УДК 616.721-018-092.9:576.385.2

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ ХРЕБЦІВ У ТВАРИН МОЛОДОГО ВІКУ ЗА УМОВ ДІЇ ГІПООСМОЛЯРНОЇ ГІПЕРГІДРАТАЦІЇ ТА В ПЕРІОД РЕАДАПТАЦІЇ

Г. Ф. Ткач , *канд. мед. наук, доцент,*
Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми

Мета дослідження – на основі морфологічного аналізу встановити особливості структурної організації хребців тварин молодого віку, що перебували в умовах гіпергідратації організму. Виконане в порівняльному аспекті дослідження показало, що у хребцях тварин, які перебували в умовах водної інтоксикації, відбуваються помітні зміни архітектоніки пластинки росту і кісткових трабекул.

Ключові слова: *кістка, гіпергідратація, щурі, гістологія хребців.*

Цель исследования – на основе морфологического анализа установить особенности структурной организации позвонков животных молодого возраста, находившихся в условиях гипергидратации организма. Выполненное в сравнительном аспекте исследование показало, что в позвонках животных, находившихся в условиях водной интоксикации, происходят заметные изменения архитектоники пластинки роста и костных трабекул.

Ключевые слова: *кость, гипергидратация, крысы, гистология позвонков.*

ВСТУП

Кісткова тканина (КТ) відображає загальні процеси, що відбуваються в організмі, і є інформативним показником впливу різноманітних чинників зовнішнього та внутрішнього середовищ [1, 2, 3]. Кістка є живою тканиною, в якій постійно відбуваються процеси внутрішньої руйнації та відновлення структурних компонентів [4, 5]. У клінічній практиці досить часто спостерігається патологія водно – електролітного балансу (ВЕБ), яка може ускладнювати чи порушувати перебіг структурнофункціонального стану кісткової тканини людей [6, 7].

Усе це зумовлює постійний інтерес до скелета як об’єкта морфологічних досліджень, а сучасні відомості про його будову за умов водно – електролітного дисбалансу дозволяють розширити уявлення про етіологію та патогенез захворювань опорно-рухового апарату.

Мета дослідження – на основі морфологічного аналізу встановити особливості структурної організації кісткових трабекул та пластинки росту хребців тварин молодого віку, що перебували в умовах гіпергідратації та реадаптації до неї.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведене на 54 безпорідних білих щурах-самцях статевонезрілого віку (3 та 4 місяців) масою 110–120 грамів. Ці тварини відрізняються від інших невеликим життєвим циклом і безперервним ростом, що дозволяє впродовж обмеженого проміжку часу простежити закономірність росту й формоутворення кісток. Ці тварини близькі до людини за загальними показниками водного обміну. Усі тварини були поділені на контрольну та експериментальну серії. Контрольна серія була представлена інтактними щурами, які перебували в звичайних умовах віварію.

Експериментальна серія представлена щурами статевонезрілого віку, яким моделювали гіпоосмолярну гіпергідрію легкого, середнього та тяжкого ступенів. Для досягнення гіпергідратації тваринам внутрішньошлунково вводили дистильовану воду в кількості 10 мл тричі на добу. Як їжу використовували виварені знесолені продукти для зменшення надходження солей в організм. Для запобігання фізіологічній корекції водного гомеостазу і досягнення необхідного ступеня гідратації щурам вводили синтетичний аналог АДГ (вазопресину) – "Мінірин" (Ferring) два рази на добу дозою 0,01 мг. Тривалість моделювання гіпергідратації залежала від її ступеню: легкий

ступінь досягався за 5 днів (ріст гідратації збільшується на 5%), середній ступінь гідратації – за 10 і тяжкий ступінь – за 15 днів (ріст гідратації збільшується відповідно на 8 і 15%).

По закінченні термінів моделювання гіпергідрії тварин виводили з досліду шляхом передозування парами ефіру й проводили їх скелетування. Для вивчення реадаптаційних процесів після досягнення тяжкого ступеня гіпергідратації щурів переводили на звичайний питний та харчовий режим і через 7, 14, 21 та 30 діб після закінчення експерименту виділяли III поперековий хребець. Загальновизнано, що остеодеструктивні зміни раніше всього розвиваються в поперековому відділі хребта [8]. Утримання тварин та експерименти проводили відповідно до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Гельсінської декларації Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000) .

Для подальшого гістологічного дослідження кістки фіксували у нейтральному 10% формаліні. Зрізи після декальцинації блоків та стандартної парафінової проводки забарвлювали гематоксиліном та еозином і за Ван-Гізоном. Отримані препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа "OLIMPUS". Зображення зберігали на вінчестері з подальшим друком кольорових ілюстрацій. Морфометричні дослідження проводили за допомогою комп'ютерних програм "Видео Тест 5,0" та "SEO ImageLab 1,0". У поперековому хребці визначали ширину хрящової пластинки росту, товщину компактного шару, об'ємну щільність первинної та вторинного спонгіозів, довжину трабекул первинного спонгіозу та кількість остеобластів у первинному спонгіозі.

Отримані цифрові результати обробляли статистично на персональному комп'ютері з використанням пакета статистичних програм. Вірогідність різниці результатів оцінювали з використанням критерію Стьюдента, достатньою вважали вірогідність помилки менше 5% ($p<0,05$).

Мікроскопічно поперековий хребець представлений компактною та губчастою речовиною, що розміщена переважно у тілі хребця. Об'єм первинного та вторинного спонгіозів у щурів молодого віку є майже статичним: відсоток первинного спонгіозу дорівнює (65,61±0,21) %, вторинного – (36,03±0,09) %. Довжина трабекул первинного спонгіозу (163,94±2,44) мкм. Кількість остеобластів первинного спонгіозу (23,02±0,12). Компактний шар хребця тварин молодого віку дорівнює (59,06±0,09) мкм. Ідентифікуються всі зони пластинки росту (ПР), а ширина її при цьому становить(178,07±0,93) мкм.

Зміни структури поперекового хребця за умов легкого та середнього ступенів гіпоосмолярної гіпергідратації мають мінімальний характер. Лише спостерігається зменшення об'ємної щільності первинної спонгіози на 6,33 % ($p \leq 0,05$) та 6,93 % ($p \leq 0,05$) відповідно, що свідчить про незначне уповільнення процесів кісткового синтезу. Відмічається також мозаїчність забарвлення трабекул первинного та вторинного спонгіозів за умов середнього ступеня гіпергідрії та зменшення кількості остеобластів на поверхні трабекул у середньому на 9,94% ($p \leq 0,05$) (рис. 1). За умов середнього ступеня гіпергідрії зростає кількість сполучної тканини в хрящовій пластинці росту хребця та спостерігається її звуження в середньому на 10,32% ($p \leq 0,05$). Цитоплазма хондроцитів слабовиражена, нерівномірно забарвлюється еозином та містить численні дрібні оптично прозорі вакуолі. Порівняно з контрольними зразками зростає кількість клітин із пікнотичним ядром і плазморексисом цитоплазми.

Тяжкий ступінь гіпергідрії призводить до структурних змін компактної, губчастої речовини та пластинок росту (ПР) поперекового хребця, які мають яскраво виражений деструктивний характер. У ПР трапляються кластери з 5–6 клітин із базофільною цитоплазмою і центрально розміщеним ядром. Ці хондроцити є типовими клітинами ізогенної групи, які не формують колонкової структури. Крім того, площина їх розподілу не має суворої векторної спрямованості.

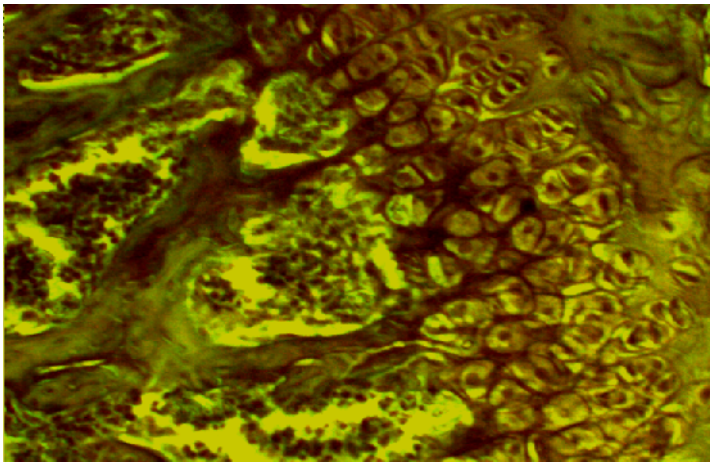

Рисунок 1 – Поперековий хребець щура молодого віку за умов середнього ступеня гіпоосмолярної гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х *360*

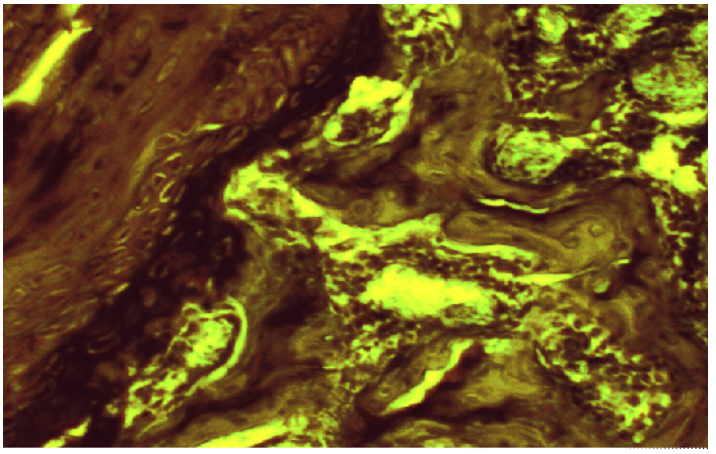

Рисунок 2 – Поперековий хребець щура молодого віку за умов 30 - денної реадаптації після тяжкого ступеня гіпоосмолярної гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. х *360*

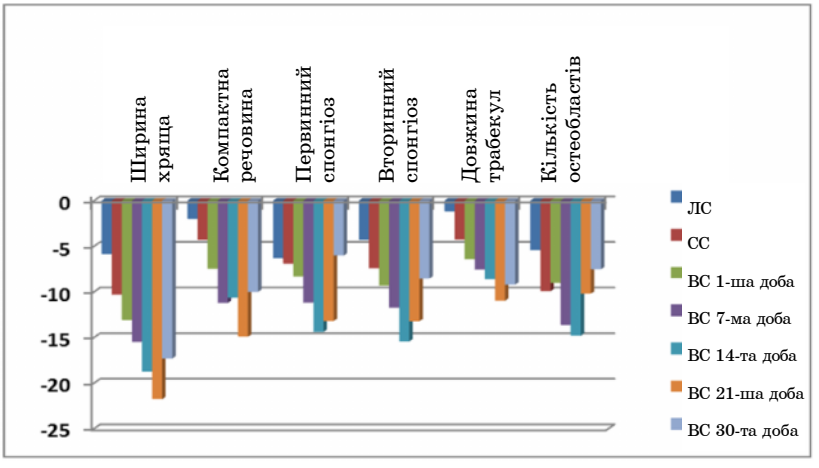

Рисунок 3 – Динаміка змін морфометрії поперекового хребця тварин молодого віку за умов гіпоосмолярної гіпергідрії різного ступеня та в періоди реадаптації

У процесі реадаптації в пластинці росту хребця проходили інерційні зміни. На 7-му добу в центрі зони проліферувального хряща відбувається формування судинних каналів. Деструкція хрящового матриксу в товщі цієї ПР призводить до його осифікації і початку формування примітивних кісткових балок, на периферії яких розміщуються нечисленні остеобласти. Порівняно з контрольними зразками стовпчасті структури викривлені, місцями звужені, а в окремих випадках не визначаються. За морфологічними характеристиками клітини цієї зони неоднорідні. На 14-ту добу загальна товщина ПР значно звужена і представлена 2–3-ма шарами клітин проти 5–6-ти в нормі. У зоні енхондрального остеогенезу відбувається глибока інвазія кровоносними судинами. Дистрофія матриксу і кальцифікація здійснюються аж до клітин зони проліферації. Це призводить до практично повного зникнення гіпертрофічних клітин та інтенсивного заміщення хряща в зоні дозрівання і гіпертрофії первинної грубоволокнистої кісткової тканини, яка щільно перекриває ПР на рівні зони проліферації. При гістологічному дослідженні ПР хребців на 21-шу добу порівняно з тваринами попереднього терміну спостереження продовжується подальше звуження зони колонкових структур і гіпертрофованого хряща. Крім того, клітини зони пластинки росту зберігають атипову структуру, а у зоні енхондрального остеогенезу судини інвазують хрящовий матрикс. На 30-ту добу реадаптації зона колонкових структур і гіпертрофованого хряща вже має тенденцію до збільшення, а клітини зони пластинки росту починають набирати типового характеру.

Кортикальна пластинка при тяжкому ступені гіпергідрії порівняно з контролем витончена на 7,47% ($p \leq 0,05$) та продовжує звужуватися в періоди реадаптації відповідно до термінів спостереження на 7-му добу на 11,23% ($p \leq 0,05$), на 14-ту – на 10,65% ($p \leq 0,05$), на 21-шу – на 14,93% ($p \leq 0,05$) і на 30-ту – на 10,02% ($p \leq 0,05$).

У компактній речовині наявні порожнини резорбції, кількість яких зростає аж до 21-ї доби реадаптаційного періоду. І хоча відновлення структури компактної речовини починається на 21-й день спостереження, але навіть через 1 місяць структурні зміни мають ще загрозливий характер (рис. 2).

Губчаста речовина хребця, яка представлена первинним та вторинним спонгіозами, характеризується зменшенням їх об'ємної щільності, звуженням товщини та зменшенням довжини трабекул. Ці показники зменшуються навіть у періоди реадаптації, і лише через 30 днів після закінчення експерименту відмічається позитивна динаміка (рис. 3). В цей термін об'ємна щільність первинного та вторинного спонгіозів менша за контроль на 6,03% ($p \leq 0,05$) та 8,55% ($p \leq 0,05$), а довжина трабекул первинного спонгіозу – на 9,22% ($p \leq 0,05$). Кількість остеобластів зменшується через 1 добу на 11,83% ($p \leq 0,05$) та прогресивно знижується до 21-ї доби, коли різниця з контролем становить 13,74% ($p \leq 0,05$). Лише через 30 днів реадаптаційного процесу відмічається деяке зростання їх кількості, хоча різниця з контролем все ще становить 10,22% ($p \leq 0,05$).

ВИСНОВКИ

Результати проведеного морфологічного аналізу поперекових хребців тварин молодого віку за умов гіпоосмолярної гіпергідрії різного ступеня та в різні періоди реадаптації дозволяють цілком обґрунтовано зробити висновок, що гіпергідратація організму тяжкого ступеня призводить до розвитку виражених структурних змін кісткової тканини тіл хребців. Деструктивні явища матриксу хрящової тканини ПР можуть бути віддзеркаленням локального прояву гіпоосмолярної гіпергідрії, що, зрештою, обумовлює порушення росту осьового скелета щурів молодого віку.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ У ДАНОМУ НАПРЯМКУ

У подальшому планується вивчення структурно – функціональних змін кісток скелета у тварин різного віку в реадаптаційний період після тяжкого ступеня гіпергідрії та обґрунтування можливості корекції їх пошкоджувальної дії помірними динамічними фізичними навантаженнями.

SUMMARY

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL FEATURES OF THE VERTEBRAE IN YOUNG ANIMALS UNDER THE EFFECT OF HIPOOSMOLAR OVERHYDRATION AND READAPTATION

Tkach G.F.,
Medical Institute of Sumy State University

The purpose of the study - based on morphological analysis of structural features of vertebral in young age animals who were in conditions of hydration. Accomplished in a comparative aspect study found that in animals that were under water intoxication, compared with the control group, there are changes of growth plate architectonics and bone trabeculae in the vertebrae.
Key words: *Bone, overhydratation, rats, histology of vertebrae*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гопкалова И. В. Морфология костной ткани тел позвонков у самцов крыс после орхиэктомии и введения L – тироксина / И. В. Гопкалова, Н. В. Дедух, Н. А. Ашукина [и др.] // Проблеми ендокринної патології. – 2009. – №4. – С. 94–102.
2. Макеев А. А. Морфофункциональная организация пластинки роста тела позвонка крыс в условиях глюкокортикоид – индуцированного окислительного стресса и применения антиоксиданта тиофана / А. А. Макеев, А. В. Сахаров, А. Е. Просенко // Вестник КрасГАУ. – 2009. – № 6. – С.105–108.
3. Сак А. Е. Поражение инсерционного аппарата тел позвонков при различных условиях двигательной активности / А. Е. Сак // Слобожанський науково – спортивний вісник. – 2011. – № 1. – С. 84–87.
4. Пикалюк В. С. Современные представления о биологии и функции костной ткани / В. С. Пикалюк, С. О. Мостовой // Таврический медико – биологический вестник. – 2006. – Т. 9, № 3, Ч.І. – С. 186–194.
5. Frost H. M. Perspectives: bone's mechanical usage windows / H. M. Frost // Bone Min. – 1992. – № 19. – P.257–271.
6. Амосова Е. Н. Периферические отеки / Е. Н. Амосова, Л. Л. Сидорова // Therapia. – 2006. – №2. – С.18–20.
7. Edward M. Stricker Osmoregulation in water-deprived rats drinking hypertonic saline: effect of area postrema lesions / Edward M. Stricker, Carl F. Craver, Kathleen S. Curtis // J. Physiol Regulatory Integrative Comp. Physiol. the American Physiological Society. - 2001. - № 280. – P. R831–R842.
8. Остеопороз: епидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение: [монография] / Н. А. Корж, В. В. Поворознюк, Н. В. Дедух, И. А. Зупанец. – Х.: Золотые страницы, 2002. – 648 с. – (Акад. мед. наук Украины).

Надійшла до редакції 26 грудня 2011 р.