

15. Sharma, V., Sharma, M. S., Bhatnagar, C., Sharma, R. (2009). Studies of *Daphnia ambigua* and *Simocephalus vetulus* based on scanning electron micrographic observations. *Journal of Cell and Tissue Research*, 9 (2), 1831–1838.

16. Young, S., Ni, M., Liu, M. (2012). Systematic Study of the *Simocephalus Sensu Stricto* Species Group (Cladocera: Daphniidae) from Taiwan by Morphometric and Molecular Analyses. *Zoological Studies*, 51 (2), 222–231.

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук, проф. Царик Й. В.  
Дата надходження рукопису 30.09.2014.*

**Іванець Олег Романович**, кандидат біологічних наук, доцент, кафедра зоології, Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського 4, м. Львів, Україна, 79005  
E-mail: oleh\_ivanets@mail333.com

УДК [591.84+576.31]:591.471.37  
DOI: 10.15587/2313-8416.2014.27550

## ИЗМЕНЕНИЯ ГИСТОСТРУКТУРЫ ПРОКСИМАЛЬНЫХ И ДИСТАЛЬНЫХ МЕТАФИЗОВ БЕДРЕННЫХ КОСТЕЙ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПОКИНЕЗИИ

© **О. В. Полковенко**

*С использованием гистологических и морфометрических методов нами установлено, что в проксимальных и дистальных метафизах бедренных костей белых крыс при моделированной гипокинезии наблюдаются деструктивные изменения, а именно "разрежение" костных трабекул. Подсчеты показали достоверное уменьшение удельного объема костных трабекул по сравнению с контролем.*

*Ключевые слова: белые крысы, гистология, костная ткань, трабекулы, бедренная кость, метафиз, гипокинезия, морфометрия, деминерализация, удельный объем.*

*With the use of histological and morphometrical methods we established, that under experimental hypokinesia conditions the proximal and distal metaphyses of white rats' femoral bones show the destructive changes of bone trabeculae. The calculations showed a significant decrease in the proportion of volume of bone trabeculae as compared with the control.*

*Keywords: white rats, histology, bone tissue, trabeculae, thigh-bone, metaphysis, hypokinesia, morphometry, demineralization, specific volume.*

### 1. Введение

Согласно современных данных костная ткань является динамической системой со своими специфическими внутренними механизмами регуляции и контроля. Она очень чувствительна ко влиянию внешних факторов. Кости формируют скелет организма, защищают и поддерживают жизненно-важные органы. Кроме этого, костная ткань играет важнейшую роль и в минеральном обмене вследствие того, что является депо кальция (именно в костях содержится до 99 % всего кальция организма).

Одними из важнейших показателей метаболической активности костной ткани являются процессы перестройки и обновления костных структур, которые продолжаются на протяжении всей жизни. Рост, развитие, физиологическая и репаративная регенерация, а также инволюция костей происходят благодаря ремоделированию – перестройке костной ткани, которая происходит постоянно. Именно эти процессы обеспечивают структурную адаптацию костной ткани к условиям внешней среды, в частности, к изменению поперной нагрузки на костный скелет, а также являются

механизмом поддержания минерального гомеостаза организма.

### 2. Литературный обзор

Одним из самых серьезных негативных экосоциальных факторов – спутников современного цивилизованного общества, которое характеризуется снижением доли физической работы в жизни человека, является гипокинезия, обусловленная малоподвижным образом жизни. Она определяется как дефицит двигательной активности. Это сопровождается уменьшением механической нагрузки на опорно-двигательный аппарат. Для некоторых категорий людей гипокинезия может быть профессиональною, для других – просто образом жизни. Одним из самых страшных последствий гипокинезии может быть остеопороз. Остеопороз – одно из заболеваний, обусловленное малоподвижным образом жизни (что и является по сути своей гипокинезией). За распространенностью и смертностью от его последствий (переломы костей у людей пожилого возраста, в особенности у женщин) именно остеопороз занимает ведущее место по всему миру (ВООЗ).

Наиболее типичными изменениями в костной ткани при гипокинезия являются следующие: снижение костной массы, деминерализация и уменьшение механической плотности костей, что может привести к развитию остеопении и остеопороза. Кроме того, это увеличивает риск переломов костей, несущих опорную нагрузку.

Целый ряд авторов [2, 5–7] отмечает, что при длительном постельном режиме или иммобилизации происходит нарушение баланса между процессами формирования и резорбции костной ткани в сторону увеличения процессов резорбции (т.е. разрушения), что и приводит к снижению костного минерального вещества в опорных костях. Вместе с тем, множество вопросов остаются открытыми, в частности, какие именно участки кости подвергаются наибольшему разрушению при снижении опорной нагрузки, что и обуславливает актуальность данной работы.

В связи с вышесказанным, **целью** нашего исследования было изучить гистоструктурные изменения в проксимальных и дистальных метафизах бедренных костей крыс при моделированной гипокинезии. Исследование проводилось в отделе цитологии и гистогенеза Института зоологии им. И.И. Шмальгаузена НАН Украины.

### 3. Материал и методы

Объектом исследования были 6-месячные самцы белых крыс линии Wistar, содержащиеся в виварии отдела цитологии и гистогенеза Института зоологии им. И. И. Шмальгаузена НАН Украины (база "Феофания"), где был поставлен 28-дневный эксперимент по моделированию гипокинезии. Все животные были приблизительно одного веса (220–240 г) и находились в аналогичных условиях содержания. Всего в опыт было введено 17 животных (8 контрольных и 9 экспериментальных). После окончания эксперимента был отобран материал исследования – бедренные кости для гистологических исследований.

Перед забоем животных подвергали эфирному наркозу. Биоматериал выделяли и фиксировали в 10 % нейтральном формалине на протяжении 24 часов, декальцинировали 2,5–3 месяца в 10 % растворе трилона Б, изготавливали парафиновые блоки и гистологические препараты согласно общепринятым методикам. Гистопрепараты окрашивали гематоксилином Майера - тионин – эозином и гематоксилином Майера - азур2 – эозином [3, 5]. На гистопрепаратах бедренных костей крыс в проксимальных и дистальных метафизах костной ткани измеряли вимірювали удельный объем трабекул.

Для осуществления морфометрического исследования на гистопрепаратах бедренных костей от каждой особи подсчеты проводились на 50 срезах. На каждом срезе в каждой зоне костной ткани (проксимальные и дистальные метафизы) выбирались 3 поля зрения вдоль продольной оси кости: ближе к проксимальному концу, приблизительно середина зоны, а также ближе к дистальному концу кости. Подсчитывали методом

точеного подсчета по Автандилову [1] на эквивалентных плоскостях среза – 289 пересечений (3 измерения окулярной сетки (об.х25, ок.х12,5) следующие показатели: удельный объем костных трабекул в проксимальных и дистальных метафизах бедренных костей.

Для осуществления морфометрических подсчетов использовали морфометрическую сетку, а также компьютерную систему анализа изображений для световых микроскопов с цифровой камерой Canon PowerShot и программу "Biowizard".

Статистический анализ полученных результатов проведен с использованием программы "Statistica 6".

В нашем исследовании для изучения влияния опорной разгрузки на костные структуры использована методика "вешивания" за хвост, которая была разработана Morey-Holton E. та Wronski в 1981р. [8] и модифицирована А. Я Капланским та Г.І Дурновой (ГНЦ Институт медико-биологических проблем, РАН, Москва, Россия). Однако, в отличие от работ указанных авторов, нами для исследования были взяты половозрелые самцы белых крыс.

### 4. Результаты исследований

В нашей работе значительное внимание уделено изучению изменений гистоструктуры бедренной кости крыс при снижении опорной нагрузки в сравнении с контролем именно в зонах проксимальных и дистальных метафизов. В костях контрольных животных периост имеет типичную структуру. Он состоит из двух слоёв: внешнего (волокнустого) и внутреннего (остеогенного). Периостальная костная ткань равномерно окрашена.

У контрольных животных в зоне костных трабекул в метафизах, большинство костных трабекул ориентированно параллельно продольной оси кости.

Губчатая кость метафизов является метаболически активной и первой реагирует на изменения опорной и силовой нагрузки [6–9]. У контрольных животных в зонах костных трабекул в метафизах костная ткань имеет типичную структуру, равномерно окрашена.

Вместе с тем у экспериментальных животных в костной ткани метафизов появляются хорошо заметные отличия от контроля. Так, в бедренных костях опытной группы животных как в проксимальном, так и в дистальном метафизах наблюдаются изменения гистоструктуры костной ткани сравнительно с контролем. Костные трабекулы укорочены их количество уменьшается, а расстояние между ними на оборот, увеличивается. По сравнению с контролем вырастает количество костных трабекул, которые заканчиваются «слепо», не соединяясь с остальными. В целом наблюдается «разреженность» костных трабекул.

Кроме того, наблюдаются изменения в самой структуре костных трабекул. Так, как в проксимальных, так и в дистальных метафизах структура костных трабекул становится более

крупно-ячеистої, порушується їх типична архітектоніка. В частині, трабекули пронизані більшими і мелкими узкими щелями, розривами неправильної форми, а також більш широкими удлиненими порожнинами. Подібні порушення гістоструктури можуть бути орієнтовані як паралельно продольній осі кістки (щели і порожнини), так і в інших напрямках (розриви). В деяких випадках порожнин так багато, що на поперечних зрізах кісткові трабекули нагадують «сито».

Крім усього вищесказаного, при дії експериментальної функціональної розвантаження в метафізах бедренних кісток спостерігається таке явище, як заміщення кісткової тканини хрящовою, тобто місце розрушеної кісткової тканини всередині. Кісткові трабекули займають хрящові елементи.

Однак, в відмінність від контролю, де теж спостерігаються елементи хрящової тканини в зоні заміщення хрящової тканини кістковою, в досвіді хрящові елементи знаходяться всередині вже сформованих кісткових трабекул.

Об'єктивно, змінення гістоструктури кісткових трабекул при впливі опорної розвантаження підтверджуються морфометричними дослідженнями. Так, удільний об'єм кісткових трабекул у експериментальних тварин і в проксимальному, і в дистальному метафізах достовірно зменшується в порівнянні з контролем. Якщо в проксимальному метафізі удільний об'єм кісткових трабекул в контролі становить  $0,540 \pm 0,026$ , то в досвіді він зменшується до  $0,41 \pm 0,017$  ( $p < 0,05$ ). В дистальному метафізі удільний об'єм кісткових трабекул становить  $0,540 \pm 0,024$  в контролі та  $0,44 \pm 0,02$  в досвіді ( $p < 0,05$ ).

Крім того, удільний об'єм кісткових трабекул в проксимальному метафізі в досвіді зменшений в більшій ступені, ніж в дистальному (рис. 1): якщо в дистальному метафізі в досвіді удільний об'єм кісткових трабекул зменшується на 18,3 % в порівнянні з контролем, то в проксимальному метафізі удільний об'єм кісткових трабекул в порівнянні з контролем зменшується на 24,07 % (рис. 1).

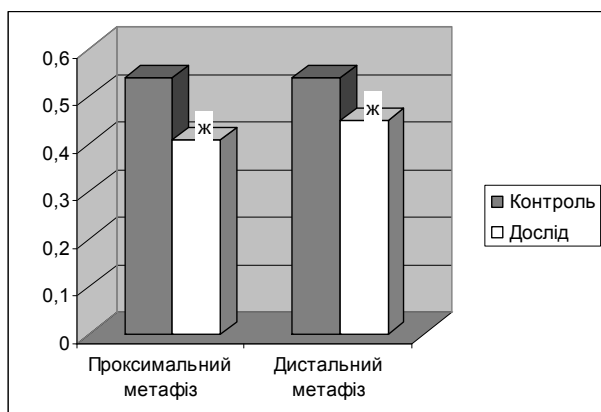


Рис. 1. Змінення удільного об'єму кісткової тканини в проксимальному і дистальному метафізах бедренних кісток білих крыс при моделюванні гіпокінезії в порівнянні з контролем: \* – різниця достовірна в порівнянні з контролем,  $p < 0,05$

Наші дослідження підтверджуються і більш ранніми даними [7,9 і др.], но в попередніх дослідженнях не конкретизовано, в яких саме ділянках трубчатих кісток змінення є найбільш вираженими. Авторі відзначають, що для більш глибокого розуміння змінення в кістковій тканині при гіпокінезії необхідні далішні дослідження.

### 5. Висновки

Таким чином, на основі морфометричних досліджень встановлено, що експериментальна опорна розвантаження суттєво впливає на метафізи бедренних кісток, як на метаболічно- більш активні ділянки кістки, а в проксимальному метафізі ці змінення виражені сильніше всього. Зменшення удільного об'єму кісткової тканини відбувається за рахунок зменшення кількості, товщини і довжини кісткових трабекул, збільшення відстаней між ними, а також через появу щелей і порожнин в самій кістковій трабекулах.

### Література

1. Avtandilov, G. G. Medicinskaya morfometriya [Text] / G. G. Avtandilov. – Moscow, "Medicine", 1994. – 383 p.
2. Durnova, G. N. Histomorfometricheskij analiz kostej krysa posle poleta na SLS-2-1 [Text] / G. N. Durnova, E. I. Ilyina-Kakueva, E. Morey-Holton et al. // Kosmocheskaya biologiya i aviakosmicheskaya medicina. – 1994. – Vol. 28, Issue 1. – P. 18–20.
3. Durnova, G. N. Histomorfometriya podvzdosnykh kostej obesjan posle antiortostatichej hypokinesii i "sykhoj" immersii [Text] / G. N. Durnova, A. C. Kaplanskij, V. I. Korolkov, V. P. Krotov // Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya medicina. – 2004. – Vol. 38, Issue 5. – P. 33–37.
4. Oganov, V. S. Rezultaty densitometrii kostnoj tkani v dlitelnom kosmicheskom poete u chlenov ekipagha stancii "MIR" / V.S. Oganov, A.S. Rahmanov et al. [Text] / V. S. Oganov, A. S. Rahmanov and other // Tezisy 10-j meghdynarodnoj konferencii «Kosmicheskaya biologija i aviakosmicheskaya medicina». – Moscow, 1994. – P. 346.
5. Polkovenko, O. V. Zastosyvannja kombinivanogo zafarbovyvanna gematoxilinom Maiera - azur2 – eosinom dla doslidghennja kistkovoї tkanini ta ii klitnykh populacij, zokrema, osteoclastiv [Text] / O. V. Polkovenko // VI Mighnarodna konferencija studentiv ta molodykh vchenykh «Persij krok u nauku - 2010». Zbirnik naukovykh prac. – Vinnicya, 2010. – P. 125–127.
6. Stupakov, G. P. Kostnaya sistema i nevosomost [Text] / G. P. Stupakov, A. I. Vologhin. – Moscow: Nauka. – 1989. – Vol. 63. – P. 185.
7. Huiskes R. Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone [Text] / R. Huiskes, R. Ruimerman, G. van Lenthe, J. Janssen // Nature. – 2000. – Vol. 405, Issue 6787. – P. 704–706.
8. Morey-Holton, E. Animal models for simulating weightlessness [Text] / E. Morey-Holton, J. Wronski // Physiologist. – 1981. – Vol. 24. – P. 45–48.
9. Whitfield, M. Bone growthstimulators. New tools for treating bone loss and mending fractures [Text] / M. Whitfield, K. Willick // Vitamins and hormones. – 2002. – Vol. 65. – P. 1–80. doi: 10.1016/s0083-6729(02)65059-9
10. Lane, N. Mice Lacking the Integrin 5 Subunit Have Accelerated Osteoclast Maturation and Increased Activity in

the Estrogen-Deficient State [Text] / Lane N., Wei Yao M., Nakamura M., et al. // J. Bone Miner. Res. – 2005. – Vol. 20, Issue 1. – P. 58–69. doi: 10.1359/jbmr.041017

#### References

1. Avtandilov, G. G. (1994). Medicinskaya morfometriya. Moscow, "Medicine", 383.
2. Durnova, G. N., Ilyina-Kakueva, E. I., Morey-Holton, E. et al. (1994). Histomorfometricheskij analiz kostej krysa posle poleta na SLS-2-1. Kosmocheskaya biologiya I aviakosmicheskaya medicina, 28 (1), 18–20.
3. Durnova, G. N., Kaplanskij, A. C., Korolkov, V. I., Krotov, V. P. (2004). Histomorfometriya podvzdosnyh kostej obesjan posle antiortostaticeskoy hypokinesii I "sykhoy" immersii. Aviakosmicheskaya I ekologicheskaya medicina, 38 (5), 33–37.
4. Oganov, V. S., Rahmanov, A. S. (1994). Resultaty densitometrii kostnoj tkani v dlitelnom kosmicheskom polete u chlenov ekipazha stancii "MIR". Tezisy 10-j meghdynarodnoj konferencii «Kosmicheskaya bioogija I aviakosmicheskaya medicina». Moscow, 346.
5. Polkovenko, O. V. (2010). Zastosyvanja kombinivanogo zafarbovyvanna gematoxilinom Maiera - azur2 –eosinom dla doslidghennja kistkovoї tkanini ta ii klitnykh populacij, zokrema, osteoclastiv. VI Mighnarodna konferencija studentiv ta molodykh vchenykh «Persnij krok u nauku-2010». Zbirnik naukovykh prac. Vinnicya, 125–127.
6. Stupakov, G. P., Vologhin, A. I. (1989). Kostnaya sistema I nevesomost Moscow, Nauka, 63, 185.
7. Huiskes, R., Ruimerman, R., van Lenthe, G., Janssen, J. (2000). Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. Nature, 405 (6787), 704–706.
8. Morey-Holton, E., Wronski, J. (1981). Animal models for simulating weightlessness. Physiologist, 24, 45–48.
9. Whitfield, M., Willick, K. (2002). Bone growthstimulators. New tools for treating bone loss and mending fractures. Vitamins and hormones, 65, 1–80. doi: 10.1016/s0083-6729(02)65059-9
10. Lane, N., Wei Yao, M., Nakamura, M. (2005). Mice Lacking the Integrin 5 Subunit Have Accelerated Osteoclast Maturation and Increased Activity in the Estrogen-Deficient State. J. Bone Miner. Res., 20, 58–69. doi: 10.1359/jbmr.041017

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Шейко В. І.  
Дата надходження рукопису 25.09.2014*

**Полковенко Ольга Владимировна**, кандидат биологических наук, доцент, кафедра анатомии и физиологии человека, Институт человека Киевского университета имени Бориса Гринченко, ул. Воровского, 18/2, г. Киев, 04053, Украина  
E-mail: [tpluso@ukr.net](mailto:tpluso@ukr.net)