

РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ ГУБЧАТОЙ КОСТИ СТАРЫХ КРЫС НА ФОНЕ ОБЩЕЙ ЛЕГКОЙ ГИПОТЕРМИИ

Бенгус Л.М., Дедух Н.В., Пошелок Д.М.

ГУ «ИППС им. проф. М.И. Ситенко НАМНУ», г. Харьков

Введение. Общая продолжительная гипотермия, как один из неблагоприятных факторов окружающей среды, оказывает повреждающее действие на организм в целом, и, в частности, на костную ткань, вызывая нарушения костного метаболизма. Однако субклеточные механизмы действия гипотермии на кость в настоящее время практически не раскрыты. Температурные параметры при классификации гипотермии у животных представил J. S. Tuli [1], основываясь на температуре тела животных: легкая (до 30°C), умеренная (до 22°C) и тяжелая гипотермия (ниже 22°C).

Цель исследования – на основе электронно-микроскопического анализа изучить особенности ремоделирования губчатой кости у старых белых крыс после воздействия общей легкой гипотермии.

Материал и методы исследования. Гипотермию у 15 старых белых крыс (24 месячного возраста) моделировали путем 5-ти часовой экспозиции животных в холодильной камере при температуре –20°C на протяжении 5 суток. Ректальное измерение температуры у крыс показало ее снижение на 3 – 4°C (исходная температура тела старых крыс – 36,09 ± 0,29°C). Животных выводили из эксперимента через 1, 3, 5, 7 и 14 суток после холодового воздействия. Для электронно-микроскопического исследования фрагменты костной ткани (размером 1 мм³) дистального метафиза бедренной кости префиксировали в 5% параформальдегидглутаральдегидном фиксаторе Карновского с постфиксацией в 1% растворе четырехоксида осмия. Материал дегидратировали в серии спиртов восходящей концентрации и ацетоне, заключали в эпон-аралдит. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и по Reynolds, после чего исследовали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа ЭМВ–100 БР.

Результаты исследования. Анализ ультраструктурной организации губчатой кости белых крыс, выполненный через 1 сутки после общей гипотермии, показал наличие в остеобластах, расположенных на поверхности костных трабекул, и остеоцитах костного матрикса участков деструкции цитоплазматической и ядерной мембраны, а также очагов гомогенизации цитоплазмы. Цитоплазма единичных остеобластов содержала множество канальцев гранулярной эндоплазматической сети (гЭПС), что свидетельствует об активно протекающем биосинтезе белков в клетках.

Через 3 суток после гипотермии на участках губчатой кости в цитоплазме остеобластов выявлены очаги деструкции канальцев гЭПС и митохондрий, повышение плотности вторичных лизосом и остаточных телец, участки лизиса цитоплазматической мембраны. В остеоцитах отмечены локальная деструкция цитоплазматической мембраны, электронно-плотные включения в цитоплазме, деструктивные полости, очаги кальцификации, признаки активизации остеоцитарного остеолита в виде расширенных лакун с зазубренными краями. В перилакунарных областях выявлены очаги пятнистой кальцификации матрикса. Часть клеток сохраняла нормальную структурную организацию.

В костном мозге отмечены микроциркуляторные нарушения: деструкция эндотелия капилляров, плазморрагия, диапедезные кровоизлияния, связанные с повышенной проницаемостью гемокапилляров.

Электронно-микроскопические изменения в губчатой кости животных, обнаруженные через 5 суток после действия гипотермии, в целом подобны таковым, выявленным через 3 суток, при этом в некоторых остеобластах имело место нарушение энергетического обмена в виде набухания и деструкции митохондрий. В остеоцитах отмечены очаги деструкции ядерной мембраны, на участках выявлено расширение перинуклеарного пространства. На данный срок исследования у животных имела место активизация процесса костной резорбции, о чем свидетельствует формирование кластеров

остеокластов. Сохранились нарушения внутрикостной микроциркуляции, как отражение деструкции эндотелия капилляров. В областях нарушения капиллярного русла располагались крупные липидные капли.

Через 7 суток после гипотермии в цитоплазме остеобластов выявлены полости деструкции. Как и на предыдущие сроки исследования, наряду с деструктивными изменениями костных клеток имели место и репаративные проявления. На поверхности трабекул располагались функционально активные остеокласты с гофрированной каемкой. В межтрабекулярных пространствах обнаружены запустевшие гемокапилляры синусоидного типа.

Через 14 суток после гипотермии на поверхности костных трабекул были локализованы «покоящиеся» остеобласты и преостеобласты с деструкцией ядра и цитоплазмы. Выявлены «оголенные» участки кости, что связано с гибелью остеобластов путем апоптоза. Также присутствовали остеобласты, имеющие характерную ультраструктурную организацию. Среди остеоцитов обнаружены клетки на разных стадиях апоптотической гибели. В популяции остеоцитов присутствовали клетки, ультраструктурная организация которых свидетельствует об активизации в них литических процессов, что, в свою очередь, приводит к дисбалансу остеоцитарного ремоделирования со сдвигом этого процесса в сторону преобладания перилакунарной резорбции.

Интерпретируя полученные результаты, в соответствии с имеющимися в литературе данными, можно заключить, что в результате воздействия на животных тотальной гипотермии, в клетках губчатой кости происходит нарушение энергетического обмена, сопровождающееся деструкцией митохондриальных мембран, что приводит к повреждению функционирования ферментных и транспортных систем клеток [2, 3]. При этом кальций, аккумулированный в митохондриях, высвобождается в цитоплазму клеток. На фоне индуцированной гипотермией деструкции мембран эндоплазматической сети, происходит дополнительный выброс кальция, локализованного в цистернах ЭПС. В итоге, концентрация внутриклеточного кальция резко возрастает, что, как известно, является сигналом для активизации апоптоза. Повышение количества апоптотических клеток в кости, в свою очередь, стимулирует костную резорбцию, что мы и наблюдали в нашем исследовании. Дополнительным фактором может явиться выброс глюкокортикоидов, как стрессовая реакция организма на гипотермию. При связывании гормона с рецепторами, которые имеются на костных клетках, могут открываться специальные каналы, по которым ионы Ca^{2+} в высоких концентрациях поступают из межклеточного пространства в клетку и кумулируются в ней [2].

Выводы. Проведенное исследование показало, что моделирование общей легкой гипотермии у 24-х месячных белых лабораторных крыс приводит к дисбалансу деструктивных и репаративных проявлений в остеобластах и остеоцитах. При этом в губчатой кости преобладают клетки с деструктивными нарушениями.