

УДК 581.4 + 591.4 + 576.31(045)

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА ПОТОМСТВА БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ СВИНЦОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ МАТЕРИНСКОГО ОРГАНИЗМА

Киреева Ю.В., Грызлова Л.В.

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт имени М.Е. Евсевьева», Саранск, e-mail: mgpi@moris.ru

Проведено гистологическое и морфометрическое исследование влияния ацетата свинца на формирование эпифизарного хряща трубчатых костей белых крыс в раннем постнатальном онтогенезе. Полученные данные свидетельствуют о токсическом воздействии ацетата свинца на формирование эпифизарного хряща трубчатых костей, что сопровождается уменьшением толщины эпифизарной пластинки, длины трабекул первичной спонгиозы, истончением зоны пролиферирующего хряща, снижением количества остеобластов в первичной спонгиозе и пролиферирующих клетках в зоне пролиферации. Доказано, что свинцовая интоксикация материнского организма в период беременности вызывает отставание процессов развития костной ткани в эпифизе трубчатой кости потомства. Целью настоящей работы явилось экспериментальное изучение влияния ацетата свинца на формирование эпифизарного хряща трубчатых костей белых крыс в раннем онтогенезе.

Ключевые слова: клетка, воздействие, ацетат свинца, эпифизарный хрящ, хондроцит, остеобласт, костные трабекулы, остеогенез

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS EPIPHYSEAL CARTILAGE OFFSPRING OF WHITE RATS IN THE LEAD INTOXICATION PARENT ORGANISM

Kireeva Y.V., Gryzlova L.V.

Mordovia State Pedagogical Institute named after M.E. Evseev, Saransk, e-mail: mgpi@moris.ru

A histological and morphometric study of the effect of lead acetate on the formation of the epiphyseal cartilage of long bones of albino rats in the early postnatal ontogenesis. The data obtained attest to the toxic effects of lead acetate on the formation of the epiphyseal cartilage of long bones, which is accompanied by a decrease in the thickness of the epiphyseal plate, the length of trabecular primary spongiosa, thinning of the zone of proliferating cartilage, the decrease in the number of osteoblasts in the primary spongiosa and proliferating cells in the zone of proliferation. It is proved that lead intoxication in the mother's body during pregnancy causes a backlog of development processes of bone tissue in the epiphysis of long bone offspring. The aim of the present work was to study the effect of experimental lead acetate on the formation of the epiphyseal cartilage of long bones of albino rats in early ontogeny.

Keywords: a cell, the effect of acetate of lead, epiphyseal cartilage, the chondrocyte, osteoblast, bone trabeculy, osteogenesis

Среди токсических элементов, загрязняющих окружающую среду, по-прежнему пристальное внимание привлекает свинец. Отравления соединениями свинца сопровождаются многочисленными заболеваниями и некоторыми физиологическими состояниями, поэтому изучение структурных и функциональных аспектов свинцовой интоксикации является актуальной задачей [1, 2, 3, 7, 8]. Особый интерес вызывает эмбриотоксическое действие свинца, в первую очередь, его влияние на костную систему потомства. Несмотря на очевидную связь между ростом и формообразованием костей скелета, с одной стороны, и его структурой и метаболизмом, с другой, эти вопросы остаются невыясненными. Решение этой проблемы имеет важное значение для выявления механизмов развития скелета в условиях действия соединений свинца.

Материалы и методы исследования

В эксперименте были использованы половозрелые белые беспородные крысы-самки и их потомство на 1-е, 10-е, 20-е, 30-е, 60-е сутки постнатального

периода развития. Данный период отображает рост и процессы формообразования костей скелета. В соответствии с поставленными задачами животные разбивались на две группы. Первую группу животных (контроль) составили крысы от самок с физиологически протекающей беременностью, содержащихся на общем режиме вивария. Вторую группу животных (опыт) составили крысы от самок, получавших с 8-х по 22-е сутки беременности ежедневно перорально ацетат свинца в дозе 45 мг/кг массы тела.

Животные забивались путем декапитации под наркозом эфира с хлороформом с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, и в соответствии с требованиями правил проведения работ с использованием экспериментальных животных.

Для гистологического исследования выделялись длинные трубчатые кости передних и задних конечностей. Образцы костной ткани фиксировали 10% раствором формалина и после соответствующей проводки заливали в парафин. Готовили гистологические срезы толщиной 10 мкм, окрашивали их гематоксилин-эозином.

С помощью штангенциркуля по методу Дурста (1926) с точностью до 0,1 мм измеряли наибольшую ширину дистального эпифиза. С помощью

окулярного винтового микрометра МОВ-1-15 и окулярной измерительной системы УМБИ-3 осуществляли морфометрические измерения дистального эпифиза длинных трубчатых костей: измерялись толщина эпифизарного хряща, толщина зоны пролиферирующего хряща, толщина зоны индифферентного хряща, толщина зоны дефинитивного хряща, длина трабекул первичной спонгиозы, количество остеобластов в первичной спонгиозе, количество клеток в столбике зоны пролиферирующего хряща.

Статистическая обработка полученных цифровых данных проводилась с помощью программ FStat и Excel. Проверка статистических гипотез осуществлялась по t-критерию Стьюдента. При оценке статистических гипотез принимались следующие уровни значимости: $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты гистологических и морфометрических исследований показали, что свинцовая интоксикация материнского организма вызывает изменения в механизме роста кости потомства, при этом меняется ее гистологическая картина. Особенно изменения сказываются в зоне роста длинных трубчатых костей.

Известно, что рост кости в длину обеспечивает эпифизарный хрящ, являющийся небольшим участком хрящевой ткани между костным эпифизом и диафизом. Он сохраняется на протяжении всего периода роста кости, и в нем довольно интенсивно проис-

ходят процессы репродукции и дифференциации клеток, биосинтеза и минерализации основного межклеточного вещества [4, 5, 6].

В ходе исследования установлено, что у крысят, матери которых получали ацетат свинца в период беременности, толщина эпифизарного хряща (пластинки) меньше, чем у животных в контроле во всех возрастных группах: у новорожденных крысят – на 14,7% ($p \leq 0,001$), у 10-суточных крысят – на 24,9% ($p \leq 0,001$), у 20-суточных крысят – на 18,9% ($p \leq 0,001$), у 30-суточных крысят – на 14,8% ($p \leq 0,001$), у 60-суточных крысят – на 29,3% ($p \leq 0,001$) соответственно (таблица). Анализируя изменение толщины эпифизарного хряща в возрастном аспекте, можно отметить, что у крысят обеих групп его толщина с возрастом уменьшается. Однако у крысят контрольной группы уменьшение толщины эпифизарного хряща наиболее ярко проявляется к возрасту 30 суток (на 28,6%), тогда как у крысят опытной группы – к возрасту 60 суток (на 26%) (таблица). Уменьшение толщины эпифизарного хряща у крысят опытной группы происходит не за счет толщины зоны дефинитивного хряща, а за счет уменьшения толщины зоны пролиферирующего хряща, что свидетельствует о нарушении механизма формирования эпифизарной пластинки.

Морфометрические показатели эпифизарного хряща длинных трубчатых костей белых крыс в разные сроки постнатального периода развития в норме и воздействии ацетата свинца на организм матери

Сутки развития		Толщина эпифизарной пластинки, мкм	Толщина зоны индифферентного хряща, мкм	Толщина зоны пролиферирующего хряща, мкм	Толщина зоны дефинитивного хряща, мкм	Длина трабекул первичной спонгиозы, мкм	Количество остеобластов в первичной спонгиозе, шт.	Количество пролиферирующих клеток в зоне пролиферации, шт.
Контроль	Новорожденные	235,09 ± 16,00	21,65 ± 2,95	126,48 ± 10,13	86,96 ± 6,64	345,08 ± 28,83	38,17 ± 3,48	10,13 ± 1,68
	10 суток	224,68 ± 19,0	18,56 ± 1,40	122,16 ± 2,74	83,96 ± 7,60*	234,01 ± 20,94*	43,23 ± 4,37	13,98 ± 1,19*
	20 суток	166,77 ± 13,46*	16,14 ± 1,29	96,29 ± 4,57	54,34 ± 5,31*	97,09 ± 8,95**	57,87 ± 5,42*	25,97 ± 2,64**
	30 суток	119,09 ± 8,18**	15,18 ± 1,44	65,48 ± 2,43*	38,43 ± 3,57**	68,96 ± 5,95**	89,18 ± 7,48*	38,19 ± 3,65**
	60 суток	106,09 ± 7,47*	14,90 ± 0,54	64,76 ± 5,48	29,86 ± 1,50**	45,78 ± 4,11**	108,58 ± 9,67*	45,19 ± 4,00**
Опыт	Новорожденные	200,54 ± 18,51**	18,94 ± 1,69	109,22 ± 12,68	72,38 ± 6,12	186,83 ± 15,05	27,13 ± 1,68	8,17 ± 0,78
	10 суток	168,91 ± 14,81**	17,22 ± 1,41	85,16 ± 8,73*	66,53 ± 5,93*	169,79 ± 12,06	31,19 ± 2,78	9,48 ± 0,99*
	20 суток	135,28 ± 10,81**	15,68 ± 1,89	73,37 ± 6,80*	46,23 ± 4,76	89,04 ± 7,08**	39,69 ± 3,64**	18,26 ± 1,46**
	30 суток	101,46 ± 8,52**	14,32 ± 1,36	54,02 ± 5,28	33,12 ± 3,11	54,98 ± 5,16**	59,68 ± 4,84**	23,18 ± 1,58**
	60 суток	75,02 ± 6,14**	13,68 ± 1,20	39,67 ± 3,65**	21,67 ± 2,56	29,68 ± 2,19**	84,13 ± 7,69**	30,50 ± 3,15**

Примечание: * – $P \leq 0,05$, ** – $P \leq 0,001$ по сравнению с животными контрольной группы.

Первой зоной в направлении от эпифиза к диафизу является зона индифферентного хряща. Эта зона отделена сплошной костной пластинкой от костного эпифиза.

Клеточные элементы в ней, как правило, размещены в основном межклеточном веществе двумя-тремя неправильными рядами. Хондроциты крысят опытной группы

расположены хаотически одиночно, попарно, а ближе к следующей зоне небольшими группами, по 4–5 клеток среднего размера. Форма хондроцитов эллипсоидная или веретенообразная, иногда встречаются клетки округлой формы. В центре хондроцита размещается сферической или округлой формы ядро, окруженное цитоплазмой. Незначительное количество этих клеток имеет ядра сплюсненной формы. Границы эпифизарной пластинки неровные и сглаженные.

Морфометрические исследования индифферентного хряща крысят опытной группы показали, что у новорожденных и 60-суточных крысят толщина зоны индифферентного хряща меньше по сравнению с контролем соответственно на 12,5 и 8,2 %. В возрасте 10, 20, 30 суток его толщина незначительно отличается от показателей индифферентного хряща в контрольной группе животных (таблица).

Зона пролиферирующих хондроцитов направлена к диафизу. Пролiferативные процессы в этой зоне определяют рост кости в длину, которая обеспечивается как за счет активного роста клеток, так и за счет образования последними коллагена и протеогликанов. Зона представлена хрящевыми клетками, которые имеют клинообразную форму и накладываются одна на одну в виде монетных столбиков, формируя таким образом «колонки» по 12–15 клеток в каждой. Колонки хондроцитов отделены от соседних столбиков прослойками основного вещества с хорошо выраженными фибриллами, которые идут в продольном направлении. У клеток данной зоны выявлены фигуры митозов. Отмечено, что у крысят опытной группы фигуры митозов встречаются одиночно. Среди колонок хондроцитов выявлены расширенные пустоты.

У животных опытной группы толщина зоны пролиферирующего хряща уменьшается в возрастном аспекте и значительно отстает от указанного параметра у 10-, 20- и 60-суточных животных на 30,3 % ($p \leq 0,05$), 23,8 % ($p \leq 0,05$) и 38,7 % ($p \leq 0,001$) по сравнению с животными контрольной группы соответствующих возрастов (таблица).

Количество пролиферирующих клеток, которые имеют высокую пролиферативную активность и находятся на разных стадиях деления, у новорожденных крысят опытной группы меньше на 19,3 %, по сравнению с контролем. У 10-, 20-, 30- и 60-суточных животных, матери которых получали ацетат свинца в период беременности, количество пролифериру-

ющих клеток с возрастом увеличивается, но отстает от контрольных значений на 32,2 %, ($p \leq 0,05$), 29,7 %, ($p \leq 0,001$), 39,3 % ($p \leq 0,001$) и 32,5 % ($p \leq 0,001$) соответственно по сравнению с контролем (таблица).

Зона дефинитивного хряща содержит хондроциты разных стадий созревания, которые также организованы в колонки по 5–10 клеток в каждой. Клетки имеют округлую форму и являются большими по размерам, чем хондроциты предыдущей зоны, содержат большое количество цитоплазмы. Ядро занимает центральную часть клетки. Наблюдается значительное количество двуядерных клеток. Фигуры митозов хондроцитов встречаются очень редко в отличие от животных опытной группы, где фигуры митозов не встречаются вообще.

Морфометрические исследования показали, что при свинцовой интоксикации материнского организма у крысят опытной группы толщина зоны дефинитивного хряща меньше по сравнению с животными в контроле. Наибольшая разница на 20,8 % ($p \leq 0,05$) и 27,4 % отмечается у 10- и 60-суточных крысят соответственно (таблица).

Зона дефинитивного хряща постепенно сливается со следующей зоной – зоной деструкции. В этой зоне хондроциты размещены в 1–2 ряда. Они приобретают неправильную форму. В большинстве случаев в хондроцитах отсутствуют ядра, цитоплазма местами вакуолизована. В пустотах этой зоны встречаются эритроциты, эндотелиальные клетки и другие элементы.

У животных, матери которых получали ацетат свинца во время беременности, остатки зоны деструкции сохраняются лишь в периферических областях, которые непосредственно прилегают к перихондральной костной манжетке. Измерить толщину этой зоны довольно сложно, так как она очень тонкая, часть прерывается и не имеет четких границ. В некоторых местах зона деструкции представлена одиночными безъядерными клетками. Вокруг этих клеток межклеточное вещество кальцинируется, вследствие чего разрушаются оболочки клеток, и хондроциты начинают гибнуть.

В зоне остеогенеза или зоне первичной спонгиозы четко прослеживается формирование первичного костного губчатого вещества в виде трабекул, которые приобретают в направлении до дистального конца более согласованную пространственную ориентацию. Между трабекулами

находятся остатки хрящевой ткани в виде островков. Ячейки губчатого вещества по размерам мелкие или средние, овальной формы. Костные балки отдалены одна от другой на значительное расстояние.

У животных опытной группы костные балки являются утонченными. Глубина проникновения костных трабекул первичной спонгиозы в костно-мозговую пустоту значительно меньше, чем у животных в контроле. Костномозговой канал непосредственно прилегает к метаэпифизарной пластинке, в нем преобладает желтый костный мозг. При этом наблюдается разреженное расположение костных балок. В разных плоскостях появляются участки некроза, близ которых иногда находятся пустоты в виде щелей. Рядом с последними часто оказываются костные балки с остеонидной тканью. Чаще встречаются старые, чем новообразовавшиеся балки. Остеобласты в этой зоне не пролиферируют.

У крысят опытной группы длина трабекул первичной спонгиозы меньше по сравнению с животными контрольной группы у новорожденных крысят на 45,9%, у 10-суточных – на 27,4%, у 20-суточных – на 8,3% ($p \leq 0,001$), у 30-суточных – на 20,3% ($p \leq 0,001$), у 60-суточных – на 35,2% ($p \leq 0,001$) соответственно (таблица). Изучение возрастной динамики длины трабекул показало, что их длина уменьшается от рождения до 60 суток. Однако у животных опытной группы значительное уменьшение длины трабекул первичной спонгиозы происходит, начиная с 20-суточного возраста, тогда как у животных контрольной группы – с 10-суточного, то есть с опозданием на 10 суток (таблица). Эти показатели свидетельствуют об отставании в развитии трабекул у крысят, матери которых получали ацетат свинца.

При исследовании зоны остеогенеза установлено, что в контрольной и опытной группах животных с возрастом увеличивается количество остеобластов (таблица). Однако у животных опытной группы количество остеобластов в первичной спонгиозе меньше по сравнению с животными контрольной группы во всех возрастах, наибольшей разницы достигая у 20- и 30-суточных крысят на 31,4% ($p \leq 0,001$) и 33,1% ($p \leq 0,001$) соответственно (таблица).

Заключение

Исследования показали, что костная система испытывает существенные изменения в процессе развития и жизнедеятель-

ности организма в раннем постнатальном онтогенезе. Это проявляется в перестройке внутренней структуры в процессе развития хряща. Изменения характеризуются определенной направленностью и динамикой в зависимости от экзо- и эндогенных влияний.

Морфометрический анализ показал, что у крысят опытной группы сохраняется общая закономерность уменьшения толщины структур, составляющих эпифизарный хрящ, увеличения количества пролиферирующих клеток в зоне пролиферации, количества остеобластов в первичной спонгиозе в возрастном аспекте.

Установлено, что в условиях свинцовой интоксикации материнского организма у крысят уменьшена длина трабекул первичной спонгиозы, а также снижено количество остеобластов в первичной спонгиозе. Наибольшие изменения испытывает зона пролиферирующего хряща, которая значительно утончена, количество клеток в ней уменьшено. Процесс дифференциации хряща в типичных костных балках резко ухудшается, в связи с чем расширяется зона деструкции эпифизарного хряща трубчатой кости.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отставании процессов развития всех составляющих структур эпифиза трубчатых костей крысят при свинцовой интоксикации материнского организма в период беременности.

Работа проводилась при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Программы стратегического развития «Педагогические кадры для инновационной России» (госзадание № 2 от 16.03.2013 г.).

Список литературы

1. Зайцева Н. В. Свинец в системе мать – новорожденный как индикатор опасности химической нагрузки в районах экологического неблагополучия / Н.В. Зайцева, Т.С. Уланова, Я.С. Морозова и др. // Гигиена и санитария, 2002. – № 4. – С. 45–46.
2. Измеров Н.Ф. Свинец и здоровье. Гигиенический и медико-биологический мониторинг / Н.Ф. Измеров. – М.: Наука, 2000. – 256 с.
3. Корбакова А.И. Свинец и его действие на организм / А.И. Корбакова, Н.С. Соркина, Н.Н. Молодкина и соавт. // Мед. труда и пром. экология. – 2001. – № 5. – С. 29–34.
4. Панков Е.Я. Структурно-функциональные единицы органов (сферорганов) опорно-двигательного аппарата (ОДА) // Тез. докладов XI съезда АГЭ. – Смоленск, 1993. – С. 182–183.
5. Пиголкин Ю.И. Возрастные изменения костной ткани / Ю.И. Пиголкин, Г.В. Золотенкова // Морфология. – СПб., 2006. – № 4. – С. 101.
6. Привес М.Г. Функциональная анатомия точек окостенения эпифизов длинных трубчатых костей / М.Г. Привес, Л.А. Алексина. – Ярославль, 1986. – С. 41–46.

7. Шубина О.С. Изменение морфологического состояния сердца крыс в условиях хронической интоксикации ацетатом свинца / О.С. Шубина, В.С. Бардин, Н.А. Мельникова, Ю.В. Киреева // Фундаментальные исследования. – М.: Академия естествознания, 2011. – № 7. – С. 230–232.

8. Shybina O.S. The interaction in the system mother-placenta-fetus in the conditions of exogenous influence of plumbum / O.S. Shybina, Yu.V. Kireeva, N.A. Smertina, N.A. Melnicova, L.V. Gryslova, N.V. Gromova // European journal of natural history. – 2010. – № 4. – P. 13–16.

References

1. Zajceva N.V., Ulanova T.S., Morozova Ja.S. i dr. Svinec v sisteme mat' novorozhdennyj kak indikator opasnosti himicheskoj nagruzki v rajonah jekologicheskogo neblagopoluchija. Gigiena i sanitarija, 2002, no. 4, pp. 45–46.

2. Izmerov N.F. Svinec i zdorov'e. Gigienicheskij i medikobiologicheskij monitoring M.: Nauka, 2000. 256 p.

3. Korbakova A.I., Sorkina N.S., Molodkina N. N. i soavt. Svinec i ego dejstvie na organism. Med. truda i prom. jekologija, 2001, no. 5, pp. 29–34.

4. Pankov E.Ja. Strukturno-funkcional'nye edinicy organov (sferorgany) opor-no-dvigatel'nogo apparata (ODA). Tez. dokladov XI sezda AGJe. Smolensk, 1993, pp. 182–183.

5. Pigolkin Ju.I., Zolotenkova G.V. Vozrastnye izmenenija kostnoj tkani. Morfologija. Sankt-Peterburg.: 2006, no. 4, p. 101.

6. Prives M.G., Aleksina L.A. Funkcional'naja anatomija toček okostenenija jepifizov dlinnyh trubchastyh kostej. Jaroslavl', 1986, pp. 41–46.

7. Shybina O.S., Bardin V.S., Mel'nikova N.A., Kireeva Yu.V. Izmenenie morfoloģicheskogo sostojanija serdca krys v uslovijah hronicheskoy intoksikacii acetatom svinca. Fundamental'nye issledovanija. M. : «Akademija estestvoznanija», 2011, no. 7, pp. 230–232.

8. Shybina O.S., Kireeva Yu.V., Smertina N.A., Melnicova N.A., Gryslova L.V., Gromova N.V. The interaction in the system mother-placenta-fetus in the conditions of exogenous influence of plumbum. European journal of natural history. 2010, no. 4, pp. 13–16.

Рецензенты:

Федотова Г.Г., д.б.н., профессор кафедры теории и методики физической культуры и спорта, ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный педагогический институт им. М.Е. Евсевьева», г. Саранск;

Здоровинин В.А., д.в.н., доцент, зав. кафедрой морфологии и физиологии животных, ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», г. Саранск.

Работа поступила в редакцию 10.12.2013.