

УДК 616.71-018-092.9-06:612.392.3  
© Ткач Г.Ф., 2010

## МОРФОГЕНЕЗ КІСТОК СКЕЛЕТУ ЩУРІВ СТАРЕЧОГО ВІКУ В УМОВАХ ГІПЕРГІДРАТАЦІЇ ОРГАНІЗМУ

Ткач Г.Ф.

Медицинский Институт Сумського державного університету

**Ткач Г.Ф.** Морфогенез кісток скелету щурів старечого віку в умовах гіпергідратації організму // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 211-214.

Виконане в порівняльному аспекті дослідження гістоморфометричних параметрів кісток тварин старечого віку, що перебували в умовах гіпергідратації супроводжується пригніченням темпів ремодулювання та росту кісток скелету. Ступінь і спрямованість цих змін залежить від важкості впливу гіпергідратації.

**Ключові слова:** кістки скелета, ріст, щури, гіпергідратація.

**Ткач Г.Ф.** Морфогенез костей скелета крыс старого возраста в условиях гипергидратации организма // Украинский морфологический альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 211-214.

Выполненное в сравнительном аспекте исследование гистоморфометрических показателей костей животных старого возраста, которые находились в условиях гипергидратации, сопровождаются угнетением темпов ремоделирования и роста костей скелета. Степень и направленность этих изменений зависят от степени гипергидратации животных.

**Ключевые слова:** кости скелета, рост, крысы, гипергидратация.

**Tkach G.F.** The morphogenesis of the old rat's bones in conditions of overhydration // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 211-214.

The research executed in comparative aspect of hystomorphometric indicators of bones of animals of old age which were in hyperhydration conditions, has shown oppression of remodeling rates and growth of bones of a skeleton. Degree and an orientation of these changes depends on hyperhydration degree.

**Key words:** skeleton's bones, growth, rats, hyperhydration

**Вступ.** Кістка є фізіологічно динамічною тканиною не тільки в період кісткового росту і відновлення, але й протягом всього життя [1,2]. Цікавим є той факт, що ремодулювання людського скелету здійснюється більш активно, ніж у більшості інших ссавців, і збільшується з віком [3]. Підраховано, що у дорослих щорічно оновлюється приблизно 25% губчастої й близько 3% - кортикальної кістки [4,5].

У клінічній практиці досить часто зустрічається патологія водно-електролітного балансу, яка може ускладнювати чи порушувати перебіг структурно-функціонального стану кісткової тканини скелету [6]. Позитивний водний баланс (гіпергідратація, гіпергідрія) спостерігається при надлишковому введенні води в організм, а також при порушенні видільної функції нирок і шкіри, обміну води між кров'ю й тканинами, регуляції водно-електролітного обміну [7].

Морфометрія кістки і дотепер залишається єдиним методом прямого й точного аналізу механізмів ремодулювання на клітинному й тканинному рівні. За її допомоги можна оцінити й проміжний рівень організації кістки, що є кінцевим результатом активності остеобластів. У кортикальному шарі він представлений остеономом, а у губчастої речовини - так звана трабекулярна базисна структурна одиниця (trabecular basic structural unit - BSU). Кількісний підхід, що реалізується за допомогою гістоморфометрії кістки, повністю відповідає концепції дискретності ремодулювання кісткової тканини [8].

В літературі є поодинокі дані щодо вивчення впливу гіпергідратаційних порушень водно-сольового обміну на структурні перетворення кісток, вивчення якого й стало метою даного дослідження.

**Мета роботи** - вивчити гістоморфометрич-

ні закономірності перебудови кісток скелету щурів старечого віку в умовах гіпоосмолярної гіпергідрії легкого, середнього та важкого ступеню важкості.

**Матеріал і методи дослідження.** Дослідження виконане на 28 білих лабораторних щурах-самцях старечого віку - 20-ти місяців. Всі тварини були поділені на наступні серії: контрольну та експериментальну. І серія контрольна - була представлена інтактними щурами, які знаходилися в звичайних умовах віварію.

ІІ серія експериментальна - була представлена щурами старечого віку, яким моделювали гіпоосмолярну гіпергідрію легкого, середнього та важкого ступеню 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 фізіологічної 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 10 днів, коли ріст гідратації зростав на 5% відносно контрольної групи. Середній ступінь гіпергідратації досягається за 20, а важкий ступінь - за 25 днів (ріст гідратації зростав відповідно на 8% і 15%).

По закінченню строків моделювання гіпергідрії тварини виводилися з експерименту шляхом передозування парами ефіру й проводили їх скелетування. Для подальшого гістологічного дослідження плечові, клубові кістки та III- поперековий хребець фіксували у нейтральному 10% формаліні. Зрізи після декальцинації блоків та стандартної парафінової проводки забарвлювали гематоксин-

ліном та еозином і за Ван-Гізон. Отримані препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа "OLIMPUS". Зображення зберігали на вінчестері з наступним друком кольорових ілюстрацій.

Для вивчення особливостей перебігу структурної організації плечових кісток в умовах гіпергідратації використовували методи описання гістологічних зрізів з морфометрією діяфіза плечової кістки, сюди включалися наступні показники: ширина внутрішніх та зовнішніх навколишніх пластинок, ширина остеонного шару, площа діяфізу, площа кістково мозгового каналу, площа компактної речовини, діаметр остеонів, діаметр каналів остеонів, площа гаверсових каналів та площу остеоцитарних лакун.

Морфометрія клубових кісток та III поперекових хребців включала такі параметри: ширина хрящової пластинки росту, товщина компактної речовини, довжина трабекул первинної спонгіозити та кількість остеобластів на її поверхні.

Отримані дані обробляли статистично на персональному комп'ютері з використанням пакету прикладних програм "Excel". Достовірність розходження експериментальних і контрольних даних оцінювали з використанням критерію Стюдента, достатньою вважали ймовірність похибки менше 5% ( $p < 0,05$ ).

#### Результати дослідження та їх обговорення.

При гістологічному дослідженні діяфізів трубчастих кісток тварин, які зазнали впливу легкого ступеню гіпергідратації спостерігаються елементи інтенсивної функціональної перебудови. По-перше, гістологічні препарати погано сприймають барвник. По-друге, зональна будова має нечіткі границі зон, які є умовними. По-третє, наявність грубоволокнистої кісткової тканини, яка не встигає перетворюватися в пластинчасту. У четвертих - це поява мозаїчних ділянок, які по різному сприймають барвник (рис.1). При морфометричному аналізі цифрові показники також відрізняються від контрольних щурів. Так, внутрішні генеральні пластинки розширені на 4,73% ( $p > 0,05$ ), а зовнішні - на 3,74% ( $p > 0,05$ ). Остеонний шар звужений на 4,99% ( $p > 0,05$ ), а представлені в ньому перехідні форми остеонів зменшені у діаметрі, в середньому, на 3,87% ( $p > 0,05$ ). Діаметр каналів остеонів розширений на 3,58% ( $p > 0,05$ ). Площа гаверсових каналів збільшена на 4,85% ( $p > 0,05$ ), а площа діяфізу зменшена в середньому на 3,88% ( $p > 0,05$ ), за рахунок зниження товщини компактного шару на 2,65% ( $p > 0,05$ ). Кісткові клітини - остеоцити, сплюснені, найбільш добре зафарбовуються тільки їхні ядра, які розташовані в остеоцитарних лакунах, площа яких знижена на 5,21% ( $p < 0,05$ ). Площа кістково мозгового каналу збільшена, відносно контрольних показників на 2,25% ( $p > 0,05$ ).

При гістологічному вивченні діяфізів плечових кісток тварин, яким моделювався середній ступень гіпергідратації, привертає увагу різке вповільнення перебудови грубоволокнистої кісткової тканини в пластинчасту. Базофільні ділянки грубоволокнистої тканини з великими, щільно - розташованими остеонами, які зустрічаються по всьому

полі зору. Кісткова тканина має чисельні лінії склеювання, які розділяють генерації пластинчастої кістки, що відкалася з боку кісткових каналів (рис.2.). Відмічаються зони розшарування, остеопити з пікнотично зміненими ядрами, ділянки кістки з без'ядерними кістковими клітинами. Зона внутрішніх генеральних пластинок в порівнянні з контролем розширюється на 6,05% ( $p < 0,05$ ), а зовнішніх - на 5,12% ( $p < 0,05$ ). Остеонний шар нерівномірно звужений, у середньому, на 6,61% ( $p < 0,05$ ). Зустрічається велика кількість мозаїчних ділянок з нерівномірним фарбуванням та порожнини резорбції, навколо яких розташовуються остеопити з слабковираженим ядром. Діаметр остеонів зменшується на 4,52% ( $p > 0,05$ ), кількість вставних пластин збільшено, іноді вони виглядають як однорідна маса. Діаметр каналів остеонів збільшується на 5,38% ( $p < 0,05$ ), а площа гаверсових каналів - на 7,21% ( $p < 0,05$ ). По невеликій кількості оточующих канал кісткових кілець і по розширеному каналу можна говорити про значну кількість первинних генерацій остеонів. На 5,11% ( $p < 0,05$ ) стає тоншою компактна речовина, а також площа діяфізу - на 6,19% ( $p < 0,05$ ). З'являються безостеоцитарні ділянки кістки з порожніми лакунами. До речі, площа лакун знижена, у середньому, на 6,25% ( $p < 0,05$ ). Площа кістково мозгового каналу збільшується на 3,54% ( $p > 0,05$ ).

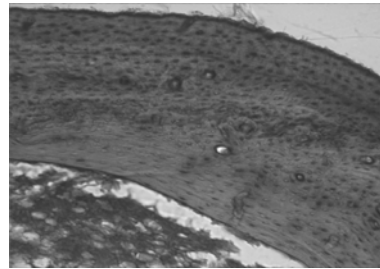


Рис.1. Діяфіз плечової кістки щура старечого віку, що перебував в умовах легкого ступеня гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Zoom x 280.

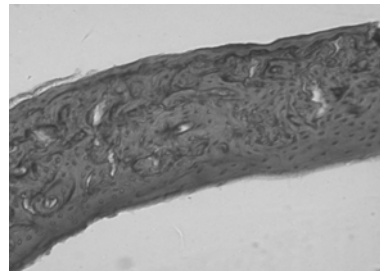
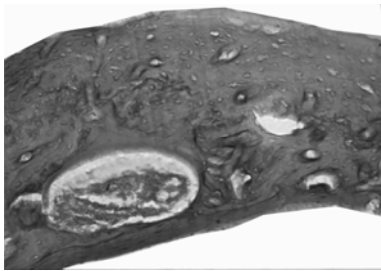


Рис. 2. Діяфіз плечової кістки щура старечого віку, що перебував в умовах середнього ступеня гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Zoom x 280.

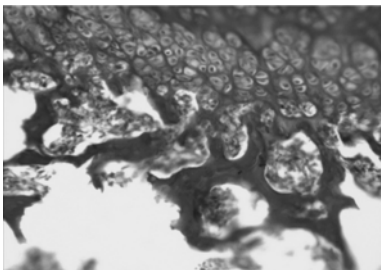
При сублетальній гіпергідрії у діяфізах плечових кісток крім елементів функціональної перебудови з'являються ділянки некрозу, заповнені аморфним вмістом. Ці порожнини розташовані найчастіше в остеонному шарі, звуженому в порівнянні з контролем на 13,82% ( $p < 0,05$ ). Базофільні ділянки грубоволокнистої кісткової тканини пере-

важають над пластинчастою. Є чисельні лінії склеювання, що розділяють генерації пластинчастої кістки, які утворилися з боку кісткових каналів. Більшість остеоцитів з пікнотично зміненими ядрами. Частіше зустрічаються й без'ядерні кісткові клітини. Зона внутрішніх генеральних пластин розширена на 12,81% ( $p < 0,05$ ), а зовнішніх - на 13,21% ( $p < 0,05$ ). Остеони, діаметр яких зменшений, у середньому, на 12,58% ( $p < 0,05$ ), погано сприймають барвник (рис.3.). Між ними міститься велика кількість зруйнованих вставних пластин з великими порожнинами резорбції. Просвіт остеонів розширений на 11,20% ( $p < 0,05$ ), внаслідок чого площа гаверсових каналів збільшується на 13,04% ( $p < 0,05$ ). Площа компактної речовини зменшилася на 12,03% ( $p < 0,05$ ), площа діафізу - на 11,17% ( $p < 0,05$ ), а кістковомозкова порожнина розширюється, у середньому, на 10,35% ( $p < 0,05$ ). Остеоцитарні лакуни у порівнянні зі зменшеними кістковими клітинами здаються розширеними, однак при вимірі їхня площа менше контрольних показників на 13,05% ( $p < 0,05$ ). Мозаїчні ділянки, разом з порожнинами резорбції й вогнищами некрозу надають кістці комірковий вигляд.

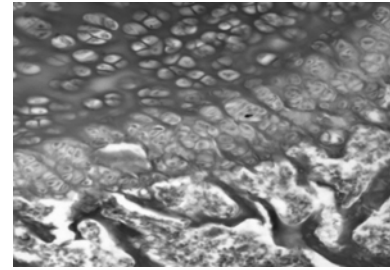


**Рис. 3.** Діафіз плечової кістки щура старечого віку, що перебував в умовах важкого ступеня гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Zoom x 280.

У клубових кістках тварин з легким ступенем гіпергідрії зменшується товщина кортикального шару, у середньому, на 3,57% ( $p > 0,05$ ) та ширина хрящової пластинки росту на 4,52% ( $p > 0,05$ ) (рис. 4.). Також виявлено зменшення на 5,79% ( $p < 0,05$ ) кількість остеобластів, форма яких змінюється з витягнутої (у контролі) на майже овальну. Довжина трабекул вкорочується, в середньому, на 4,87% ( $p > 0,05$ ). У міжтрабекулярному просторі збільшуються ділянки жовтого кісткового мозку, тоді як в інтактних тварин порожнини були заповнені, в основному, червоним кістковим мозком.



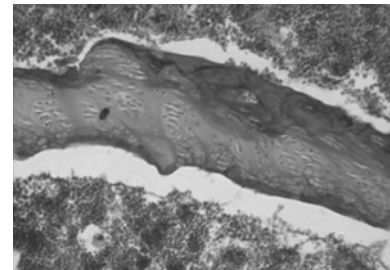
**Рис. 4.** Тазова кістка щура старечого віку, що перебував в умовах легкого ступеня гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Zoom x 280.



**Рис. 5.** Тазова кістка щура старечого віку, що перебував в умовах середнього ступеня гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Zoom x 280.

При збільшенні гіпергідрії до середнього ступеню важкості хрящова пластинка росту клубової кістки звужується на 6,63% ( $p < 0,05$ ) (рис.5.). Товщина компактного шару зменшується, у середньому, на 5,17% ( $p < 0,05$ ). На вкорочених на 5,17% ( $p < 0,05$ ) і стовпчастих трабекулах рідше на 6,02% ( $p < 0,05$ ) зустрічаються остеобласти.

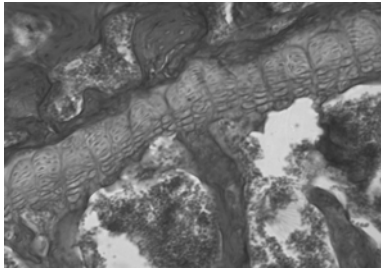
У клубових кістках тварин, що зазнали впливу сублетальної гіпергідратації, також відзначається значне звуження хрящової пластинки росту, в середньому на 15,85% ( $p < 0,05$ ), а іноді вона має лише смуги сполучної тканини (рис.6.). Скорочується товщина компактного шару на 12,58% ( $p < 0,05$ ). Трабекули первинної спонгіози коротші на 14,07% ( $p < 0,05$ ), нерівномірно стовпчені, мають глибокі випинання у бік кістково-мозкової порожнини. Остеобласти з'являються значно рідше, у середньому на 12,91% ( $p < 0,05$ ), при чому ці клітини мають нечіткі, деформовані контури цитоплазми з ушкодженням ядром.



**Рис. 6.** Тазова кістка щура старечого віку, що перебував в умовах важкого ступеня гіпергідратації. Забарвлення гематоксилін-еозином. Цифрове фото. Zoom x 280.

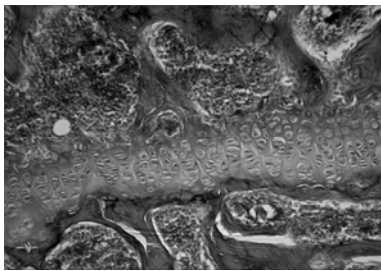
Аналогічні явища спостерігаються і у губчастій кістці - поперековому хребці. При легкому ступеню гіпергідрії кісткові трабекули стовпчені, скорочені в порівнянні з контролем у середньому на 2,87% ( $p > 0,05$ ), мають поодинокі лінії склеювання, місцями містять безостеоцитарні кісткові лакуни (рис. 7). Субхондральні відділи мають вигляд компактного шару, звуженого на 2,08% ( $p > 0,05$ ). Периферійні відділи тіла хребця представлені щільною безкомірковою кістковою тканиною. Тут виявляються ділянки грубоволокнистої кісткової тканини з близькорозташованими остеоцитами, частина з яких має пікнотично змінені ядра. У пластинчастій кістковій тканині знаходимо ділянки з без'ядерними кістковими клітинами. У періостальних відділах кісткових трабекул зменшується кіль-

кість остеобластів на 4,78% ( $p > 0,05$ ). Звужена на 5,28% ( $p < 0,05$ ) хрящова пластинка росту каудальної поверхні тіла.



**Рис. 7.** Поперековий хребець щура старечого, що перебував в умовах легкого ступеня гіпергідратації. Забарвлення ван Гізона. Цифрове фото. Zoom x 300.

Ширина хрящової пластинки росту III поперекового хребця у тварин з середнім ступенем гіпергідрії нижче контрольних показників – на 6,58% ( $p < 0,05$ ) (рис. 8). Трабекули губчастої речовини зкорочені на 5,02% ( $p < 0,05$ ), потовщені і мають як тубулярну, так і ламелярну форму. Осередки губчастої речовини сплюснені, розташовані в поздовжньому напрямку. Кількість остеобластів в зоні первинної спонгіози менше, ніж у контролі на 6,83% ( $p < 0,05$ ). Товщина компактного шару зменшена на 5,74% ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 8.** Поперековий хребець щура старечого, що перебував в умовах середнього ступеня гіпергідратації. Забарвлення ван Гізона. Цифрове фото. Zoom x 300.



**Рис. 9.** Поперековий хребець щура старечого, що перебував в умовах важкого ступеня гіпергідратації. Забарвлення ван Гізона. Цифрове фото. Zoom x 300.

Під дією сублетальної водної інтоксикації губчаста кістка представлена комірками великих розмірів (рис.9.). Ширина хрящової пластинки росту звужена на 17,29% ( $p < 0,05$ ), відзначається повна її дезорганізація. Компактна речовина стоншена на 12,85% ( $p < 0,05$ ). Будова її така ж, як і в трубчастій кістці. Трабекули губчастої речовини в центральній частині тіла мають ламелярну форму, вони стовщені і укорочені, в середньому, на 10,05% ( $p < 0,05$ ). На їхній поверхні на-

багато рідше на 11,74% ( $p < 0,05$ ) зустрічаються остеобласти.

**Висновки і перспективи подальших розробок.** Таким чином, проведене мікроскопічне дослідження вказує на перевагу в кістковій тканині під дією водної інтоксикації кістково-руйнівних процесів, що супроводжуються, уповільненням темпів ремоделювання, дегенерацією кісткових клітин і появою дистрофічно змінених ділянок кістки.

Загалом кісткоутворювальні процеси у плечових, тазових кістках та поперекових хребцях впродовж експериментів мають явно виражену гальмівну спрямованість, про що свідчать результати морфометрії. Губчасті та плоскі кістки більш помітно реагують на вплив гіпергідрії, ніж довгі, що може бути свідченням їх різної метаболічної активності.

В подальшому планується вивчення морфометричних показників кісток тварин різного віку в реадaptaційний період після важкого ступеню гіпергідрії.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Бруско А.Т., Гайко Г.В. Функциональная перестройка костей и ее клиническое значение. - Луганск, Луганский государственный медицинский университет. - 2005. - 212с.
2. Дедух Н.В., Панков Е.Я. Скелетные ткани/ В кн.: Руководство по гистологии. -СПб.: Спец. лит-ра. - 2001. - Т. 1. - С. 95-105.
3. Денисов-Никольский Ю.И., Жилкин Б.А., Докторов А.А., Матвейчук И.В. Ультраструктурная организация минерального компонента пластинчатой костной ткани у людей зрелого и старческого возраста // Морфология. – 2002. – Т. 122, вып. 5. – С. 79-83.
4. Trabecular bone structure analysis in the osteoporotic spine using a clinical in vivo setup for 64-slice MDCT imaging: comparison to microCT imaging and microFE modeling. / AS Issever, TM Link, M Kentenich [et. all] J Bone Miner Res. – 2009. - 24(9). – P. 1628 - 1637.
5. Relationship between trabecular bone structure and articular cartilage morphology and relaxation times in early OA of the knee joint using parallel MRI at 3 T. / RI Bolbos, J Zuo, S Banerjee [et all] / Osteoarthritis Cartilage. – 2008. - 16(10). – P. 1150-1159.
6. Сучасні уявлення про водно-сольовий обмін/ Погорелов М.В., Бумейстер В.І., Ткач Г.Ф. [та ін.]// Вісник проблем біології і медицини.- 2009.-Вип.2.-С.8-14.
7. Корячкин В.А. Клинические функциональные и лабораторные тесты в анестезиологии и интенсивной терапии. СПб., 2001.
8. Chavassieux P. Insights into Material and Structural Basis of Bone Fragility from Diseases Associated with Fractures: How Determinants of the Biomechanical Properties of Bone Are Compromised by Disease /P. Chavassieux, E. Seeman, and P. D. Delmas -Endocr. Rev.- 2007. 28. -P. 151 - 164.