



Н. В. Родионова, П. М. Мажуга,
Е. И. Домашевская, Б. А. Горский, Г. Б. Накоренко

ИЗМЕНЕНИЯ В СТРУКТУРЕ КОСТНОГО СКЕЛЕТА В СВЯЗИ С ИНКОРПОРАЦИЕЙ РАДИОНУКЛИДОВ

С использованием методов гистологии, электронной микроскопии и радиохимии исследовали состояние костного скелета у животных (мышевидные грызуны, норки), обитающих в Зоне отчуждения. Определено содержание ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{134}Cs в костях за период 1989 — 1993 гг. Описаны изменения в гистоструктуре периоста, эндоста и компакты кости, а также в метаэпифизарной пластинке роста. Обсуждаются биологические механизмы выявленных изменений.

Клинические наблюдения и результаты экспериментальных исследований последних лет полностью опровергли представление о высокой радиорезистентности костной ткани. Костная ткань обладает способностью депонировать радионуклиды (РН). Морфо-физиологической базой кумулирования РН является уникальная структура, химический состав и метаболизм костной ткани [1,7]. Особо опасен Sr, являющийся остеотропным элементом с большим периодом полураспада, которым загрязнена Зона отчуждения и другие районы. ^{90}Sr фиксируется в кости, замещая кальций в кристалле оксиапатита, в результате чего в кости создается источник хронического облучения [2,7]. Это может приводить к развитию патологических изменений в кости, которые изучены еще мало. Следует учитывать, что костная ткань и ее клетки являются элементами кровяного микроокружения. Депонирование РН в кости может существенно повлиять на процессы кроветворения в костном мозге [3]. За годы, прошедшие после аварии, частота появления хромосомных aberrаций в клетках костного мозга у животных не уменьшается [5]. В связи с консерватизмом костной ткани пострадиационные изменения в ней могут проявиться в отдаленные сроки после аварии. Уже сейчас возрос уровень заболеваний опорно-двигательного аппарата, особенно у детей. Поэтому изучение состояния костной ткани и костного скелета у животных в условиях обитания в Зоне отчуждения актуально.

Задача настоящей работы — изучение структурных изменений в кости животных (мышевидные грызуны), обитающих в Зоне, и норки, содержащихся на звероферме отдела экспериментальной радиобиологии животных НТЦ НПО «Припять».

Материал и методы исследования. В качестве объектов для исследования отловлено в естественных биоценозах 35 взрослых лесных мышей и полевок, из них в зоне ЧАЭС — 19 животных, на условно чистых территориях — 16 животных. Эти животные не склонны к миграции, поскольку они на протяжении всей своей жизни употребляли загрязненный РН корм. Материал от норки был взят в 1992 г. (6-месячные и 2-годовалые особи) и в 1993 (1- и 2-годовалые особи) — всего 10 животных. Как контроль были отобраны животные аналогичного возраста на зверофермах (г. Черкассы, г. Житомир). Для гистологических исследований трубчатые кости конечностей фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине (3 — 4 недели), затем проводили декальцинацию материала (2 — 4 месяца) в 10%-ном растворе ЭДТА или 8%-ном растворе HNO_3 , обезвоживали и заключали в парафин.

Гистосрезы окрашивали гематоксилин-тионин-эозином, гематоксилином по Деллафильду, ставили гистохимические реакции: на выявление в кости ШИК-положительных субстанций (ШИК-реакция) и сульфатированных гликозаминогликанов (альциановым синим), коллагеновые волокна выявляли по методу Маллори.

Для электронной микроскопии образцы кости фиксировали в 2,5%-ном растворе глутаральдегида, напыляли золотом и просматривали в растровом микроскопе «Тесла BS-301». Содержание РН (стронция-90, цезия-137, цезия-134) в костях скелета у экспериментальных животных определяли γ -спектрометрическим и радиохимическим методами на базе НПО «Припять».

Результаты исследования. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что у мышевидных грызунов, постоянно находящихся в условиях Зоны отчуждения, в костях скелета, по сравнению с контролем, увеличивается количество РН, и прежде всего стронция-90 (табл. 1). У норок, содержащихся на звероферме вблизи АЭС и получающих корм, загрязненный РН, в костном скелете также происходит накопление стронция-90 (табл. 2). Его количество в костях у норок в разные годы (1992 и 1993 гг.) после аварии остается примерно на одном и том же уровне.

Т а б л и ц а 1. Содержание РН в костях скелета у мышевидных грызунов

Животные		РН, Ки/кг массы		
		^{134}Cs	^{137}Cs	^{90}Sr
Мышь домовая	(кости конечностей, 1992)	$1,1 \cdot 10^{-8}$	$3,1 \cdot 10^{-8}$	$2,8 \cdot 10^{-6}$
» полевая	(» » ,1993)	$3,2 \cdot 10^{-8}$	$2,2 \cdot 10^{-8}$	$3,2 \cdot 10^{-7}$
» »	(» скелета ,1993)	$5,4 \cdot 10^{-8}$	$3,1 \cdot 10^{-9}$	$1,4 \cdot 10^{-6}$
» лесная	(» конечностей,1993)	$2,7 \cdot 10^{-8}$	$5,5 \cdot 10^{-8}$	$4,3 \cdot 10^{-7}$
Контроль (Киев, Феопания)				
Мышь домовая	(кости конечностей ,1992)	$2,2 \cdot 10^{-9}$	$2,9 \cdot 10^{-9}$	$1,9 \cdot 10^{-9}$
» »	(» » ,1993)		$5,7 \cdot 10^{-8}$	$5,2 \cdot 10^{-9}$
» полевая	(» скелета ,1993)	$1,7 \cdot 10^{-10}$	$7,1 \cdot 10^{-9}$	$6,4 \cdot 10^{-9}$
» лесная	(» конечностей ,1993)	$3,0 \cdot 10^{-9}$	$1,1 \cdot 10^{-10}$	$2,7 \cdot 10^{-10}$

Т а б л и ц а 2. Содержание РН в костях скелета у норок

Животные		РН, Ки/кг массы		
		^{134}Cs	^{137}Cs	^{90}Sr
Норка половозрелая	(1989)	$9,2 \cdot 10^{-9}$	$1,5 \cdot 10^{-7}$	$8,8 \cdot 10^{-8}$
» »	(1990)	$4,2 \cdot 10^{-9}$	$5,6 \cdot 10^{-8}$	$5,9 \cdot 10^{-8}$
» »	(1991)	$3,7 \cdot 10^{-9}$	$6,1 \cdot 10^{-8}$	$1,4 \cdot 10^{-8}$
» молодая	(1993)	$1,1 \cdot 10^{-8}$	$1,7 \cdot 10^{-7}$	$1,2 \cdot 10^{-7}$
Контроль (Житомир, Черкассы)				
Норка половозрелая	(1989)	$8,5 \cdot 10^{-8}$	$1,3 \cdot 10^{-8}$	$7,1 \cdot 10^{-9}$
» »	(1990)	$1,8 \cdot 10^{-9}$	$1,2 \cdot 10^{-8}$	$9,5 \cdot 10^{-9}$
» »	(1991)	$4,0 \cdot 10^{-9}$	$6,0 \cdot 10^{-8}$	$1,7 \cdot 10^{-11}$
» »	(1993)	—	$4,2 \cdot 10^{-9}$	$1,2 \cdot 10^{-9}$

Накопление стронция-90 в костях скелета у мышей и норок, являющегося конкурентом кальция при формировании минерального компонента кости, несомненно, должно сказаться на интенсивности ростовых и остеопластических процессов в кости, структуре межклеточного матрикса.

Результаты исследований показали, что гистоструктура периоста, периостальной кости и отдельных локусов мезостальной компакты у половозрелых мышей близка к нормальной, имеет продольно ориентированную волокнистость с относительно равномерным распределением остеоцитов. В то же время внутренний слой эндостальной компакты и значительная часть мезоста обнаруживают ряд изменений, которые у контрольных особей обычно не встречаются.

В частности, костная ткань здесь неравномерна по плотности, количественному распределению остеоцитов и межклеточного волокнистого вещества (рис. 1 и 2). В фибриллярном матриксе отмечаются вихревидные завитки, очаги уплотнения без видимой продольной ориентировки коллагеновых волокон.

Остеоциты в местах уплотнения и завитков волокон расположены сравнительно часто (50 — 60 и более в поле зрения) и неравномерно. Очаги костной ткани с уплотненной и измененной архитектоникой волокон выделяются базофильной окраской, поэтому общая картина костной компакты в диафизарных областях трубчатых костей на окрашенных гематоксилином и эозином срезах выглядит мозаично. Клетки (остеоциты) в базофильных очагах костной ткани отличаются большим разнообразием по размерам, форме, окраске и плотности распределения в матриксе. В завитках коллагеновых фибрилл они нередко располагаются гнездами. Такие отклонения в структурном состоянии клеток и матрикса костной ткани являются результатом извращенного течения остеогенеза, который по многим признакам напоминает встречающийся в костной патологии несовершенный остеогенез (*Osteogenesis imperfecta*).



Рис. 1. Изменения в костном матриксе по типу несовершенного остеогенеза; окраска гематоксилин-тионин-эозин (увеличение 400)

Со стороны эпифизарной хрящевой пластинки роста в зоне метафиза заметны обширные полости и ниши резорбции хряща при крайне невыразительных признаках образования губчатой субстанции кости, т. е. имеет место нарушение эндостального остеогенеза.

Метаэпифизарная пластинка роста у 6-месячных норок хорошо выражена и имеет характерную структуру в виде столбиков хондроцитов с прослойками хряща между ними. Она хорошо видна на гистопрепаратах, окрашенных гематоксилин-тионин-эозином, а также при окраске альциановым синим (рН 1,4). У 6-месячных норок метаэпифизарная пластинка вдвое массивнее, чем у животных 1-годичного возраста. У животных 2-годичного возраста ростковый хрящ уже находится в состоянии, близком к полному замещению костью.

От темпов репродукции хондроцитов, их созревания и времени перехода в гипертрофированное состояние в метаэпифизарном хряще зависит скорость роста трубчатой кости, поэтому количественный показатель содержания хондроцитов в столбиках можно использовать как критерий его функциональной оценки. Отмечены различия в темпах роста скелета у животных из Зоны отчуждения и контрольной группы. В дистальном метаэпифизарном хряще бедренной кости 1-годичных норок (контроль) вертикальные колонки в зоне гипертрофии содержат $7,2 \pm 0,3$ хондроцитов, тогда как у норок со зверофермы в зоне таких клеток насчитывается $5,1 \pm 0,2$. Это свидетельствует о том, что темпы продольного роста скелета у норок Зоны ЧАЭС ниже, чем у контрольных животных.



Рис. 2. Неравномерность расположения остеоцитов в костном матриксе; окраска гематоксилин-тионин-эозин (увеличение 280)

В фибриллярном каркасе периоста выявлены зоны деструкции и разрушения фибриллярных пучков. Периостальная кость разрыхлена, в ней встречаются участки резорбции, заполненные клетками фибробластического типа. По-видимому, здесь имеет место процесс фиброзной остеодистрофии. Аналогичные участки фиброзного перерождения кости обнаруживаются на эндостальной поверхности.

Окраска структур кости с помощью метода Маллори позволила выявить в эндостальной кости очаги деминерализации костного матрикса. Характерным для компакты кости норок из Зоны ЧАЭС является неравномерность распределения остеоцитов (рис. 2). Это отражает неравномерность остеопластического процесса в ходе морфогенеза кости.

На сканограммах в компакте выявлены своеобразные расколы и «щели», иногда заполненные фибриллярной тканью. Вероятно, это зоны деминерализации. В отдельных зонах компакты у норок, как и у мышей из Зоны ЧАЭС, коллагеновые фибриллы матрикса теряют типичную упорядоченность и имеют вид завитков с уплотнениями (по типу несовершенного остеогенеза).

Обсуждение полученных данных. При хроническом поступлении в Зоне отчуждения в малых дозах РН (прежде всего стронция-90) в организм животных с пищей, водой, при вдыхании с воздухом происходит его постоянное включение в состав минерализованного костного матрикса, в результате чего в системе костного скелета развивается комплекс адаптивно-компенсаторных и патологических реакций на тканевом и клеточном уровнях.

Среди структур и факторов, имеющих существенное значение в депонировании в кости РН, следует отметить высокий уровень кровоснабжения кости, большую площадь поверхностей костных трабекул, прилежащих к кровотоку, характер строения кровеносного русла, трофическую каналулярно-лакунарную сеть в ее компакте, а также особенности ростовых процессов в ходе онтогенеза [1, 4, 7].

В трубчатой кости наиболее высокая концентрация РН обнаружена в зонах метафиза (ростковых зонах кости), где наблюдается интенсивная васкуляризация с явлениями стаза крови [1]. Наши исследования на норках из Зоны ЧАЭС показали, что накопление в костях стронция-90 и цезия-137 сопровождается снижением интенсивности ростовых процессов в метаэпифизарных хрящевых пластинках и трубчатых костей в целом.

В периостальной и эндостальной кости, а также в компакте выявлены

очаги фиброзной остеодистрофии. В основе их появления лежит деминерализация матрикса кости, обусловленная элиминацией кальция для поддержания его гомеостаза в организме.

Выявленные у мышей и норок изменения в костном матриксе по типу несовершенного остеогенеза описаны у людей как периостальная дистрофия, врожденная хрупкость костей, болезнь Лобштейна; в нашем случае обращалось внимание на явления генерализованного остеопороза и повышенную ломкость костей. Несовершенное костеобразование — болезнь, передающаяся по наследству по аутосомно-доминантному типу. Объяснить появление подобных нарушений в костной ткани у животных, обитающих в Зоне отчуждения, можно следующим образом. Поскольку отложения костного минерала распределяются преимущественно по ростковым зонам кости (периост, эндост, метафизы), то накапливающийся в зонах роста радиоактивный стронций непосредственно воздействует на функционально активные популяции остеогенных клеток. Основной функцией остеобластов, как известно, является продуцирование органической части матрикса костной ткани (коллагеновых белков и гликозаминогликанов). Выдача геном (генами) информации в виде транскрипции специфических информационных РНК происходит в условиях временного разобщения нитей двуспиральной ДНК, когда каждая из них оказывается в наиболее уязвимом для мутагенов состоянии. Именно в процессе транскрибирования в полинуклеотидных цепях ДНК под действием ионизирующего фактора могут возникать нарушения, которые отрицательно скажутся на полноценности выдаваемой информации и построении белковых молекул, а значит, и на всем последующем ходе остеопластического процесса. В костях скелета у животных из зоны радиоактивного загрязнения в связи с инкорпорацией стронция-90 и цезия-137 создаются условия, приводящие к нарушениям в генетическом коде остеогенных клеток и коллагеногенезе, напоминающим по своим последствиям несовершенный остеогенез. Повреждение метаболизма коллагена является одним из основных моментов, определяющих нарушение процессов минерализации костной ткани. Можно сделать вывод [7], что в условиях лучевого воздействия матричные функции органического вещества кости и локальные механизмы связи между отдельными факторами кальцификации повреждаются. Выявлены [2, 6, 7] существенные сдвиги в системе гликозаминогликанов. Эти изменения сохраняются значительно дольше, чем изменения в коллагеновых белках костного матрикса. Более того, нарушения в системе гликозаминогликанов и отсутствие их репарации тормозят полноценное восстановление фибриллогенеза белково-углеводных комплексов, а следовательно, процесс компенсаторной минерализации.

Выводы. У животных (мышевидные грызуны и норки) в условиях использования загрязненного радионуклидами корма в Зоне ЧАЭС в костном скелете происходит накопление стронция-90 (в 10 и более раз по сравнению с контролем). В костной ткани выявлены структурные изменения по типу встречающегося в костной патологии несовершенного остеогенеза (*Osteogenesis imperfecta*). Отмечено также замедление ростовых процессов и развитие фиброзной остеодистрофии.

1. Любашевский Н. М. Метаболизм радионуклидов в скелете позвоночных. — М.: Наука, 1980. — 255 с.
2. Москалев Ю. И. Отдаленные последствия ионизирующих излучений. — М.: Медицина, 1989. — 464 с.
3. Радиационная медицина / Под ред. А. П. Лазаря. — Киев: Здоровье, 1993. — 221 с.
4. Родионова Н. В. Функциональная морфология клеток в остеогенезе. — Киев: Наук. думка, 1989. — 189 с.
5. Соколов В. Е., Криволицкий Д. А., Усачев В. Л. Дикие животные в глобальном радиэкологическом мониторинге. — М.: Наука, 1989. — 150 с.
6. Торбенко В. П., Касавина Б. С. Функциональная гистохимия костной ткани. — М.: Медицина, 1977. — 272 с.
7. Френкель Л. А., Калмыков Л. З., Ланько А. И. и др. Радиобиология костной ткани. — М.: Энергоатомиздат, 1986. — 276 с.
8. Ярмоненко С. П. Радиобиология человека и животных. — М.: Высш. школа, 1988. — 360 с.