

Г.Ф.Ткач

Сумський державний
університет

Ключові слова: кістка,
щури, гіпергідратація,
епіфізарний хрящ, гі-
стологія.

Надійшла: 22.07.2008

Прийнята: 10.09.2008

УДК [616.71-066:616-008.811.1]-092.9

ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ГІПЕРГІДРАТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ НА СТАН КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ У МОЛОДИХ ТВАРИН

Дослідження є складовою частиною науково-дослідної роботи "Морфофункціональні особливості перебудови скелета та внутрішніх органів в умовах порушеного гомеостазу" (№ державної реєстрації 0107U001287).

Резюме. Мета дослідження – на основі морфологічного аналізу встановити особливості структурної організації проксимального наросткового хряща плечових кісток тварин молодого віку, що перебували в умовах гіпергідратації. Виконане в порівняльному аспекті дослідження гістоморфометричних параметрів кісткової тканини у статевонезрілих тварин перебувавших в умовах водної інтоксикації супроводжується пригніченням кістковоутворюючої функції наросткового хряща, а саме - звуженням зони проліферації (на 3,36 - 6,24%) і зменшенням кількості остеобластів (3,33 - 5,37%). Зміни інших вивчених нами параметрів є лише наслідком зниження показників вищезгаданих параметрів.

Морфологія. - 2008. - Т. II, № 4. - С. 51-55.

© Г.Ф.Ткач, 2008

Tkach G.F. Histomorphometrical estimation of the organism hyperhydratation influence on bone tissues condition in young animals.

Summary. The purpose of the study - basing on morphological analysis to estimate the particularities of structural organization of proximal cartilage epiphysis of the shoulder bones in young animals, which were exposed to hyperhydratation conditions. According to comparative aspect, investigation of histomorphometrical parameters of bone tissue in young animal, that were exposed to water intoxication, was accompanied with oppression of bone formation, namely - narrowing of the proliferation zone (on 3,36 - 6,24%) and reduction in osteoblasts amount (3,33 - 5,37%). The other investigated parameters, change only because of the changes in above-mentioned parameters.

Key words: bone, rats, hyperhydratation, epiphysis cartilage, histology.

Вступ

За останні роки доведено, що кістки скелету і ті процеси, що в них проходять при фізіологічних і патологічних умовах існування організму, постійно привертають до себе увагу фахівців в області фундаментальних досліджень, морфологів і лікарів, що практикують (Аврунин А.С. та співавт., 2001).

Тісно пов'язана із загальним обміном речовин організму, кістка виконує не тільки опорно-рухову, але й таку життєво важливу біологічну функцію, як депо мінеральних речовин, які приймають участь у водно-електролітному обміні (Федонюк Я.І. та співавт., 1994).

Порушення водно-електролітного обміну у вигляді надлишкової кількості води в організмі з відносним дефіцитом електролітів (так зване водне отруєння, або водна інтоксикація, гіпоосмолярна гіпергідрія) утворюється при введенні в організм великої кількості прісної води або розчину глюкози при недостатньому виділенні рідини, або при проведенні гомотрансплантації.

Гіпергідрія організму проявляється у вигляді набряків, які, частіше спостерігаються при захворюваннях нирок, хронічної печінкової недостатності, підвищеної проникності судинних стінок та при серцевій патології (Каладзе Н.Н., Титова Е.В., 2003).

При водному отруєнні розвивається гіпонатріємія, гіпокаліємія, наростає об'єм позаклітинної рідини, що клінічно проявляється нудотою й блювотою, які підсилюється після споживання води, причому блювота не приносить полегшення. Збільшення води у клітинних структурах мозку проявляється сонливістю, головним болем, посмикуванням м'язів, судомами. У важких випадках водного отруєння розвиваються набряк легенів, асцит, гідроторакс.

Система регуляції водно-сольового обміну у дитячому віці більш вразлива, чим у дорослих, що може легко призвести до більш значних коливань та порушень кісток скелету (Пикалюк В.С., Мостовой С.О., 2006).

Отже, дослідження проблеми водної інток-

сикації організму та її впливу на кістки скелету, які приймають участь у підтриманні гомеостазу шляхом водно-електролітного обміну, має не тільки теоретичне, але й практичне значення для медицини.

У доступній нам літературі є ряд робіт (Сикора В.З., Ткач Г.Ф., 2001, Bilezikian J.P. et al, 2002), в яких доведено, що порушення водно-електролітного обміну організму супроводжуються морфофункціональними змінами в структурі кісток скелету.

Знання механізмів дії вищеперахованих факторів на такий важливий орган, яким є кістки скелету, що безпосередньо приймають участь у водно-електролітному обміні, дасть можливість попереджувати небажані наслідки цієї дії.

Мета

На основі морфологічного аналізу встановити особливості структурної організації проксимального наросткового хряща плечових кісток тварин молодого віку, що перебували в умовах гіпергідратації.

Матеріали та методи

Дослідження проведене на 28 білих безплідних щурах - самцях статевонезрілого віку з масою 110-120 грам. Ці тварини відрізняються від інших невеликим життєвим циклом і безперервним ростом, що дозволяє протягом обмеженого проміжку часу простежити закономірність росту й формоутворення кісток. Ці тварини близькі до людини за загальними показниками водного обміну.

У практиці критичних станів при гіпергідратаційному впливі відповідно до класифікації (Корячкин В.А., 2001) розрізняють 3 ступеня органних ушкоджень у регуляції водного балансу: 1) дисфункція (легка або помірна); 2) недостатність (середня або виражена) і 3) неспроможність (важка або поза межю). Для постановки експерименту ми скористалися даною класифікацією порушення водного гомеостазу, де діагностичним критерієм гіперосмолярної гіпергідратації є показник, відомий у літературі як "дискримент осмольності", що визначається по різниці значень обмірюваної й розрахованої по формулі Dorvant (Корячкин В.А., 2001).

Осмольність плазми (у мосм на 1 кг води) = $1,86 \text{ Na (у моль/л)} + \text{глюкоза (у моль/л)} + \text{сечовина (у моль/л)} + 9$. Аналізуючи критерії ваги порушень осмотичного балансу розрізняють три ступені гіпергідратації: легка, 330 мосм/л, середня, до 340 мосм/л і важка, вище 350 мосм/л.

Утримання тварин і експерименти проводилися відповідно до положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів і інших наукових цілей" (Страсбург, 1985), "Загальних етичних принципів експериментів на тварин", прийнятих Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Хельсинської декларації Генеральної

асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000).

Всіх тварин поділили на 2 серії, з яких перша була контрольна, а друга експериментальна. Тварин експериментальної групи поділили на 3 групи, яким моделювали гіпоосмолярну гіпергідрію 3-х ступенів важкості. Для досягнення гіпергідратації у тварин щодня зондово вводили дистильовану воду в кількості 10 мл тричі на добу. Також використовували виварені знесолені продукти для зменшення надходження солей в організм. Для запобігання фізіологічній підтримки водного гомеостазу й досягнення необхідного ступеня гідратації щурам вводили синтетичний аналог АДГ (вазопресина) – "Минирин" (Ferring), два рази на добу в дозі 0,01 мг. Тривалість моделювання гіпергідратації залежала від її ступеня: легкий ступінь - досягається за п'ять днів експерименту, ріст гідратації зростав на 5% відносно контрольної групи, середній ступінь гіпергідратації досягається за 10 днів експерименту (гідратації зростає на 8%) і важкий ступінь - ріст гідратації на 15% за 15 днів. По закінченню строків моделювання гіпергідрії тварини виводилися з експерименту шляхом передозування парами ефіру й проводили їх скелетування. Для подальшого гістологічного дослідження проксимальний наростковий хрящ плечової кістки фіксували у нейтральному 10% формаліні. Зрізи після декальцинації блоків та стандартної парафінової проводки забарвлювали гематоксином та еозином і за Ван-Гізона. Отримані препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа "OLIMPUS". Зображення зберігали на віньєтці з наступним друком кольорових ілюстрацій.

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

Результати та їх обговорення

При гістологічному та морфометричному дослідженні наросткового хряща проксимального відділу плечової кістки у тварин, які перебували в умовах легкого ступеня гіпергідратації, не виявлено значної різниці у будові хрящової пластинки, яка має типову структуру з чітко візуалізованими зонами, згідно класифікації В.Г.Ковешнікова (2002).

Хондроцити знаходяться у первинних лакунах, по дві три дочірні клітини. Хрящові клітки мають кулясті ядра. Трохи менше кліток зі сплюсненим ядром. Диференціація молодих і зрілих хондроцитів ускладнена. Зона індиферентного хряща, що безпосередньо межує з губчастою речовиною епіфіза, представлена хаотично розкиданими великими масивами проміжної речовини з групами хондроцитів середнього розміру. У деяких місцях цієї зони хрящ відділяється від епіфіза порожнинами, що містять кровеносні

судини.

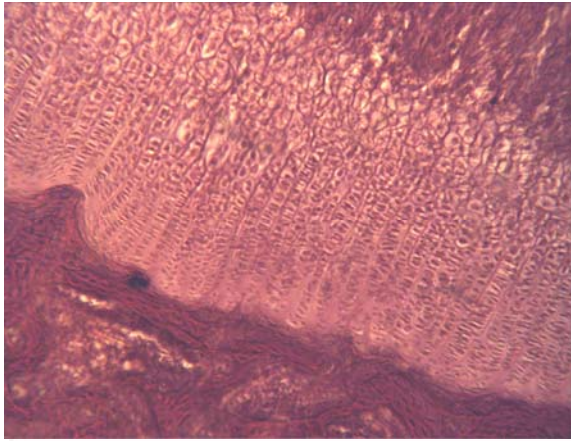


Рис. 1. Проксимальний наростковий хрящ плечової кістки щура молодого віку, що перебував в умовах гіпергідратації легкого ступеня. $\times 400$.

Зона проліферируючих кліток не змінена завширшки і чітко впорядкована. Там перебувають дрібні хондроцити, що формують колонки. Вони займають положення одна над одною і в такий спосіб формують стовпчики, розташовані перпендикулярно до площини наросткового хряща. У цих клітках виявляються численні фігури мітозів. Організація хрящових кліток у стовпчики підтримується пучками колагенових та еластичних волокон проміжної речовини, що йдуть у поздовжньому напрямку та відділяють сусідні колонки клітин. Число нових клітин для заміни тих, які відмирають у діафізарній частині наросткового хряща, трохи знижено.

Зона дефінітивного хряща містить хрящові клітки на різних стадіях дозрівання. Вони також організовані в стовпчики. Ті з них, які перебувають ближче до зони проліферації, найменш зрілі. Ті ж, які розташовані ближче до діафізу, найбільш зрілі. Клітки, що опинилися за цієї зоною поступово дозрівають. У ході цього процесу вони збільшуються, займають більше місця й тому наросткова хрящова пластинка збільшується. В умовах легкого ступеня гіпергідратації це відбувається трохи в уповільненому темпі. Зона дефінітивного хряща зливається з наступної.

Зона деструкції дуже тонка, її товщина відповідає діаметру однієї або декількох кліток, однак виміряти її дуже складно, тому що вона не має чітких границь із сусідніми ділянками. Ця зона межує безпосередньо з діафізом, звідки в неї проникає капіляри й остеогенні клітини. Міжклітинна речовина навколо хрящових кліток стає більше кальцинованою і хондроцити зазнають руйнування.

В умовах середнього ступеня гіпергідратації організму наростковий хрящ проксимального відділу плечової кістки на 2,90% вужчий, ніж у контрольних тварин, в основному за рахунок

зони проліфериуючого хряща, який зменшений на 3,36%. Зона індіферентного хряща не зазнає особливих змін. Різко розширюється шар деструктивних клітин, які мають неправильну форму та оточені вузькою зоною енхондральної кістки та ділянками кальцифікації (рис.2).

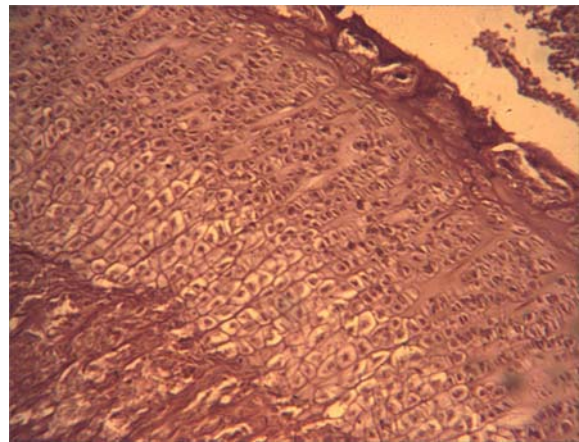


Рис. 2. Проксимальний наростковий хрящ плечової кістки щура молодого віку, що перебував в умовах гіпергідратації середнього ступеня. Забарвлення за Ван-Гізон. $\times 400$.

Шар остеїду відмежований від міжбалочних просторів одним або двома рядами остеобластів, число яких у первинній спонгіозі знижено на 1,05%. У шарі енхондрального скостеніння міжбалочні простори не розширені. Об'єм всієї спонгіозі зменшений на 2,4%. Кісткові балки потоншені, зменшені в довжину на 1,06%. Міжбалочні комірки заповнені елементами кісткового мозку. Об'єм первинної спонгіозі зменшений у порівнянні з контролем на 6,36%, а її об'ємна щільність – на 0,48%, у той час як об'ємна щільність вторинної спонгіозі знижена на 1,23%. Візуально спостерігається виражене зниження синтетичних процесів у зоні дефінітивного хряща, ширина якого зменшена на 0,59%, і порушення рівноваги між резорбцією кісткової тканини і її приростом. Глибина проникнення хрящових трабекул у кістково-мозкову порожнину зменшена на 7,98%, а проникнення туди ж спонгіозі - на 2,29% менше, ніж у контрольних щурів. Губчаста тканина епіфіза представлена кістковими балками, а кістково-мозковий канал безпосередньо прилягає до метаепіфізарної пластинки. У ньому переважає жировий кістковий мозок. Об'єм хрящової тканини всієї спонгіозі зменшений на 8,79%, а у первинній спонгіозі - на 1,84%.

При важкому ступені водної інтоксикації наростковий хрящ проксимального відділу плечової кістки щура молодого віку має нерівні контури. Границі між зонами зглажені. Сам хрящ потоншений у порівнянні з контролем на 5,08%. Велика кількість проміжної речовини, що міститься між хондроцитами в колонках і між коло-

нками. Іноді хрящ представлений лише конгломератом клітин. Проліферативні процеси повільнюються. Найбільш значним перетворенням піддається зона проліферативного хряща, ширина, якого зменшена на 6,24%. Кількість клітинних елементів різко скорочується. Зона дефінітивного хряща зменшена на 1,78%, іноді представлена поодинокими клітинами. Повністю зникає шар кубічних клітин. Різко сплюснені клітки цієї зони втрачають поздовжньо – орієнтоване положення і складаються в невеликі ізогенні групи, позбавлені колонкоподібних структур (рис.3).

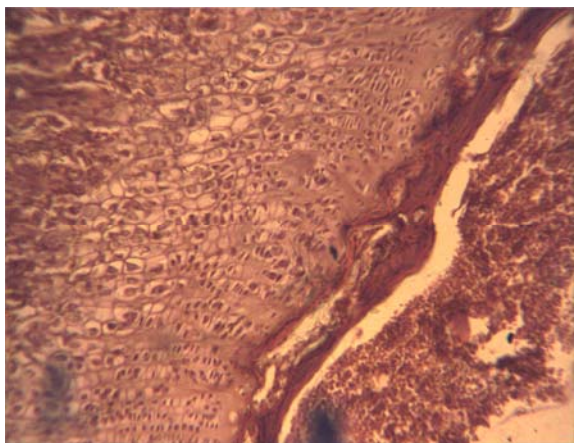


Рис. 3. Проксимальний наростковий хрящ плечової кістки щура молодого віку, що перебував в умовах гіпергідратації важкого ступеня. Забарвлення за Ван-Гізона. $\times 400$.

У зв'язку із цим створюється враження значного збільшення проміжної речовини. Залишки зони деструкції зберігаються лише в периферійних відділах, що безпосередньо примикають до перихондріальної кісткової манжетки. У зоні

остеогенезу канали первинних остеонів різко розширені. Об'єм всієї спонгіози зменшений на 5,97%. Більш значно зменшено об'єм первинної спонгіози - на 12,51%. Об'єм губчастої речовини у кісткових трабекулах зменшений, довжина їх знижена на 6,53%, скорочується число остеоцитів і остеобластів (на 5,37%). Основна речовина кісткових балок забарвлена різною інтенсивністю. Саме інтенсивність фарбування є маркером, що дозволяє диференціювати більш молоді остеοїдну тканину – первинну спонгіозу та більш зрілу – вторинну спонгіозу, що просякнута солями кальцію. Об'ємна щільність первинної спонгіози знижена на 1,08%, а вторинної - на 3,94%. Об'єм хрящової тканини в спонгіозі менший на 14,78%, зменшена ця величина й у первинній спонгіозі - на 4,56%. Глибина проникнення спонгіози у кістково-мозкову порожнину, у якій переважає жовтий кістковий мозок, зменшується на 5,58%, а хрящових поперечин - на 11,59%.

Підсумок

Таким чином, проведені дослідження дозволили зробити висновки, що структура наросткового хряща плечової кістки щурів молодого віку, які перебували в умовах гіпергідратації легкого ступеня, мікроскопічно суттєво не змінюється. Середній ступінь гіпергідратації у тварин призводить до розширення зони деструкції, істотного звуження зони проліферації та збільшення проміжної речовини в колонках хондроцитів. Відповідно за умов сублетальної гіпергідрії організму констатуються більш глибокі дистрофічні і деструктивні зміни в будові епіфізарної хрящової пластинки.

Перспективи подальших розробок

У подальшому планується дослідити аналогічні процеси росту кісток у тварин інших вікових груп.

Літературні джерела

Аврунин А. С. Перестройка минерального матрикса костной ткани / А. С. Аврунин, Н. В. Корнилов, И. Д. Иоффе, Б. Г. Емельянов // Морфология. - 2001. - № 2. - С. 37-40.

Каладзе Н. Н. Структурно-функциональные свойства костной ткани у детей с вторичным хроническим пиелонефритом / Каладзе Н. Н., Титова Е. В. // Український медичний альманах. - 2003. - № 2. - С. 81-82.

Ковешников В. Г. Костные ткани. – Луганск. – 2002. – 134 с.

Кожемякін Ю. М. Науково – практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. - К. : Авіцена, 2002. - 319 с.

Корячкин В. А. Клинические функциональ-

ные и лабораторные тесты в анестезиологии и интенсивной терапии. - СПб., 2001 – 256 с.

Пикалюк В. С. Современные представления о биологии и функции костной ткани / В. С. Пикалюк, С. О. Мостовой // Тавр. мед-биол. вестник. – 2006. - Т. 9, № 3. - С. 186-195.

Сикора В. З. Особенности роста, строения и формообразования костей скелета при общей дегидратации организма / В. З. Сикора, Г. Ф. Ткач // Український медичний альманах. - 2001. - № 5. - С. 143-145.

Федонюк Я. І. Особливості будови кісток скелету в реадaptaційний період після дегідратації організму / Я. І. Федонюк, В. З. Сікора, Л. Н. Баран [та ін.] // Ортопедия, травматология и протезирование. - 1994. - № 4. - С. 105.

Bilezikian J. P. Principles of Bone Biology /

John P. Bilezikian, Lawrence G. Raisz, Gideon A. Rodan. - [2-nd ed.]. - New York : Academic Press, 2002.

European convention for the protection of ver-

tebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of Europe. Strasbourg. – 1986. - № 123. – P. 52.

Ткач Г.Ф. Гистоморфометрическая оценка влияния гипергидратации организма на состояние костной ткани у молодых животных.

Резюме. Цель исследования - на основе морфологического анализа установить особенности структурной организации проксимального эпифизарного хряща плечевых костей животных молодого возраста, которые находились в условиях гипергидратации. Выполненное в сравнительном аспекте исследование гистоморфометрических параметров костной ткани у неполовозрелых животных перенесших водную интоксикацию сопровождается угнетением костеобразовательной функции эпифизарного хряща, а именно – сужение зоны пролиферации (на 3,36-6,24%) и уменьшение количества остеобластов (3,33-5,37%). Изменения остальных изученных нами параметров являются лишь следствием уменьшением показателей вышеупомянутых.

Ключевые слова: кость, крысы, гипергидратация, эпифизарный хрящ, гистология.