

© Кутя С.А., 2011

УДК 611.71/.72:531.113:616-076

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕСТРОЙКИ И МИКРОАРХИТЕКТониКИ ГУБЧАТОГО ВЕЩЕСТВА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ КРЫС ПРИ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗКАХ

С.А.Кутя

Кафедра нормальной анатомии (зав. – проф. В.С.Пикалюк) Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского, г. Симферополь

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБУДОВИ ТА МІКРОАРХІТЕКТОНІКИ ГУБЧАТОЇ РЕЧОВИНИ ВЕЛИКОГОМІЛКОВИХ КІСТОК ЩУРІВ ПРИ ГРАВИТАЦІЙНИХ ПЕРЕВАНТАЖЕННЯХ

Резюме. Наведені результати дослідження дії поперечних гравітаційних перевантажень на процеси перебудови та архітектурної організації губчастої речовини кісток методом гістоморфометрії. Десятикратна дія гіпергравітації не виявляє значного впливу на кісткову тканину, а після 30 сеансів спостерігається активація кісткоутворення, трабекулярна сітка характеризується підвищеним зщепленням. При найбільшій кратності дії (60) гравітаційні перевантаження викликають активацію остеорезорбції і незначне пригнічення кісткоутворення, та, як наслідок, втрату кісткових трабекул та роз'єднання компонентів трабекулярної сітки.

Ключові слова: гравітаційні перевантаження, губчаста речовина кісток, перебудова, мікроархітектоніка.

Проблема влияния на организм летчика пилотажных перегрузок в последние годы получила новый импульс в связи с появлением в военной авиации истребителей 4-го и 5-го поколений. Эксплуатация современных высокоманевренных самолетов сопровождается воздействием на пилота чрезмерных гравитационных перегрузок (ГП), характер которых позволяет утверждать, что неблагоприятным изменениям могут подвергаться не только сердечно-сосудистая, дыхательная системы, но и опорно-двигательный аппарат. По мнению Ю.Б.Моисеева [1], воздействия пилотажных перегрузок величиной 9 единиц увеличивают риск развития остеохондроза позвоночника в 1,5-1,75 раза. По данным В.В.Власова, С.Г.Пицыка [2], одними из самых распространенных диагнозов в структуре заболеваемости летного состава являются деформирующий спондиллез и остеохондроз позвоночника. Вышеизложенное свидетельствует о необходимости детального изучения морфофункционального состояния костей в условиях действия ГП для усовершенствования имеющихся и разработки новых методов защиты и профилактики костной патологии у летчиков.

Цель исследования: выяснить особенности физиологической перестройки и микроархитектоники губчатого вещества костей в условиях моделирования ГП.

Материал и методы. Исследование проведено на 36 6-месячных крысах-самцах линии Вистар с исходной массой 200-220 г, которые были разделены на экспериментальную и контрольную серии. Крысы первой серии ежедневно подвергали воздействию поперечных ГП величиной 9g в течение 10 минут в виде следующих друг за другом трех "площадок" продолжительностью 3 минуты каждая (с двумя 30-секундными перерывами между ними). Гипергравитацию моделировали путем вращения животных в периферических контейнерах на центрифуге Ц-2/500 (рабочий диапазон – 1-50 g, радиус плеча – 50 см, градиент нарастания – 1,6 g/c, градиент спада – 0,6-0,8 g/c). Контролем служили животные, которых на период сеанса гипергравитации помещали в аналогичные контейнеры и размещали на платформе центрифуги. По истечении сроков эксперимента (10, 30 и 60 дней) на следующий день после последнего сеанса гипергравитации животных декапитировали под эфирным наркозом, забирали и очищали от мягких тканей большеберцовые кости. Производили распил фрагментов костей (проксимальной трети) в сагиттальной плоскости, один из которых после фиксации в 10% растворе нейтрального формалина декальцинировали в растворе "Трилон Б", обезжизняли в спиртах возрастающей

концентрації і заливали в парафин. Готовили срези товщиною 6-8 мкм в сагітальній плоскості, які фарбували гематоксилином і еозином. Далішні маніпуляції со вторым фрагментом здійснювали по оригінальній методикі [3]. Готували блоки з участка вторичної спонгиози товщиною 3-5 мм, які фіксували в 70% етанолі в течение суток, обезвожували в спиртах зростаючої концентрації і заливали без декальцинації в епон. Срези товщиною 1-2 мкм готували на ультрамикротомі "ULTRACUT" з використанням як скляних, так і алмазних ножів. Отримані срези фарбували по методу Косса з наступним контрастним фарбуванням 1% розчином метиленового синього і 0,05% розчином основного фуксина.

Мікроморфометричне дослідження проводили на комп'ютерному морфометричному комплексі: мікроскоп Оlympus CX-31, цифрова фотоапаратура Оlympus C5050Z з п'ятимегапіксельною матрицею, з'єднаний з мікроскопом системою відеоадаптерів цієї ж фірми. Гістоморфометрію проводили при допомозі комп'ютерної програми Image J. Визначали наступні показники, рекомендовані American Society of Bone and Mineral Research Histomorphometry Nomenclature Committee в остеологічних дослідженнях [4]: параметри, що характеризують процеси кісткоутворення і остеорезорбції (на недекальцинованих срезах) – середня товщина пластів остеоида (O.Th); частка (%) губчатого кістяку, яка не піддалася кальцифікації (OV/BV); частка (%) загального периметра губчатого кістяку, покритого остеїдом (OS/BS); частка (%) загального периметра губчатого кістяку, покритого активними остеобластами (Ob.S/BS); частка (%) поверхні губчатого кістяку, покритого лакунами резорбції (ES/BS); кількість остеокластів на 1 мм² среза (N.Ос). Архітектурну організацію губчатого речовини вивчали на декальцинованих срезах. Визначали об'єм губчатого речовини (Sp-BV/TV) – відсоток вмісту кістяку, розташованого між двома кортикальними шарами; параметри, що характеризують власне мікроархітектуру трабекулярної кістки: товщину трабекул (Tb.Th., мкм), сепарацію трабекул (Tb.Sp., мкм), кількість трабекул (Tb.N., в пересчеті на 1 мм²). Ці показники відображають соот-

ветственно ширину трабекул, відстань між ними і щільність їх розташування. Проводили node-strut аналіз [5], що включається в підрахунок кількості з'єднань (N.Nd.) і кінцівок (N.Tm.) в 1 мм², відстань між з'єднаннями (Nd.Nd.), між кінцінками (Tm.Tm.) і від з'єднання до кінця (Nd.Tm.). Під з'єднаннями розуміли місця розгалуження трабекул, а під кінцінками – вільно розташовані кінці трабекул в складі трабекулярної сітки. Для сумарної оцінки ступеня зчепленості в губчатому речовині визначали зірчастий об'єм кістково-мозгових порожнин – V* [6]. Надійність результатів оцінювали з використанням критерію Ст'юдента ($p \leq 0,05$).

Результати дослідження і їх аналіз.

Отримані результати представлені в таблиці. Після 10 сеансів моделювання ГП більшість показників слабо відрізнялися від контрольних значень (їх відхилення не перевищало 5%). Їх зміни були статистично надійними, що свідчить про стійкість кістяку до впливу цього фактора. Привертає до себе увагу параметр Ob.S/BS, що перевищив значення аналогічного показника в контрольній серії на 9,34% ($p \leq 0,05$), що вказує на активацію остеопластических процесів під впливом повторюваного ГП. З збільшенням кратності впливу ГП до 30 вираженість змін наростала. В результаті діяльності остеобластів, кількість яких було збільшено, нами виявлено збільшення частки губчатого речовини в структурі метадіафізарної зони більшеберцових кісток (Sp-BV/TV) більше, ніж в контролі на 8,72%, ($p \leq 0,05$). О високої активності остеопластических процесів свідчить також збільшення показників O.Th на 11,59% ($p \leq 0,05$), OS/BS – на 7,40% ($p \leq 0,05$), Ob.S/BS – на 5,01% ($p \leq 0,05$), Tb.Th – на 6,50% ($p \leq 0,05$), що відображають відповідно товщину остеоида, частку кістяку, покритого пластинами остеоида і активними остеобластами, а також товщину трабекул. Виявлені зміни поєдналися з зменшенням відстань між трабекулами на 3,79% ($p \leq 0,05$). При оцінці мікроархітектури губчатого речовини скільки-либ значимих змін виявлено не було, що говорить про стійкість кістки як конструкції до впливу ГП. При цьому трабекулярна сітка

Данные гистоморфометрии губчатого вещества большеберцовых костей крыс, подвергавшихся воздействию гравитационных перегрузок

Показатель	10 дней		30 дней		60 дней	
	контроль	перегрузка	контроль	перегрузка	контроль	перегрузка
O.Th, мкм	6,73±0,24	6,96±0,25	5,94±0,12	6,63±0,06*	5,73±0,18	5,95±0,17
OV/BV, %	7,93±0,10	7,59±0,18	7,12±0,26	7,39±0,33	6,89±0,23	6,76±0,19
OS/BS, %	18,33±0,34	18,10±0,15	19,65±0,43	21,10±0,41*	18,42±0,29	17,09±0,55
Ob.S/BS, %	22,53±0,29	24,64±0,65*	20,69±0,36	21,73±0,26*	18,24±0,11	17,34±0,36*
ES/BS, %	4,13±0,10	4,25±0,19	4,19±0,05	4,27±0,21	4,29±0,05	4,52±0,07*
N.Oc, ед/мм ²	0,42±0,02	0,41±0,01	0,44±0,01	0,48±0,02	0,45±0,01	0,50±0,02*
Cn-BV/TV, %	39,71±0,51	40,18±0,45	41,26±0,53	44,86±0,57*	42,29±0,69	39,44±0,54*
Tb.N, ед/мм ²	13,4±0,25	13,40±0,26	13,35±0,28	13,21±0,22	14,44±0,25	13,65±0,22*
Tb.Th, мкм	49,99±0,44	50,43±1,33	51,43±0,36	54,77±0,63*	52,37±0,21	48,06±0,57*
Tb.Sp, мкм	144,83±1,40	144,06±1,38	140,41±2,06	135,09±1,13*	139,95±2,09	151,50±2,57*
N.Nd, ед/мм ²	4,15±0,08	4,21±0,17	4,46±0,11	4,71±0,21	5,23±0,07	4,81±0,21
N.Tm, ед/мм ²	5,38±0,17	5,10±0,07	5,53±0,11	5,41±0,04	5,12±0,17	5,64±0,20
Nd.Nd, мкм	304,84±4,60	302,25±7,61	290,63±3,76	291,51±2,46	298,29±5,58	311,58±2,03*
Nd.Tm, мкм	333,53±8,82	329,87±4,97	296,38±7,68	299,22±6,09	290,97±4,89	295,03±8,81
Tm.Tm, мкм	362,93±11,48	378,75±8,64	371,67±12,01	345,21±9,45	393,60±13,27	371,95±2,29
V*, мм ³	60,62±1,53	60,55±0,72	57,69±1,49	53,09±0,95*	58,81±0,92	65,21±0,96*

Примечание: * – ($p \leq 0,05$).

характеризуется высокой степенью сцепленности, на что указывает уменьшение в сравнении с контролем на 7,98% ($p \leq 0,05$) показателя V*.

Воздействие 60-кратных перегрузок приводит к развитию изменений иной направленности. Уменьшение относительно Cn-BV/TV на 6,74% ($p \leq 0,05$) свидетельствует об уменьшении массы костного вещества во вторичной спонгиозе большеберцовых костей и начале формирования отрицательного костного баланса у животных данной серии. Происходит это как за счет активации остеорезорбции, так и незначительного угнетения костеобразования. О первом явлении свидетельствует увеличение относительно контроля показателей N.Oc и ES/BS на 11,11% ($p \leq 0,05$) и 5,28% ($p \leq 0,05$) соответственно, отражающих количество остеокластов в единице площади и доли костной ткани, покрытой резорбционными лакунами; о втором – значительное, хотя и статистически недостоверное, уменьшение показателя OS/BS на 7,20% ($p \geq 0,05$) и уменьшение доли костной ткани, покрытой остеобластами (Ob.S/BS) на 4,93% ($p \leq 0,05$). Говоря о структурной организации трабекулярной сети, нами выявлено уменьшение в сравнении с контрольными данными числа трабекул на 5,51% ($p \leq 0,05$) за счет исчезновения, в первую очередь

горизонтальных, их истончение (Tb.Th меньше контрольных значений на 8,23%, $p \leq 0,05$). Это привело к закономерному увеличению расстояния между трабекулами (Tb.Sp превышал данные контроля на 8,26%, $p \leq 0,05$). Увеличение количества свободных окончаний на 10,22% ($p \geq 0,05$) сочеталось с уменьшением количества соединений на 8,09% ($p \geq 0,05$) и увеличением дистанции между ними на 4,45% ($p \leq 0,05$). Обнаруженное увеличение относительно контроля показателя V* на 10,88% ($p \leq 0,05$) указывает на разобщенность компонентов трабекулярной сети.

Ведущую роль в механизме развития выявленных изменений играет расстройство регионарного кровообращения, развивающееся под действием гипергравитации. Гемодинамические нарушения возникают, на наш взгляд, вследствие двух причин. Во-первых, под действием ГП в организме происходит перемещение массы циркулирующей крови в соответствии с вектором перегрузки [7]. Во-вторых, в условиях гипергравитации мышцы туловища и конечностей находятся в состоянии напряжения или статической нагрузки [8], что вызывает дополнительные механические напряжения в костях под действием повышенной мышечной активности. Усиленная мышечная тяга приводит к возникновению де-

формаций непосредственно в костной ткани, что, само по себе, служит активатором процессов ее перестройки [9]. Немаловажным патогенетическим фактором является и нарушение прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза, наблюдаемое при значительных по величине ГП [10].

Выводы и перспективы дальнейших исследований. 1. Десятикратное гипергравитационное воздействие не оказывает заметного влияния на костную ткань, а после 30 сеансов отмечается активация костеобразования, трабеку-

лярная сеть характеризуется повышенной сцепленностью. 2. При наибольшей кратности действия (60) гравитационные перегрузки вызывают активацию остеорезорбции и незначительное угнетение костеобразования, и, как следствие, утрату костных трабекул и разобщенность компонентов трабекулярной сети. 3. Целесообразно установить закономерности изменения процессов перестройки и архитектоники костной ткани под действием гравитационных перегрузок на разных этапах онтогенеза.

Литература

1. Моисеев Ю.Б. Большие пилотажные перегрузки и дегенеративно-дистрофические изменения позвоночника у летчиков: новая проблема? / Ю.Б.Моисеев // *Авиакосмич. и экол. медицина.* – 1997. – Т. 31, № 6. – С. 11-13.
2. Власов В.В. Заболевания позвоночного столба и профессиональное долголетие летного состава / В.В.Власов, С.Г.Пищук // *Авиакосмич. и экол. медицина.* – 2000. – Т. 34, № 1. – С. 49-53.
3. Пикалюк В.С. Модификация методики гистологического исследования костной ткани [Электронный ресурс] / В.С.Пикалюк, С.А.Кутя, Д.В.Шадуро // *Морфол.* – 2010. – Т. IV, № 3. – С. 72-76. – Режим доступу до журн.: <http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Morphology/>.
4. 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.
5. Garrahan N.J. A new method for the two-dimensional analysis of bone structure in human iliac crest biopsies / N.J.Garrahan, R.W.Mellish, J.E.Compston // *J. Microsc.* – 1986. – Vol. 142 (Pt3). – P. 341-349.
6. Vesterby A. Star volume in bone research. A histomorphometric analysis of trabecular bone structure using vertical sections / A.Vesterby // *Anat. Rec.* – 1993. – Vol. 235, № 2. – P. 325-334.
7. Основы космической биологии и медицины [под ред. О.Г.Газенко, М.Кальвина]. – Т. 2. – М.: Наука, 1975. – 420 с.
8. Бухтияров И.В. Сравнительная характеристика показателей газоэнергообмена при воздействии боковых (G_y), продольных (G_z) и продольно-боковых перегрузок (G_z/G_y) / И.В.Бухтияров, О.Л.Головкина // *Авиакосмич. и экол. медицина.* – 2005. – Т. 39, № 5. – С. 10-13.
9. Корнилов Н.В. Адаптационные процессы в органах скелета / Н.В.Корнилов, А.С.Аврунин. – СПб.: МОПСАР АВ, 2001. – 269 с.
10. Карбашевська Н.Я. Окиснювально-антиоксидантний статус щурів за умов гіпергравітації / Н.Я.Карбашевська, С.А.Олійник, Ю.М.Білоконь [та ін.] // *Фізіол. ж.* – 2001. – Т. 47, № 5. – С. 77-81.

ОСОБЕННОСТИ ПЕРЕСТРОЙКИ И МИКРОАРХИТЕКТониКИ ГУБЧАТОГО ВЕЩЕСТВА БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЕЙ КРЫС ПРИ ГРАВИТАЦИОННЫХ ПЕРЕГРУЗКАХ

Резюме. Приведены результаты исследования действия поперечных гравитационных перегрузок на процессы перестройки и архитектурной организации губчатого вещества костей крыс методом гистоморфометрии. Десятикратное гипергравитационное воздействие не оказывает заметного влияния на костную ткань, а после 30 сеансов отмечается активация костеобразования, трабекулярная сеть характеризуется повышенной сцепленностью. При наибольшей кратности действия (60) гравитационные перегрузки вызывают активацию остеорезорбции и незначительное угнетение костеобразования, и, как следствие, утрату костных трабекул и разобщенность компонентов трабекулярной сети.

Ключевые слова: гравитационные перегрузки, губчатое вещество костей, перестройка, микроархитектоники.

SPECIFIC CHARACTERISTICS OF THE RECONSTRUCTION AND MICROARCHITECTONICS OF THE SPONGY SUBSTANCE OF THE RAT TIBIA UNDER GRAVITATIONAL OVERLOADS

Abstract. The authors present the results of a study of the action of transversal gravitational overloads on the processes of rearrangements of the architectural organization of the spongy substance of bones, using the method of histomorphometry. A tenfold action of hypergravitation does not reveal a considerable effect on the osseous tissue and after 30 sessions an activation of the bone formation is observed, the trabecular network is characterized by enhanced cohesion. In case of the highest multiplicity of action (60) gravitational overloads induce an activation of osteoresorption and a slight inhibition of the bone formation and, as a consequence, a loss of the bony trabeculae and a disconnection of the components of the trabecular network.

Key words: gravitational overloads, bony spongy substance, rearrangement, microarchitectonics.

Crimean State Medical University named after S.I.Georgievs'kyi (Simferopol)

Надійшла 06.04.2011 р.
Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)