толщины слоев остеоида, его доли и доли поверхности костной ткани, покрытой активными остеобластами на 4,48 %*, 8,09 %* и 9,59 %* соответственно. Наряду с этим обнаружили уменьшение значений показателей остеорезорбции относительно контроля. Так, количество остеокластов в 1 мм² среза было меньшим на 9,38 %*, а поверхность костного вещества, покрытого резорбционными лакунами – на 6,59 %*.

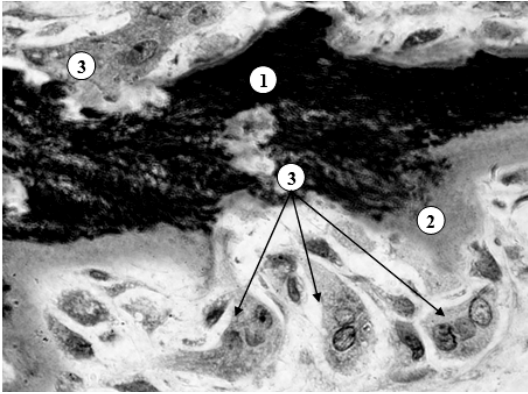


Рис. 2. Трабекула в теле позвонка молодых крыс, подвергавшихся тридцатикратному воздействию гравитационных перегрузок. Недекальцинированные срезы. Окраска по оригинальной методике. Ув. 1000. 1 – минерализованный матрикс, 2 – остеоид, 3 – остеокласты.

Проведенное гистоморфометрическое исследование срезов позвонков животных зрелого возраста показало, что у крыс после воздействия десятикратных перегрузок наибольшим изменениям подверглись значения показателей доли периметра губчатого вещества, покрытого активными остеобластами и количества остеокластов в единице площади среза. Первый превышал контрольные значения на 4,69 %*, а второй – на 7,19 %. Величины остальных изучавшихся показателей отличались от данных контрольной серии не существенно (амплитуда отклонения не превышала 3 %).

Более выраженные изменения были обнаружены после тридцатикратного воздействия гравитационных перегрузок. Величины показателей остеорезорбции значительно превосходили контрольные значения: количество остеокластов в единице площади среза было большим на 17,01 %*, а эрозированная поверхность – на 10,17 %*. Среди параметров костеобразования наибольшим изменениям подвергся показатель доли периметра костной ткани, покрытой слоями остеоида, который превышал контрольную величину на 6,18 %*.

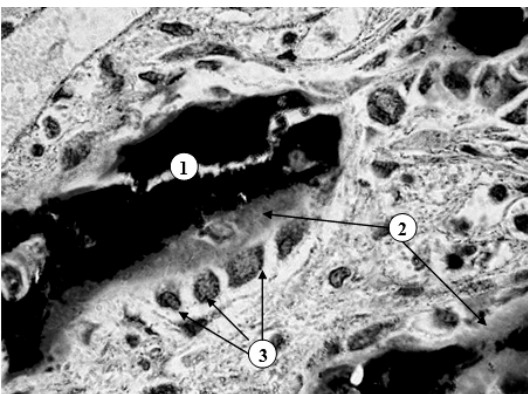


Рис. 3. Трабекулы в теле позвонка зрелых крыс, подвергавшихся шестидесятикратному воздействию гравитационных перегрузок. Недекальцинированные срезы. Окраска по оригинальной методике. Ув. 1000. 1 – минерализованный матрикс, 2 – остеоид, 3 – активные остеобласты.

После шестидесяти дней эксперимента при оценке параметров, количественно отражающих

процессы костеобразования, выявили уменьшение, в сравнении с данными в контрольной серии, значения показателей доли периметра губчатого вещества, покрытого активными остеобластами и пластинами остеоида на 10,65 %* и 5,49 %* соответственно (рис. 3). Величины показателей толщины остеоида и его объема незначительно отличались от контрольных значений. Оценка параметров, характеризующих остеорезорбцию, показала уменьшение количества остеокластов единице площади среза и части губчатого вещества, покрытого резорбционными лакунами на 7,58 %* и 4,80 %* соответственно.

Выводы:

1. Хроническое систематическое воздействие гравитационных перегрузок на организм крыс ювенильного возраста вызывает активацию процессов перестройки губчатого вещества тел позвонков (с преобладанием костеобразования).

2. Многократно повторяющееся гипергравитационное воздействие приводит к торможению ремоделирования костной ткани и может служить причиной формирования отрицательного костного баланса у молодых и зрелых животных.

В перспективе планируется изучение процессов минерализации костной ткани в условиях действия гравитационных перегрузок при помощи динамической гистоморфометрии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Кутя С.А. Влияние хронических гравитационных перегрузок на перестройку костной ткани позвонков крыс разного возраста / С.А. Кутя // Вісник СумДУ. Серія Медицина. – 2010. - №2. – С. 38 – 41.
2. Кутя С.А. Возрастные особенности микроархитектоники губчатого вещества позвонков крыс при действии гравитационных перегрузок / С.А. Кутя, В.С. Пикалюк, И.А. Верченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, т.2. – С. 157 – 161.
3. Кутя С.А. Закономерности изменений механико-пластических характеристик позвонков крыс молодого возраста при систематической гравитационной перегрузке с использованием средств, повышающих устойчивость к действию гипергравитации / С.А. Кутя, А.О. Столоногов, Р.В. Лискевич // Укр. мед. альм. – 2012. – Т. 15, №5. – С. 100 – 102.
4. Кутя С.А. Органые характеристики костей крыс под влиянием гравитационных перегрузок / С.А. Кутя // Медицина сегодня и завтра. – 2009. - №1. – С. 18 – 21.
5. Пикалюк В.С. Возрастные особенности механико-пластических свойств позвонков крыс при систематическом гипергравитационном воздействии в эксперименте / В.С. Пикалюк, С.А. Кутя, Г.А. Мороз [и др.] // Кліні. анат. та опер. хір. – 2012. – № 4. – 18 – 21.
6. Пикалюк В.С. Модификация методики гистологического исследования костной ткани / В.С. Пикалюк, С.А. Кутя, Д.В. Шадуро // Морфология. – 2010. – Т. IV, №3. – С. 72 – 76.
7. 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.

Надійшла 04.11.2012 р.

Рецензент: проф. В.І.Лузін