

ЛИПИДЫ И ФОСФОЛИПИДЫ ЗАКЛАДОК ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ ЧЕЛОВЕКА В РАЗЛИЧНЫХ ГЕОХИМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Асадулаева М.Н.¹, Лазько А.Е.²

¹ БГОУ ВПО "Дагестанская государственная медицинская академия Минздрава России", Махачкала, Республика Дагестан, Россия (367012, Махачкала, пл. им. В.И. Ленина, 1), e-mail: dgma@iwt.ru

² БГОУ ВПО "Астраханская государственная медицинская академия Минздрава России", Астрахань, Россия (414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121), e-mail: radmila56@mail.ru

Методами гистохимии и трансмиссионной электронной микроскопии исследовались содержание и локализация липидов и фосфолипидов в закладках бедренных костей человека от 6 до 12 недель пренатального развития в различных геохимических условиях Нижнего Поволжья (г. Астрахань) и Северного Кавказа (г. Махачкала). Наблюдалось отпочковывание осмиофильных, содержащих липиды тел – везикул матрикса, от цитолемм хондроцитов, особенно находящихся в зоне гипертрофии метаэпифизарного хряща, и выход данных тел в межклеточное пространство. Определяется более интенсивное, статистически достоверное увеличение числа везикул матрикса в зоне роста закладок бедренных костей в Махачкале по сравнению с Астраханью на всех изучаемых этапах пренатального онтогенеза. Этот факт сочетается с большим количеством везикул матрикса в геохимическом регионе с большей минерализацией окружающей среды. При оксификации и минерализации закладок бедренных костей человека в них наблюдается снижение содержания нейтральных липидов. Напротив, содержание фосфолипидов увеличивается за счет их представителей – активаторов минерализации. Данные процессы опережающими темпами идут в геохимической зоне с повышенной минерализацией окружающей среды.

Ключевые слова: липиды, фосфолипиды, закладки трубчатых костей человека, геохимические условия, трансмиссионная электронная микроскопия.

LIPIDS AND PHOSPHOLIPIDS OF LAYING HUMANS TUBULAR BONES IN DIFFERENT GEOCHEMICAL CONDITIONS

Asadulaeva M. N.¹, Lazko A. E.²

¹ Dagestan state medical academy, Makhachkala, Dagestan, Russia (367012, Makhachkala, Lenin Square, 1), e-mail: dgma@iwt.ru

² Astrakhan state medical academy, Astrakhan, Russia (414000, Astrakhan, Bakinskaya St., 121), e-mail: radmila56@mail.ru

Methods of histochemistry and transmission electron microscopy were studied content and localization of lipids and phospholipids in laying thighs from 6 to 12 weeks of prenatal development in different geochemical conditions of the Lower Volga (Astrakhan) and the North Caucasus (Makhachkala). Observed formation of osmophilic lipid containing bodies – vesicles matrix, from cellular wall of chondrocytes, especially in the zone of hypertrophy metaepiphysis cartilage, and output data of bodies in the intercellular space. Determined more intense, a statistically significant increase in the number of vesicles matrix in the growth zone of laying thighs in Makhachkala compared to Astrakhan studied at all stages of prenatal ontogenesis. This fact combined with a large number of vesicles matrix in geochemical region with higher mineralization of the environment. If ossification and mineralization laying thighs of man in them there is a decrease in the content of neutral lipids. On the contrary, the content of phospholipids increases due to their representatives – activators of mineralization. These processes faster go in geochemical area with high mineralization of the environment.

Keywords: lipids, phospholipids, laying humans tubular bones, geochemical conditions, transmission electron microscopy.

Внимание исследователей уже многие годы привлекает роль липидов в морфогенезе кальцифицирующихся тканей. J.T. Irving ещё в 1963 г. [4] показал, что во всех тканях, подвергающихся биологической кальцификации, в районе фронта минерализации можно обнаружить суданофильный липидный материал. Он также выявил наличие липидов в

участках кальцифилаксии, патологической эктопической кальцификации, вызванной гиперпродукцией паратгормона [5]. О большом значении липидов в механизме минерализации костной ткани свидетельствует тот факт, что при заболеваниях, отрицательно влияющих на кальцификацию (рахит, цинга), липидное вещество исчезает из зоны отложения минералов. Когда кальцификация восстанавливается с получением организмом витамина D или аскорбиновой кислоты, это вещество вновь начинает выявляться [7].

В то же время морфогенез костей связан с качественным и количественным содержанием неорганических компонентов окружающей среды, в частности, металлов. На территории нашей страны существует множество регионов, резко различающихся по содержанию металлов в источниках водопотребления. Например, концентрация таких металлов, как Cr, Co, Cu, Se, Cd и Sb в водах Дагестана в разы превышает таковое в реках Нижнего Поволжья [1].

Цель исследования

Выявление различий в локализации, содержании, спектре нейтральных липидов и фосфолипидов в закладках бедренных костей человека в процессе раннего остеогенеза в условиях г. Астрахани и г. Махачкалы.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования служили бедренные кости и их закладки 47 зародышей и предплодов женского пола от 6 до 12 недель пренатального развития, полученных в результате искусственного прерывания беременности у практически здоровых женщин, и преждевременных родов, обусловленных экзогенным воздействием, из прозектур, акушерских и гинекологических клиник г. Астрахани и г. Махачкалы в осенне-зимний период. Женщины, от которых был получен материал исследования, имели сходный социальный и бытовой статус.

Гистохимически липиды в закладках бедренных костей изучали на криостатных срезах с использованием окраски нейтральных липидов Суданом III и IV по Кею – Уайтхеду и выявлением фосфолипидов жженым Суданом черным В по Беренбауму [3].

Для контроля специфичности реакций и идентификации липидов и фосфолипидов применялись экстракционные методы по Кейлиг и Бекер [3]. Для исключения возможного маскирующего эффекта окрашивания полисахаридов на выявление липидов, контрольные препараты подвергались обработке тестикулярной гиалуронидазой [2].

Материал для электронномикроскопического исследования липидов обрабатывали и заливали в эпон по ускоренному методу, обеспечивающему сохранность данных веществ [6].

Количественные данные, полученные в ходе выполнения исследования, проанализированы с помощью методов вариационной статистики и определения

достоверности различий. При проведении статистической обработки использовалась утилита OpenOffice Calc из свободно распространяемого программного продукта OpenOffice (Ver. 3.0), работающая под управлением операционной системы Windows XP Home Edition (сертификат OEM X12-53766).

Результаты исследования и их обсуждение

На ранних стадиях остеогенеза (6–8 недель внутриутробного развития) в закладках бедренных костей и в г. Астрахани, и в г. Махачкале большинство хондроцитов эпифизарного отдела и гиалиновой зоны метаэпифизарного хряща содержат неравномерно распределенные в цитоплазме 3–5 небольших липидных капелек. Они варьируют по величине, имеют овальную или округлую форму и четкие очертания (рис. 1).

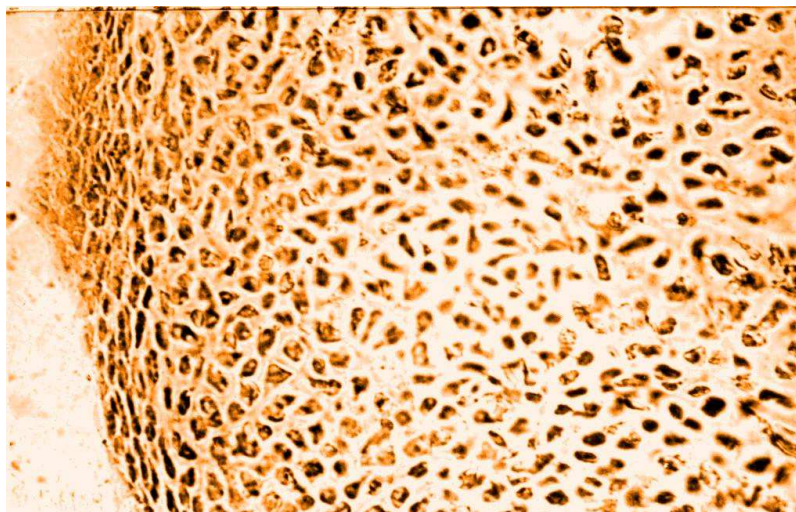


Рис. 1. Локализация нейтральных липидов в хондроцитах эпифизарного отдела закладки бедренной кости предплода человека 7 недель внутриутробного развития из г. Махачкалы. Окраска по Кею – Уайтхеду. Об. 20, ок. 10

В зоне метаэпифизарного хряща число хондроцитов, содержащих липиды, уменьшается, а в диафизарном отделе закладок бедренных костей на данной стадии развития встречается еще меньше хрящевых клеток с липидными включениями.

Положительная реакция на фосфолипиды обнаруживалась только в отдельных хондроцитах зоны гипертрофии метаэпифизарного хряща закладок бедренных костей зародышей и предплодов человека 6–8 недель, в межклеточном веществе реакция была слабо положительной (рис. 2).

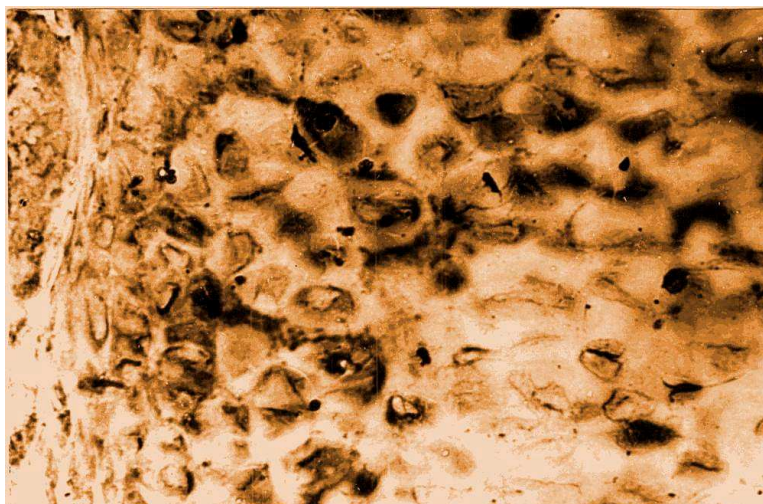


Рис. 2. Локализация фосфолипидов в хондроцитах и межклеточном веществе зоны гипертрофии метаэпифизарного хряща закладки бедренной кости предплода человека 7 недель внутриутробного развития из г. Астрахани. Окраска по Беренбауму. Об. 20, ок. 10

На стадиях 9, 10 недель внутриутробного развития липиды выявлялись в хондроцитах метаэпифизарного хряща закладок бедренных костей человека в обеих изучаемых геохимических зонах большей частью в виде 4–6 крупных округлых капель и изредка обнаруживались в межклеточном веществе.

Наблюдалось отпочковывание осмиофильных тел, т.н. везикул матрикса, от хондроцитов, особенно находящихся в зоне гипертрофии метаэпифизарного хряща, и выход данных тел в межклеточное пространство (рис. 3). Хондроциты закладок бедренных костей человека на различных этапах развития несут на своей поверхности неодинаковое количество везикул матрикса, которые представляют собой осмиофильные электроноплотные глобулярные структуры диаметром 0,1–0,3 мкм, окруженные мембраной. Везикулы матрикса могут быть связаны с клеточной поверхностью хондроцитов и остеобластов на их теле или отростках, располагаться в межклеточном пространстве хряща и остеоида в соседстве с волокнами коллагена.

На всех изучаемых стадиях пренатального развития и в г. Астрахани, и в г. Махачкале наименьшее число этих структур ассоциировано с хондроцитами зоны пролиферации, а наибольшее – с хрящевыми клетками зоны дегенерации. Выявлено резкое статистически высокодостоверное увеличение числа везикул матрикса в зоне гипертрофии по сравнению с зоной роста. Обращает на себя внимание более интенсивное, статистически достоверное ($P < 0,05$) увеличение числа везикул матрикса в зоне роста закладок бедренных костей в г. Махачкале по сравнению с г. Астраханью на всех изучаемых этапах пренатального онтогенеза. Этот факт сочетается с общим большим количеством везикул матрикса в первом геохимическом регионе, которое было отмечено в нашем исследовании, и наводит на мысль о более интенсивных процессах ранней минерализации в г. Махачкале.

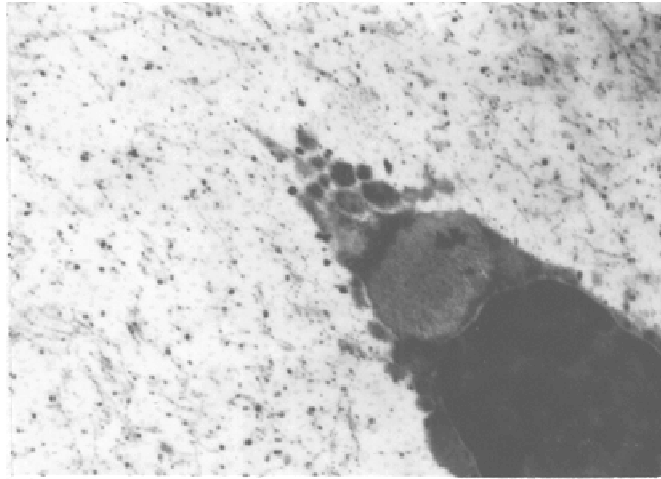


Рис. 3. Трансмиссионная электронограмма хондроцита зоны гипертрофии метаэпифизарного хряща закладки бедренной кости предплода человека 9 недель из г. Астрахани. Видны отпочковывающиеся от хондроцита осмиофильные везикулы матрикса. Обработка препарата по Стайну – Стайну. Ув. x14000

Фосфолипиды давали положительную реакцию в зонах гипертрофии, дегенерации и минерализации метаэпифизарного хряща закладок бедренных костей на этих этапах пренатального развития человека (рис.4).

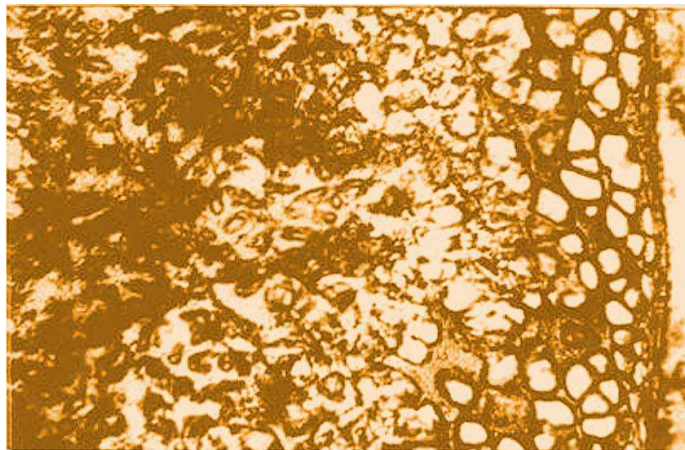


Рис. 4. Локализация фосфолипидов на цитолеммах хондроцитов и в межклеточном веществе зоны дегенерации метаэпифизарного хряща закладки бедренной кости предплода человека 10 недель из г. Махачкалы. Окраска по Беренбауму. Об. 10, ок. 10

Из проведенного исследования локализации, качественного и количественного состава липидов на ранних стадиях пренатального остеогенеза (от 6 до 12 недель внутриутробного развития) следует, во-первых, что вещества этой группы присутствуют во всех отделах закладок бедренных костей этого периода, и, во-вторых, количественное содержание липидов и их качественный состав определенным образом изменяются в зависимости от локализации в закладке и стадии остеогенеза.

С помощью гистохимических реакций на нейтральные липиды наблюдалось уменьшение содержания выявляемых веществ данной группы при последовательном рассмотрении зон метаэпифизарного хряща закладок бедренных костей от гиалиновой зоны

до зоны гипертрофии (в закладках костей зародышей и предплодов человека 6–8 недель) или зоны минерализации (в закладках бедренных костей предплодов 9, 10 и 11, 12 недель пренатального развития) в обеих изучаемых геохимических зонах.

Соответствие увеличения содержания фосфолипидов интенсификации процессов оссификации и минерализации видно из того, что степень выраженности гистохимических реакций значительно усиливается в зоне минерализации, особенно в закладках бедренных костей предплодов 11, 12 недель внутриутробного развития.

Таким образом, при оссификации и минерализации закладок бедренных костей человека в них наблюдается снижение содержания нейтральных липидов. В то же время содержание фосфолипидов увеличивается за счет активаторов минерализации. Данные процессы опережающими темпами идут в геохимической зоне с повышенной минерализацией окружающей среды.

Список литературы

1. Бутаев А.М. Тяжелые металлы в речных водах Дагестана / А.М. Бутаев, М.А. Гуруев, У.Г. Магомедбеков, Н.Ф. Осипова, Х.М. Магомедрасулова, А.Д. Магомедова, А.А. Мухучев // Вестник дагестанского научного центра. – 2006. – № 26. – С. 43-50.
2. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 405 с.
3. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. – М.: Иностранная литература, 1962. – 962 с.
4. Irving J.T. The sudanophil material at sites of calcification // Arch.oral.Biol. 1963. Vol. 8. P.735-745.
5. Irving J.T. Lipids and calciphylaxis // Arch.oral Biol. 1965. Vol. 10. P.189-190.
6. Stein O., Stein Y. Lipid analysis: intracellular transport, storage, and secretion // J.Cell Biol. 1967. Vol. 33. P.319-339.
7. Weiner S., Troub W., Wagner H.D. Lamellar bone: structure-function relations // J. Struct. Biol. 1999. № 126. P. 241-255.

Рецензенты:

Сентюрова Л.Г., д.м.н., профессор, зав. кафедрой медицинской биологии Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань.

Наумова Л.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой гистологии и эмбриологии Астраханской государственной медицинской академии, г. Астрахань.