

Ультраструктурное и гистохимическое исследование процесса минерализации метаэпифизарного хряща при острой лучевой болезни¹

Ю.М. Ирьянов, Т.Ю. Ирьянова

The ultrastructural and histochemical study of the mineralization process in metaepiphyseal cartilage for acute radiation sickness

Y.M. Irianov, T.Y. Irianova

Федеральное государственное учреждение

«Российский научный центр "Восстановительная травматология и ортопедия" им. академика Г. А. Илизарова Росмедтехнологий», г. Курган (генеральный директор — заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАМН, д.м.н., профессор В.И. Шевцов)

Процесс минерализации хряща сложен и в полном объеме не достаточно изучен. При острой лучевой болезни морфологические исследования в этой области на ультраструктурно-гистохимическом уровне вообще ранее не проводились. Вместе с тем, в настоящее время в связи с быстрым развитием ядерной энергетики и широким использованием радиоактивных веществ и методов лучевой терапии актуальность таких работ очевидна.

Цель работы — ультраструктурно-гистохимическое исследование минерализации метаэпифизарного хряща большеберцовых костей крыс при острой лучевой болезни.

Материал и методы исследования. Эксперимент выполнен на 50 крысах породы Капюшон в возрасте 4 месяцев. 25 интактных животных составили контрольную группу и 25 облученных животных — опытную. На лучевой терапевтической установке АГАТ-Р1, с использованием источника излучения ⁶⁰Со, однократным тотальным внешним равномерным облучением гамма-квантами в дозе 7,0 Грэй моделировали острую лучевую болезнь костномозгового типа. В контроле и опыте в начале эксперимента, на 3-и, 10-е, 20-е и 30-е сутки из хвостовой вены животных забирали кровь для выполнения гематологических исследований. Определяли содержание в крови форменных элементов: эритроцитов, ретикулоцитов, лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, сегментоядерных и палочкоядерных лейкоцитов. Через 30 суток после облучения выживших животных эвтаназировали передозировкой эфирного наркоза. Большеберцовые кости освобождали от мягких тканей, фиксировали в параформ-глутаральдегиде, постфиксировали в четырехокиси осмия (для выявления липидов и липопротеидов) и заливали в парафин (после декаль-

цинации) и аралдит. При помощи электронно-зондового микроанализатора INCA-200 определяли минеральный состав в различных зонах метаэпифизарного хряща, а на приборе JSM-840 выполняли сканирующую электронную микроскопию ростковых зон исследованных костей. Для гистохимического исследования парафиновые срезы окрашивали по Ван-Гизону, реактивом Шиффа, альциановым синим при pH 2,5 и 1,0 (для выявления несulfатированных и sulfатированных гликозаминогликанов в составе протеогликанов), амидочерным на суммарные белки, галлоцианин-хромалауном на суммарные нуклеопротеиды и по методу альциановый синий-ШИК. Концентрацию красителя в препарате при гистохимическом окрашивании срезов оценивали при помощи метода электронно-зондового микроанализа. Концентрацию альцианового синего, связанного со структурными компонентами препарата, (альцианофилию) определяли по концентрации меди, входящей в состав данного красителя, осмиофилию — по содержанию осмия, а концентрацию галлоцианин-хромалауна — по содержанию хрома.

Результаты и обсуждение. Гематологические исследования выявили резкое, почти в 4 раза снижение численности лейкоцитов на 3-и сутки после облучения (с $12,4 \pm 0,6$ в контроле до $3,2 \pm 0,2$ ($10^9/л$) в опыте), эритропению и значительный ретикулоцитоз на протяжении всего эксперимента, что свидетельствует о развитии острой лучевой болезни костномозгового типа. Кальцификация метаэпифизарного хряща у интактных и облученных животных начинается с ассоциации минерального вещества не с коллагеном, как в костной ткани, а с аморфным компонентом матрикса — протеогликанами и гликопротеинами. Альцианофилия (при pH 1,0) нарастает с резервной к пролиферативной зоне,

¹ Тезисы доклада на Всероссийской научно-практической конференции «Ургентная нейрохирургия: XXI век», проводившейся в РНИИ «ВТО» им. акад. Г. А. Илизарова 22-23 ноября 2007 г.

что свидетельствует об увеличении содержания протеогликанов с градиентом от пролиферативной до зоны созревания и гипертрофии. При этом низкосульфатированные гликозаминогликаны замещаются кислыми высокосульфатированными. Минеральные отложения у фронта минерализации ассоциированы с пузырьками матрикса, внутри которых происходит образование первых кристаллов минерала. В территориальном матриксе вокруг пузырьков формируются конгломераты из обызвествленных коллагеновых фибрилл и основного вещества межфибриллярных пространств, которые образуют кальцесфериты, имеющие у интактных животных диаметр 1,5-2 мкм, располагающиеся в форме трубок вокруг колонок клеток. В межтерриториальном матриксе локализуются обызвествленные коллагеновые волокна. У облученных животных в пролиферативной зоне хряща отме-

чаются повреждения хондроцитов, связанные с недостаточным синтезом белка: конденсация хроматина, уплотнение ядерной мембраны, расширение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума. В гипертрофированных хондроцитах при облучении наблюдается значительное расширение цистерн аппарата Гольджи, что свидетельствует о нарушении секреции. Количество кальцесферитов при облучении снижено, они имеют значительно меньшие размеры (средний диаметр 0,8 мкм). Минерализация хряща при этом ограничивается зоной межтерриториального матрикса, в котором концентрация кальция и фосфора у облученных животных снижается в 1,5-2 раза. Выявленные комплексные изменения свидетельствуют о недостаточной кальцификации метаэпифизарного хряща при острой лучевой болезни.

Рукопись поступила 12.10.07.