

УДК 616.314.17:616.716.85-091.2]-092. 9:613.65

Ю.А. Слинко, Г.И. Губина-Вакулик

Харьковский национальный медицинский университет

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КОСТНОГО КОМПОНЕНТА ПАРОДОНТА У ПОТОМСТВА САМОК КРЫС, ВЫНОШЕННОГО В УСЛОВИЯХ РАЗНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ НАГРУЗКИ

Изучено морфофункциональное состояние костной ткани альвеолярных отростков трёхмесячных потомков крыс-самок, которые находились в условиях гипокинезии во время периода вынашивания. Установлены изменения костного компонента пародонтального комплекса, выражающиеся в уменьшении площади ядер остеоцитов при одновременном увеличении их оптической плотности, снижении интенсивности люминесцентного свечения межклеточного вещества губчатой кости и уменьшении толщины костных балок альвеолярной кости, что можно трактовать как снижение её морфофункциональной активности.

Ключевые слова: гипокинезия матерей, потомство, костная ткань, пародонт, остеоциты.

Костная ткань альвеолярного отростка является частью комплекса тканей пародонта, связанных друг с другом генетически, морфологически и функционально [1]. Многие исследователи считают, что кость способна быстро реагировать на изменения внутренней и внешней среды. Причём это касается как химического состава, так и её структуры [2, 3]. Также альвеолярную кость рассматривают как самую молодую в организме, динамично реагирующую на неблагоприятные воздействия внутренних и внешних факторов [4]. Среди последних особую значимость имеет малоподвижный образ жизни современного человека, последствия которого для состояния костной системы изучены достаточно глубоко [5–7]. Сведения же о влиянии гипокинезии матерей на морфофункциональное состояние костной ткани альвеолярного отростка челюстей их потомства в доступной литературе нами не найдены. Поэтому целью работы явилось изучение морфологических особенностей кости альвеолярного отростка челюстей экспериментальных животных, матери которых находились в условиях различного двигательного режима во время вынашивания.

Материал и методы. Проведено гистологическое изучение костной ткани зубных альвеол 84 трёхмесячных потомков крыс линии Вистар, матери которых в период вы-

нашивания находились в условиях разной двигательной активности. Потомство самок крыс, находившихся во время беременности в клетках стандартного размера, вошло в 1-ю (контрольную) группу (К, n=27). Потомство самок, которые находились в клетках с уменьшённой площадью возможного передвижения, вошло во 2-ю группу (ГК, n=25). Третью группу составило потомство самок крыс, содержащихся в условиях гипокинезии, но регулярно 5 раз в неделю имевших нагрузку бегом в «беличьем колесе» (ГК+Т, n=32). Потомство содержалось в одинаковых условиях до трёхмесячного возраста, после чего было выведено из опыта декапитацией под тиопенталовым наркозом. Работа выполнена в соответствии с положениями «Европейской конвенции о защите хребетных животных, которые используются для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985) и «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Киев, 2001).

Для получения гистологических препаратов костной ткани участки нижней и верхней челюсти с зубными рядами подвергли декальцинации в растворе трихлоруксусной кислоты. Затем традиционно осуществили проводку через спирты возрастающей крепости, заливку в парафин и нарезку срезов толщиной 5–7 мкм. Микропрепараты окра-

© Ю.А. Слинко, Г.И. Губина-Вакулик, 2014

шивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон, галлоцианинхромовыми квасцами по Эйнарсону. Результаты гистологического описания микропрепаратов объективизированы определением значений морфометрических показателей: средней толщины костной балки, средней площади ядра остеоцитов и оптической плотности ядра при окраске галлоцианином по Эйнарсону на суммарные нуклеиновые кислоты. Для определения указанных морфометрических показателей использовали компьютерные изображения микропрепаратов (микроскоп AxioStar-plus, фотокамера Progress C10 – Zeiss, Германия). Кроме того, использовали иммуногистохимическую реакцию на коллаген I типа, составляющий основу кальцинированного межклеточного вещества кости. Кроличьими антителами к коллагену I типа (Thermo scientific, США) в условиях термостата (37 °C) обрабатывали срезы нижней челюсти. После промывания в изотоническом растворе NaCl микропрепараты обрабатывали мечеными ФИТЦ антителами морской свинки к иммуноглобулинам кролика (Thermo scientific), что соответствует двойному методу Кунса. Интенсивность люминесцентного свечения пропорциональна содержанию коллагена I типа. Интенсивность люминесцентного свечения участков межклеточного вещества кости оценивали в условных единицах свечения и определяли на компьютерных изображениях микропрепаратов (микроскоп Axioscop 40, Pixera Pro 150ES – Zeiss, Германия). Морфометрию и оценку интенсивности люминесцентного све-

чения выполняли с использованием программного обеспечения «ВидеоТест» (РФ) и патента на полезную модель Украины № 46489 [7].

Полученные цифровые данные обрабатывали путём проведения вариационного анализа с вычислением критерия Стьюдента. Показатели считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты. Костная ткань альвеолярного отростка состоит из компактного вещества (система остеонов, костные пластинки), располагающегося со стороны оральной и вестибулярной поверхности корневой зубов. Между слоями компактного вещества находится губчатое вещество, состоящее из костных трабекул.

У крыс контрольной группы (потомки интактных самок) компактная пластинка альвеолярного отростка имеет толщину в среднем $(135,2 \pm 10,5)$ мкм (таблица), утолщаясь вглубь челюсти и истончаясь к оральной поверхности. Костные трабекулы губчатой кости расположены вокруг верхушки корня умеренной толщины, варьирующей по длине трабекулы. При окраске по ван Гизон хорошо видно, что органическая основа костных балок – это зрелый интерстициальный коллаген, так как вещество балок фуксинофильное. Остеоциты имеют довольно крупные и светлые ядра. Костномозговые полости заполнены красным костным мозгом, поскольку животные в эксперименте – молодые.

У взрослых потомков самок, выносивших потомство в условиях гипокинезии, компактная костная пластинка альвеолярного

Результаты морфометрии костной ткани альвеолярных отростков челюстей экспериментальных животных

Показатель	Группы		
	К	ГК	ГК+Т
Толщина компактной пластинки альвеолярного отростка, мкм	135,20±10,50	94,70±8,20*	167,70±9,40* [∞]
Толщина костных балок в губчатой альвеолярной кости, мкм	96,53±8,07	65,07±7,86*	103,61±12,61 ^{#∞}
Площадь ядер остеоцитов, мкм ²	30,28±1,38	18,73±1,09*	32,45±1,93 ^{#∞}
Оптическая плотность ядер остеоцитов (окр. галлоцианином, усл. ед. опт. пл.	0,069±0,004	0,103±0,005*	0,072±0,006 ^{#∞}
Интенсивность люминесцентного свечения межклеточного вещества губчатой кости при постановке иммуногистохимической реакции на коллаген I типа, усл. ед. свечения	0,087±0,008	0,051±0,005*	0,138±0,009* [∞]

Примечание. * $p_{К-ГК+Т} < 0,05$; # $p_{К-ГК+Т} < 0,05$; [∞] $p_{ГК-(ГК+Т)} < 0,05$; достоверность различий между сравниваемыми группами.

отростка достоверно тоньше, чем в контрольной группе и составляет в среднем ($94,7 \pm 8,2$) мкм ($p_{\text{К-ГК}} < 0,05$), таблица. Костные трабекулы губчатой кости вокруг верхушки корня зуба также тоньше, а интенсивность фуксинофилии меньше. Использование морфометрии в изучении морфофункционального состояния кости показало, что у молодых взрослых потомков гипокинетичных во время вынашивания самок наблюдается достоверное уменьшение средней толщины костной трабекулы, наличие более мелких и гиперхромных ядер у остеоцитов, уменьшение интенсивности свечения межклеточного вещества при постановке иммуногистохимической реакции на коллаген I типа с ФИТЦ-визуализацией (таблица). Это свидетельствует о пониженном морфофункциональном состоянии остеоцитов и, вероятно, более низкой активности синтеза белков в остеоцитах, об уменьшении прочности кости к воздействию повреждающего фактора и уменьшению регенераторных возможностей. Кроме того, отмечено гипопластичное (по сравнению с контролем) состояние красного костного мозга.

Регулярные кратковременные тренировки бегом гипокинетичных самок крыс (группа ГК+Т) при вынашивании потомства привели к формированию у взрослого потомства массивной компактной пластинки в альвеолярном отростке, достоверно более толстой, чем у крыс групп ГК и К: ($167,7 \pm 9,4$) мкм ($p < 0,05$). Костные трабекулы в губчатой кости вокруг верхушки корня зуба также более толстые, местами уже произошла замена губчатой кости в этих участках компактной кости. При окраске пикрофуксином по ван Гизон фуксинофилия более интенсивная, чем в группе К. Костномозговые полости обширнее по сравнению с таковыми у потомков гипокинетичных самок, а красный костный мозг – гиперпластичный. Анализ данных морфометрических исследований костной ткани (таблица) показал их нормализацию. Средняя толщина костных трабекул в альвеолярной кости не отличается от таковой в группе контроля. Содержание коллагена I типа как органического вещества костной ткани оказалось выше, чем в группе не только ГК, но и К ($p < 0,05$). Размер ядер остеоцитов и оптическая плотность ядра при окраске микропрепаратов галлоцианинхромовыми квасцами также нормализуются, то есть можно предполагать успешную коррекцию

тренировками негативного результата гипокинетического образа жизни матери на костный компонент пародонта у потомков. Средняя толщина костной балки свидетельствует о прочности кости. Размер ядер остеоцитов и его оптическая плотность говорят об активности функционирования ядра для организации белоксинтетического процесса в цитоплазме.

Таким образом, исследование доказывает негативное влияние недостаточной физической активности особи во время вынашивания потомства на морфофункциональное состояние костного компонента пародонта потомства. Кроме того, доказано, что регулярные физические нагрузки на фоне гипокинетического содержания животного во время вынашивания полностью нивелируют негативное влияние недостаточной физической активности на морфофункциональное состояние костного компонента периодонта потомка.

В настоящее время вопросы, касающиеся гипокинезии во время беременности и влияния физических нагрузок на течение беременности, роды, плод и новорождённого ребёнка изучают в основном акушеры. Например, на большом клиническом материале установлено, что повышенная физическая активность беременной никоим образом не ухудшает течение беременности и роды, так как не связана с недоношенностью, с необходимостью госпитализации новорождённого, при этом отмечено уменьшение шансов кесарева сечения [8]. Также доказано, что адекватные физические нагрузки беременных обеспечивают улучшение состояния новорождённого [9], в частности, влияя на сосудистую и антиоксидантную системы плаценты путём регулирования метаболизма эндотелиальных субстанций eNOS и NO [10].

Абсолютно новым в настоящем исследовании является изучение и обнаружение описанных эффектов у взрослых потомков. Потомство самок всех исследованных групп после рождения и до выведения из эксперимента содержалось в одинаковых условиях. То есть внутриутробно действующий материнский фактор (уровень физической активности) имеет выраженный морфофункциональный след в постнатальном онтогенезе.

Выводы

Под влиянием недостаточной двигательной активности самок в период вынашивания

у взрослого потомства наблюдается уменьшение толщины костной компактной пластинки и костных трабекул в губчатой кости со снижением морфофункциональной активности ядер остеоцитов. Это подтверждается снижением значения величины ядра при одновременном увеличении его оптической плотности при проведении окрашивания на нуклеиновые кислоты. Очевидно, что в таком случае в остеоцитах процесс синтеза белка происходит на пониженном уровне, подтверждением чего является также уменьшение содержания коллагена в костной ткани. Установленные морфофункциональные осо-

бенности кости подтверждают мнение о том, что материнская гипокинезия во время вынашивания потомства является риск-фактором снижения устойчивости костной ткани к действию инфекционного фактора и её быстрого вовлечения в воспалительный процесс.

Вместе с тем, непродолжительная физическая нагрузка во время вынашивания потомства гипокинетичными самками существенно улучшает морфофункциональное состояние костного сегмента пародонтального комплекса потомства и может быть рассмотрена как способ первичной профилактики заболеваний тканей пародонта.

Список литературы

1. Дмитриева Л.А. Современные аспекты клинической пародонтологии / Л.А. Дмитриева. – М., 2001. – 125 с.
2. Поворознюк В.В. Костная система и заболевания пародонта / В.В. Поворознюк, И.П. Мазур. – К., 2003. – 446 с.
3. Hazenberg J.G. The role of osteocytes in functional bone adaptation / J.G. Hazenberg, T.C. Lee, D. Taylor // Bone Key-Osteovision. – 2006. – Vol. 3, № 2. – P. 10–16.
4. Пародонтит / под ред. Л.А. Дмитриевой. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 504 с.
5. Родіонова Н.В. Цитологічні механізми перебувань у кістках при гіпокінезії та мікрогравітації / Н.В. Родіонова. – К.: Наук. думка, 2006. – 236 с.
6. Золотова-Гайдамака Н.В. Архитектоника остеоцитов и костной ткани бедренной кости крыс при гипокинезии / Н.В. Золотова-Гайдамака // Український морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8, № 3. – С. 48–50.
7. Пат. 46489 Україна, МПК2009 G01N. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах / Г.І. Губіна-Вакулік, І.В. Сорокіна, В.Д. Марковський [та ін.]; ХНМУ. – заявл. 26.06.09; опубл. 25.12.09. Бюл. № 24.– С. 4.
8. Exercise during pregnancy and risk of late preterm birth, cesarean delivery, and hospitalizations / J. Tinloy, C.H. Chuang, J. Zhu [et al.] // Womens Health Issues. – 2014; Jan-Feb. – Vol. 24 (1). – P. 99–104.
9. Influence of prenatal physical activity on the course of labour and delivery according to the new Polish standard for perinatal care // A. Szumilewicz, A. Wojtyla, A. Zarebska [et al.] // Ann. Agric Environ Med. – 2013. – Vol. 20 (2). – P. 380–389.
10. Effect of exercise training on enos expression, NO production and oxygen metabolism in human placenta / R. Ramirez-Velez, J. Bustamante, A. Czerniczyniec [et al.] // PLoS One. – 2013.– Vol. 8 (11). – P. 802–825.

Ю.О. Слинко, Г.І. Губіна-Вакулік

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ КІСТКОВОГО КОМПОНЕНТУ ПАРОДОНТА У ПОТОМСТВА САМОК ЩУРІВ, ВИНОШЕНИХ В УМОВАХ РІЗНОГО РУХОВОГО НАВАНТАЖЕННЯ

Вивчено морфофункціональний стан кісткової тканини альвеолярних відростків тримісячних нащадків щурів-самок, які знаходилися в умовах гіпокінезії під час виношування. Встановлені зміни кісткового компонента пародонтального комплексу, які виражалися в зменшенні площі ядер остеоцитів при одночасному збільшенні їх оптичної щільності, зниженні інтенсивності люмінесцентного світіння міжклітинної речовини губчастої кістки і зменшенні товщини кісткових балок альвеолярної кістки, що можна трактувати, як зниження її морфофункціональної активності.

Ключові слова: гіпокінезія матерів, потомство, кісткова тканина, пародонт, остеоцити.

Yu.A. Slin'ko, G.I. Gubina-Vakulik

MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF PERIODONTAL BONE COMPONENT OF FEMALE RATS OFFSPRING WORN-OUT UNDER DIFFERENT MOTOR LOAD

The morphofunctional state of bone tissue of the alveolar processes of 3-month female offspring of rats that were in hypokinesia during the period of gestation has been studied. The changes of the bone part of periodontal complex have been detected, that are seenable through the reduction of the area of osteocytes nuclei while increasing their optical density, reducing the intensity of the luminescence of the intercellular substance of trabecular bone and thinning of bone trabeculae of the alveolar bone which can be interpreted as a reduction of its morphofunctional activity.

Key words: *mothers' hypokinesia, offspring, bone tissue, paradontium, osteocytes.*

Поступила 17.02.14