

В. И. Лузин, \*Г. В. Лукьянцева, \*\*С. М. Смоленчук

## ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Луганск;  
\* Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, г. Киев;  
\*\* ООО «Медаком-Крым», г. Севастополь

**Реферат.** В. И. Лузин, Г. В. Лукьянцева, С. М. Смоленчук **ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ ПОЛОВОЗРЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМОВ ХРОНИЧЕСКОЙ ГИПЕРТЕРМИИ.** В эксперименте на 270 взрослых белых крысах (самцы) установлено влияние хронической гипертермии (ХГ) средней и высокой интенсивности. Показано, что указанные режимы ведут к уменьшению общей ширины эпифизарного хряща с пропорциональным сужением зоны пролиферативных и дефинитивных хондроцитов, Влияние условий эксперимента оказывало однонаправленные изменения исследуемых показателей: наблюдалось уменьшение общей ширины эпифизарного хряща с пропорциональным сужением зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов, снижение доли первичной спонгиозы, увеличение объема межклеточного вещества. Комбинированное влияние ХГ и физической активности ухудшали изучаемые показатели. Введение инозина нивелирует негативное влияние изолированной хронической гипертермии. В процессе реадaptации в течение 60 дней наблюдалось уменьшение амплитуды отклонения показателей. Наибольшее сглаживание выявленных отклонений определено в группах, где животным вводился инозин в дозе 20 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки.

**Ключевые слова:** хроническая гипертермия, физическая нагрузка, эпифизарный хрящ, инозин.

**Реферат.** В. І. Лузін, Г. В. Лукьянцева, С. М. Смоленчук **ГІСТОЛОГІЧНА БУДОВА ПРОКСИМАЛЬНОГО ЕПІФІЗАРНОГО ХРЯЩА ВЕЛИКОГОМІЛКОВИХ КІСТОК СТАТЕВОЗРІЛИХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ РІЗНИХ РЕЖИМІВ ХРОНІЧНОЇ ГІПЕРТЕРМІЇ.** В експерименті на 270 дорослих білих щурів (самці) встановлено вплив хронічної гіпертермії (ХГ) середньої і високої інтенсивності. Показано, що вказані режими ведуть до зменшення загальної ширини епіфізарного хряща з пропорційним звуженням зони проліферативних і дефінітивних хондроцитів. Вплив умов експеримента спричиняло однонаправлені зміни показників, які досліджувалися: спостерігалось зменшення загальної ширини епіфізарного хряща з пропорційним звуженням зон проліферуючих і дефінітивних хондроцитів, зниження долі первинної спонгіози, збільшення об'єму міжклітинної речовини. Комбінований вплив ХГ і фізичної активності погіршували вивчаємі показники. Введення інозину нивелює негативний вплив ізольованої хронічної гіпертермії. В процесі реадaptації на протязі 60 днів спостерігалось зменшення амплітуди відхилення показників. Найбільше згладжування виявлених відхилень визначено в групах, де тваринам вводився інозин в дозі 20 мг/кг внутрішньшлунково 1 раз на добу.

**Ключові слова:** хронічна гіпертермія, фізичне навантаження, епіфізарний хрящ, інозин.

**Summary.** Luzin V.I., Lukjantseva G.V., Smolenchuk S.M. **HISTOLOGICAL STRUCTURE OF PROXIMAL EPIPHYSEAL CARTILAGE OF TIBIA IN ADULT RATS UNDER THE IMPACT OF THE DIFFERENT MODES OF CHRONIC HYPERTHERMIA.** In an experiment on 270 white adult rat males it is set that influence of chronic hyperthermia of the middle and extreme modes brings to the decline of general width of epiphyseal cartilage with the proportional narrowing of areas of proliferative and definitive chondrocytes, to diminishing of stake of primary spongioza, increase of volume of intercellular matter. Combined influence of chronic hyperthermia and physical activity worsens studied indicators. Injection of inosine decreases negative influence of chronic hyperthermia. During the readaptation the indicators in studied groups approach control values. The best leveling of studied deviations was observed in groups, where inosine was used.

**Key words:** chronic hyperthermia, physical activity, epiphyseal cartilage, inosine

**Вступление.** Широкая распространенность костной патологии является одной из основных медико-социальных проблем современности во всем мире. Костная система активно взаимодействует с другими системами организма и в составе целостного организма реагирует на воздействие различных экзогенных факторов. С влиянием повышенной температуры окружающей среды, а также интенсивной физической нагрузкой, человек сталкивается в процессе его трудовой деятельности, что особенно актуально в регионе Донбасса [1,2]. С этой точки зрения особый интерес представляет не только влияние указанных факторов на основные функции костной системы, но и возможность и механизм их восстановления при прекращении данного экоантропогенного воздействия.

**Целью** настоящего исследования стало изучение в эксперименте гистологического строения и морфо-функциональной активности эпифизарных хрящей большеберцовых костей (ББК) после воздействия различных режимов хронической гипертермии (ХГ), а также обоснование возможности коррекции выявленных при этом изменений. Работа является фрагментом НИР ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Влияние хронической гипертермии и физической нагрузки на морфогенез органов иммунной, эндокринной и костной систем организма» (государственный регистрационный номер 0107U004485).

**Материалы и методы.** Эксперимент был проведен на 270 белых крысах-самцах репродуктивного возрастного периода исходной массой 150-160 г, взятых из вивария ЛГМУ в один сезонный период. Во время эксперимента крысы содержались в стандартных условиях вивария в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 г.) [3]. Животные были распределены на 9 групп по 30 животных в каждой. 1(К) – группа интактных животных; 2-8 – группы животных, которые на протяжении 60 суток ежедневно по 5 часов находились под влиянием повышенной температуры в специальной термической камере. 2(Э) группа находились под влиянием температуры 44-45°C (режим экстремальной ХГ). 3(С) группа – под влиянием температуры 42-43°C (режим ХГ средней степени тяжести). 4(У) группа – под влиянием температуры 39-41°C (режим ХГ умеренной степени тяжести). 5-6 группы животных подвергались сочетанному воздействию Э и С режимов ХГ на фоне динамической физической нагрузки (плавание в бассейне 15-20 минут); соответственно Э+Ф и С+Ф. 7-8 группе животных на фоне воздействия Э и С режимов ХГ вводился предполагаемый корректор - синтетический препарат метаболического ряда инозин; соответственно Э+И и С+И. Инозин применялся в дозе 20 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки за 1 час до помещения животных в условия гипертермии (согласно рекомендациям Рыболовлевых) [4]; 9(КИ) группе животных вводился инозин без последующего помещения в условия гипертермии. Животных выводили из эксперимента на 1, 7, 15, 30 и 60-е сутки после окончания 60-тидневного курса воздействий методом декапитации под эфирным наркозом. Проксимальные эпифизы ББК фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали по общепринятой методике. При морфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфофункциональная классификация В.Г.Ковешникова (1980) [5]. Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета программ “Statistica” 5.11 for Windows.

**Результаты и обсуждение.** У интактных животных исследуемый эпифизарный хрящ характеризуется выраженной толщиной, в нем хорошо выражены все зоны (индифферентных, пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов, деструкции и первичного остеогенеза). В зоне первичного остеогенеза содержится значительное количество первичной спонгиозы, что свидетельствует о высокой костеобразовательной активности. С увеличением возраста животных общая ширина эпифизарного хряща, размеры его зон и объемная доля первичной спонгиозы уменьшаются; содержание межклеточного вещества возрастает (таблица).

Влияние условий эксперимента оказывало однонаправленные изменения исследуемых показателей: наблюдалось уменьшение общей ширины эпифизарного хряща с пропорциональным сужением зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов, снижение доли первичной спонгиозы, увеличение объема межклеточного вещества, но выраженность отличий зависела от режима хронической гипертермии.

Через 60 дней воздействия условий Э было выявлено уменьшение общей ширины эпифизарного хряща на 13,89% в основном за счет пропорционального сужения зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов соответственно на 15,18% и 14,38%. При этом доля первичной спонгиозы также была меньше контрольной на 11,30%. Объемное содержание межклеточного вещества увеличивалось на 12,30%.

Воздействие условий С вызывало аналогичные, но менее выраженные изменения: уменьшение ширины эпифизарного хряща, зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов составило 11,96%, 12,62% и 12,48% соответственно, снижение объема первичной спонгиозы - 10,32%, а увеличение доли межклеточного вещества – 11,48%.

Наибольшие отклонения изучаемых показателей наблюдались в группе Э+Н, где на первые сутки наблюдения сужение эпифизарного хряща составило 17,75% с пропорциональным уменьшением зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов на 18,44% и 18,92% соответственно. При этом доля первичной спонгиозы также была ниже контрольной 17,44%, а объемная доля межклеточного вещества увеличивалась на 20,08%.

Таблица

Показатели морфометрии (в мкм) проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости половозрелых белых крыс, подвергавшихся воздействию различных режимов хронической гипертермии, (M±m)

Группа	Сроки	Ширина эпифизарного хряща и его зон				Объем межклет. в-ва, %	Доля первичн. спонгиозы, %
		общая	индиффер.	пролифер.	дефинит.		
К	1	267,67±9,27	18,00±1,41	117,50±5,89	132,17±4,71	40,67±1,75	67,83±2,32
	7	255,67±7,87	19,83±1,17	114,33±3,83	121,50±4,04	41,00±1,79	66,33±2,50
	15	245,33±7,99	21,83±1,47	111,83±3,49	111,67±5,32	42,17±1,47	65,17±2,48
	30	231,50±8,87	22,50±1,52	104,83±5,15	104,17±4,92	41,00±1,26	64,17±2,79
	60	228,00±6,13	22,00±1,55	107,00±3,58	99,00±4,34	41,50±1,87	61,83±2,64
Э	1	230,50±6,25*	17,67±1,75	99,67±3,39*	113,17±3,60*	45,67±1,75*	60,17±2,32*
	7	224,33±5,96*	19,17±1,72	97,67±2,34*	107,50±3,62*	46,00±4,15*	59,17±2,14*
	15	217,50±5,13*	21,83±1,47	96,17±3,06*	99,50±2,35*	45,83±1,47*	58,17±1,94*
	30	215,17±6,01*	22,17±1,17	94,83±4,36*	98,17±3,31*	44,17±1,72*	58,33±1,86*
	60	214,67±7,71*	21,50±1,52	100,67±5,50	92,50±4,32*	43,17±1,94	56,33±2,50*
С	1	235,67±8,82*	17,33±1,51	102,67±6,41*	115,67±3,08*	45,33±1,86*	60,83±2,04*
	7	232,83±8,33*	19,67±1,63	103,83±5,19*	109,33±5,43*	44,83±1,47*	59,83±1,94*
	15	230,33±7,17*	21,17±1,47	103,67±5,24*	105,50±5,43	44,17±1,47	59,50±1,87*
	30	225,17±8,95	22,33±1,21	102,50±4,37	100,33±4,84	43,17±0,75*	60,17±1,17*
	60	219,67±6,80	21,83±1,17	103,33±4,72	94,50±3,21	42,67±1,37	59,17±1,47
У	1	262,83±7,08	18,17±1,47	112,17±6,94	132,50±4,09	42,33±1,63	65,33±1,86
	7	258,33±7,87	19,67±1,21	112,67±7,17	126,00±5,02	42,00±1,41	64,83±2,79
	15	247,17±7,39	21,67±1,37	109,17±5,91	116,33±3,08	42,67±1,63	64,33±2,34
	30	236,50±8,48	22,33±1,03	106,33±5,39	107,83±5,00	41,50±1,05	64,67±2,94
	60	229,00±7,13	21,83±1,17	108,00±3,63	99,17±4,92	41,33±1,21	61,50±2,88
Э+Н	1	220,17±8,01*	17,17±1,83	95,83±5,23*	107,17±2,56*	48,83±1,47*	56,00±1,90*
	7	217,83±8,21*	19,33±1,21	93,83±3,31*	104,67±4,72*	48,50±2,26*	55,83±1,72*
	15	214,83±8,73*	21,17±1,33	93,33±6,31*	100,33±2,80*	48,17±2,14*	55,67±1,63*
	30	208,67±7,20*	21,83±1,47	91,33±2,16*	95,50±5,72*	47,00±2,68*	56,33±1,63*
	60	208,83±7,88*	20,33±1,86	98,00±3,63*	90,50±3,39*	45,33±1,63*	56,17±2,14*
С+Н	1	228,17±8,89*	17,33±1,37	98,17±5,53*	112,67±4,23*	46,67±1,21*	57,00±1,41*
	7	224,83±8,75*	18,83±1,72	99,17±3,43*	106,83±3,82*	46,33±1,86*	57,17±1,72*
	15	221,83±9,00*	19,50±2,17	100,33±6,89*	102,00±6,13*	47,00±0,89*	56,83±1,47*
	30	216,50±8,19*	22,33±1,21	97,00±5,22*	97,17±3,37*	44,67±1,21*	56,50±1,05*
	60	212,17±8,18*	21,83±1,72	97,83±5,31*	92,50±2,26*	45,17±2,14*	57,50±2,43*
Э+И	1	238,17±7,19*	18,67±1,03	104,67±4,18*	114,83±4,26*	45,17±1,33*	61,17±1,72*
	7	229,67±7,92*	19,17±1,72	101,67±5,82*	108,83±5,27*	45,00±1,79*	61,00±1,79*
	15	224,33±7,97*	21,33±1,51	99,83±3,97*	103,17±4,31*	44,67±1,21*	60,67±2,07*
	30	220,17±8,59	21,83±1,72	97,33±4,08*	101,00±3,74	43,17±0,75*	60,50±1,52*
	60	218,17±8,84	21,50±1,64	102,00±5,93	94,67±2,34	42,83±1,17	59,17±1,17
С+И	1	254,17±9,41*	18,83±1,17	111,17±5,88	124,17±4,26*	42,50±1,05	65,00±1,79*
	7	250,00±9,17	19,83±1,17	110,67±5,50	119,50±3,27	42,33±0,82	64,17±2,14
	15	247,67±8,21	21,00±1,41	109,00±6,16	117,67±4,18	42,17±0,75	62,50±1,64
	30	239,50±7,56	22,17±0,75	107,67±5,32	109,67±4,18	42,00±0,89	61,83±1,47
	60	225,33±8,69	21,50±1,22	106,33±5,09	97,50±3,02	41,83±1,17	62,17±1,33
И	1	271,00±7,69	18,17±1,17	118,33±5,85	134,50±8,50	40,33±1,37	60,83±2,04
	7	254,50±7,92	20,00±1,55	113,67±5,16	120,83±5,19	40,67±1,37	65,67±1,63
	15	244,50±8,29	21,17±1,47	110,67±5,50	112,67±6,28	42,00±1,67	65,50±1,97
	30	231,83±7,76	22,33±1,21	104,33±4,63	105,17±5,60	41,17±1,17	64,50±1,87
	60	229,17±8,57	21,33±1,37	107,50±6,89	100,33±3,83	41,67±1,03	61,50±1,05

Примечание: \* - обозначает достоверное отличие от группы К (p<0,05).

Зональное строение эпифизарного хряща в группе С+Н изменялось также более значительно, чем в группе С: уменьшение общей ширины эпифизарного хряща, зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов составило 14,76%, 16,45% и 14,75% соответственно, объем первичной спонгиозы снизился на 15,97%, содержания межклеточного вещества повысилось на 14,75%. Более выраженные изменения в структуре эпифизарного хряща в группах с сочетанием двух факторов вероятно связаны с хроническим стрессом и диспропорцией поступления в кровоток гормонов надпочечников, что приводит к преобладанию

процессов катаболизма [6-8].

Введение инозина сглаживало выявленные отклонения. Так, ширина эпифизарного хряща в группе Э+И была меньше контрольных значений на 11,02%, зоны пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов на 10,92% и 13,11%. Доля первичной спонгиозы снижалась на 9,83%, а объем межклеточного вещества повышался на 11,07%. В группе С+И снижение ширины эпифизарного хряща, зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов составило соответственно 5,04%, 5,39% и 6,05%, уменьшение доли первичной спонгиозы – 4,18%, а увеличение объема межклеточного вещества – 4,51%.

С 7 по 60 день реадaptационного периода возрастная направленность изменения морфометрических параметров эпифизарного хряща в подопытных группах не изменялась, однако наблюдались количественные отклонения от показателей интактных животных. По истечению периода наблюдения значения изучаемых показателей приближалась к контрольным. Степень нивелирования зависела от режима воздействия условий эксперимента.

К 60 суткам реадaptационного периода в группе Э, Э+Н, С+Н ширина зон эпифизарного хряща оставалась меньше значений контрольной группы соответственно на 5,85-6,57%, 8,41-8,59%, 6,57-8,57%; доля первичной спонгиозы была меньше на 8,89%, 9,16% и 7,01%; а объем межклеточного вещества оставался выше на 4,02%, 9,24% и 8,84% соответственно.

В группах С и Э+И значения изучаемых показателей достоверно не отличались от контроля на 60-е сутки, а в группе С+И – на 7-е сутки. Значительное улучшение изучаемых показателей в группах, где использовался инозин вероятно связано с его способностью активизировать обмен глюкозы в условиях гипоксии и при отсутствии АТФ, предшественником которого он и является [8].

Гистоморфометрическое исследование проксимального эпифизарного хряща ББК в группах У и И показало, что его гистоморфометрические характеристики в сравнении с контролем не изменялись во все сроки наблюдения.

**Заключение.** Полученные результаты указывают, что воздействие общей экзогенной гипертермии среднего и экстремального режимов в течение двух месяцев приводит к уменьшению общей ширины эпифизарного хряща с пропорциональным сужением зон пролиферирующих и дефинитивных хондроцитов, уменьшению доли первичной спонгиозы, увеличению объема межклеточного вещества. Сочетанное воздействие хронической гипертермии указанных режимов и физической нагрузки вызывает усугубление выявленных отклонений. Введение инозина нивелирует негативное влияние изолированной хронической гипертермии. В процессе реадaptации в течение 60 дней наблюдалось уменьшение амплитуды отклонения показателей. Наибольшее сглаживание выявленных отклонений определено в группах, где животным вводился инозин в дозе 20 мг/кг внутривенно 1 раз в сутки.

**Перспективы дальнейших исследований.** Для уточнения механизмов выявленных отклонений в дальнейшем будет проведено эпифизарных хрящей у животных других возрастных групп в условиях нашего эксперимента.

#### **Литература:**

1. Карнаух Н.Г. Оценка роли условий труда в развитии заболеваний костно-мышечной системы у рабочих железорудной промышленности / Н.Г. Карнаух, В.М. Шевцова, Т.П. Куликова // Лікарська справа. – 2003. - № 2. – С. 89-91.
2. Шеметова Г.Н. Болезни костно-мышечной системы у железнодорожников / Г.Н. Шеметова, Е.В. Трифонова // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. – 2006. - № 4. – С. 20-22.
3. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.
4. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР.- 1979.- Т.247, №6. - С.1513-1516.
5. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропogenетика, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т.2. – С. 251-252.
6. Панков Е.Я. Нейрогуморальная регуляция развития и восстановительных процессов костной и хрящевой тканей / Е.Я. Панков, Н.В. Дедух // Вестник Росс. АМН. – 1992. - № 5. – С. 10-13.
7. Bone hyperemia precedes disuse-induced intracortical bone resorption / T.S. Gross, A.D. Ariff, J. Stefan [et al.] // J. Appl. Physiol. – 1999. - Vol. 86. – P. 230-235.
8. Fajardo L.F. Pathological Effects of Hyperthermia in Normal Tissues / L.F. Fajardo // *Cancer Research*. – 1984. – Vol. 44. – P. 4826s-4835s.
9. Starling R.D. Effect of inosine supplementation on aerobic and anaerobic cycling performance / R.D. Starling, T.A. Trappe, K.R. Short // Med. Sci. Sports Exerc. – 1996. - № 28. – P. 1193-1198.