

УДК 618.2:612.176]:[616.71-007.1-053.13]:615.828](045)

## Мікроструктура довгих кісток щурів — нащадків гестаційно стресованих матерів за умов гіпокінезії

Л. Ю. Сергієнко

ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», Харків

*High percentage of the children in mothers who received gestational stress already at a young age suffer from hypertension, obesity, cardiovascular disease, type II diabetes, i.e. prenatally programmed adult diseases. Wherein it leaves unclear character of stress influence in pregnant women on fetal skeletal formation and characteristics of the microstructure of the bones in offsprings out of such mothers. Objective: To determine the microstructure of bone tissue in female rats whose mothers had subjected to gestational stress in condition of functional rest and under additional stressing by means of hypokinesia. Methods: Modeling of socio-emotional stress in pregnant rats during the first trimester of pregnancy, getting the offsprings in 12 months of age and reproduction of hypokinesia in half of them. We examined femurs using methods of histology. Results: While pathomorphological examination it was found that in offsprings from intact mothers microstructure of equal bones in all their parts was unchanged. In offsprings from stressed mothers in metaphyseal cancellous bone trabeculae there were revealed marked signs of violated osteogenesis and accelerated bone resorption. In the cortex of the femur in these descendants there were found osteons with irregular shape, remnants of fragmentary structures, widened channels of osteons. Hypokinesia in descendants of intact mothers did not cause any significant effect on the microstructure of the femur. At the same time after hypokinesia in offspring of stressed mothers there were observed signs of destruction as a spongy tissue (trabecular thinning, widening of bone marrow spaces, violation of the trabecular mesh) and compact bone tissue (resorption according to canalicular type, foci of lysis, uneven coloring of matrix). Conclusion: As a result of hypokinesia in the offspring of embryonally stressed mothers structure of the bone tissue violates. They constitute a group of risk on osteopenia developing and require attention to processes of the skeleton formation. Key words: stress in pregnant, offsprings, hypokinesia, bone tissue.*

*Высокий процент потомков матерей, перенесших гестационный стресс, уже в молодом возрасте страдают гипертензией, ожирением, сердечно-сосудистыми заболеваниями, диабетом II типа, т. е. так называемыми «антенатально запрограммированными болезнями взрослых». При этом остается невыясненным характер влияния стресса беременных на формирование скелета плода и особенности микроструктуры костей у потомков таких матерей. Цель: определить микроструктуру костной ткани у самок-крыс, матерей которых подвергали гестационному стрессу, в состоянии функционального покоя и при дополнительном стрессировании путем гипокинезии. Методы: моделирование социально-эмоционального стресса беременных крыс в первом триместре беременности, получение потомков 12-месячного возраста и воспроизведение гипокинезии у половины из них. Исследовали бедренные кости с использованием методов гистологии. Результаты: при патоморфологическом исследовании обнаружено, что у потомков интактных матерей микроструктура трубчатых костей во всех отделах была без изменений. У потомков стрессированных матерей в трабекулах губчатой кости метафиза отмечены выраженные признаки нарушения остеогенеза и ускоренной резорбции. В кортексе бедренной кости этих потомков обнаружены остеоны неправильной формы, остатки обломочных структур, расширенные каналы остеонов, в которых отсутствуют кровеносные сосуды. Гипокинезия потомков интактных матерей не оказала существенного влияния на микроструктуру бедренной кости. В то же время после гипокинезии у потомков стрессированных матерей отмечены признаки деструкции как губчатой (истончение трабекул, расширение костномозговых пространств, нарушение трабекулярной сети), так и компактной костной ткани (резорбция по каналулярному типу, очаги лизиса, неравномерная окраска матрикса). Вывод: в результате гипокинезии у потомков эмбрионально стрессированных матерей нарушается структура костной ткани. Они составляют группу риска развития остеопении и требуют пристального внимания за процессами формирования скелета. Ключевые слова: стресс беременных, потомки, гипокинезия, костная ткань.*

**Ключові слова:** стрес вагітних, нащадки, гіпокінезія, кісткова тканина

## Вступ

Сьогодні шляхом епідеміологічних і експериментальних досліджень доведено, що дуже високий відсоток дітей, матері яких пережили тривалий та сильний стрес у стані вагітності, мають знижену вагу на час народження, а впродовж життя в них розвиваються гіпертензія, ішемічна хвороба серця, діабет II типу з притаманною для нього інсуліновою резистентністю, гіперліпідемією та ожирінням [1, 2].

Існує думка, що остеопороз, який став справжньою загрозою людства [3, 4], також належить до так званих «антенатально запрограмованих хронічних хвороб дорослого віку» [5]. Їх причиною є модифікувальний вплив надлишку глюкокортикоїдів на реалізацію генетичної програми росту та розвитку функціональних систем плода за умов порушення харчування або виникнення стресу у вагітної жінки.

У своїх багаторічних дослідженнях, виконаних на нащадках самиць шурів, стресованих упродовж першої третини вагітності, ми показали, що в результаті надлишкового надходження глюкокортикоїдів від матері в організмі плода розвиваються виражені зміни в гістоструктурі та функції таких ендокринних залоз, як надниркові, сім'яники, яєчники, щитовидна залоза, острівці підшлункової залози. Це дало змогу зробити висновок про формування схильності до поліендокринопатій та зміни адаптаційних можливостей у нащадків матерів, стресованих на ранніх етапах вагітності [6]. Ми також відмітили, що для нащадків гестаційно стресованих матерів притаманна зміна чутливості гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової та гіпоталамо-гіпофізарно-репродуктивної систем до дії стрес-чинників у дорослому житті, внаслідок чого підвищується рівень ендогенних глюкокортикоїдів та знижується рівень статевих гормонів ще до настання періоду пре/менопаузи [6].

*Мета дослідження:* визначити мікроструктуру кісткової тканини за умов функціонального спокою і стрес-навантажень у самиць шурів, матерів яких було стресовано впродовж раннього етапу вагітності.

## Матеріал та методи

Об'єктом дослідження були стегнові кістки 12-місячних самиць шурів популяції Вістар — нащадків інтактних (НІМ) та стресованих (НСМ) матерів. Моделювання соціально-емоційного стресу в самиць у першому триместрі вагітності проведено за відомою методикою [7]. Гіпокінезію (ГпК) у тварин відтворювали шляхом утримування у вузьких пластикових пеналах протягом 1 год 7 діб поспіль. Евтаназію шурів виконували відповідно до поло-

жень національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» [8]. Вилучені стегнові кістки фіксували в 10 % формаліні, а перед заливанням у парафін проводили декальцинацію за допомогою рідини Дженкінса. Серійні зрізи метафізів та діафізів стегнових кісток товщиною 3–5 мкм фарбували гематоксиліном та еозином. Візуальне оцінювання мікроструктури кісткової тканини НІМ і НСМ до та після ГпК проводили на мікроскопі «Primo Star» (Carl Zeiss), обладнаному цифровою фотокамерою «Canon G10».

## Результати та їх обговорення

Відомо, що перебіг метаболічних процесів у кістковій тканині доволі активний і ця тканина високо чутлива до дії різноманітних стресорів [9].

Під час дослідження проксимального відділу стегнової кістки НІМ 12-місячного віку відмічено, що трабекули губчастої кістки формували достатньо щільну сітку, вони розгалужені, широкі, у міжтрабекулярних просторах знаходився червоний кістковий мозок. На поверхні деяких трабекул спостерігали поодинокі розташовані в заглибинах остеокласти та ланцюжки остеобластів. Трабекули були утворені грубоволокнистою кістковою тканиною, остецити в якій містилися хаотично серед неоднорідно забарвленого матриксу.

На відміну від тварин НІМ у проксимальному відділі стегнової кістки НСМ трабекули формували великопетлясту сітку. На кісткових трабекулах спостерігали значну кількість порожнин резорбції різного розміру, які на ділянках зливалися між собою. На стінках порожнин розташовувалися остеокласти, ферментативна активність яких забезпечує резорбцію кістки. Щільність остеоцитів у кістковому матриксі була зменшеною.

У самиць — НСМ у кісткових трабекулах губчастої кістки метафіза стегнової кістки виявлені ознаки порушення остеогенезу — ділянки з різним ступенем мінералізації та прискореної резорбції (рис. 1).

Кісткова тканина на рівні діафіза стегнової кістки 12-місячних самиць — НСМ характеризувалася наявністю невеликих остеонів неправильної форми, між якими знаходилися залишки уламкових структур. Вставні пластинки займали поширені території. Подекуди кровоносні судини в центральних каналах остеонів були запустілими, такі канали мали вигляд порожнин із оголеною стінкою, що призводило до погіршення трофіки та сприяло розвитку остеодистрофічних процесів у компактній кістковій тканині стегнової кістки НСМ.

У результаті вивчення гістологічних препаратів встановлено, що проведення ГпК у НІМ не при-



зводить до зміни будови та щільності кісткової тканини в епіфізах стегнових кісток. Незмінними залишилися також метафізарні ділянки кістки. Разом з тим наслідком ГпК у НІМ виявилася активація вrostання кровонесних судин з боку ендосту та періосту в шар внутрішніх та зовнішніх генеральних пластинок у діафізах стегнових кісток. У таких ділянках кістки відбувалися процеси активного ремоделювання шару пластинок, через що їх структура була неоднорідною.

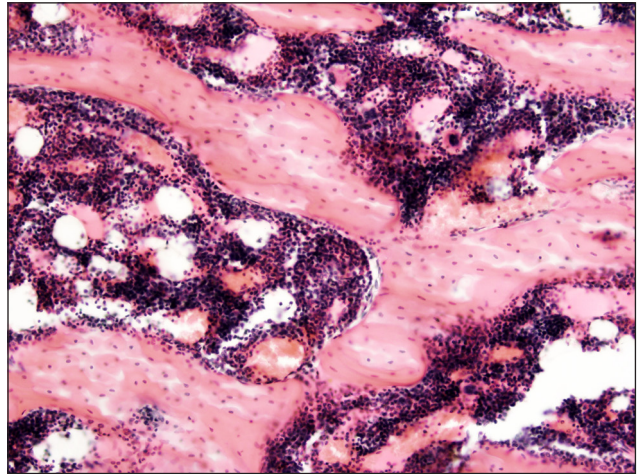
Значніші деструктивні зміни після ГпК встановлено в ділянках стегнових кісток самиць, які народилися від стресованих матерів. Внаслідок ГпК у цих тварин у кісткових трабекулах відмічено вогнища порушення остеогенезу через затримку мінералізації в метафізах та діафізах стегнових кісток.

У метафізах стегнових кісток НСМ спостерігали редукцію трабекулярної сітки, появу поодиноких трабекул, не пов'язаних між собою. Більшість трабекул були тонкими, зі щілинами або тріщинами, мали вигляд зламаних або сколотих фрагментів (рис. 2). Міжтрабекулярні простори розширені, у них містився червоний та жовтий кістковий мозок. На зовнішній поверхні трабекул і стінках порожнин спостерігали скупчення остеокластів. У кістковій тканині діафізів стегнових кісток у НСМ після ГпК відмічені деструктивні зміни, пов'язані з розширенням судинних каналів, порушенням структури остеонів, появою ділянок нерівномірного забарвлення матриксу та лізису (рис. 3).

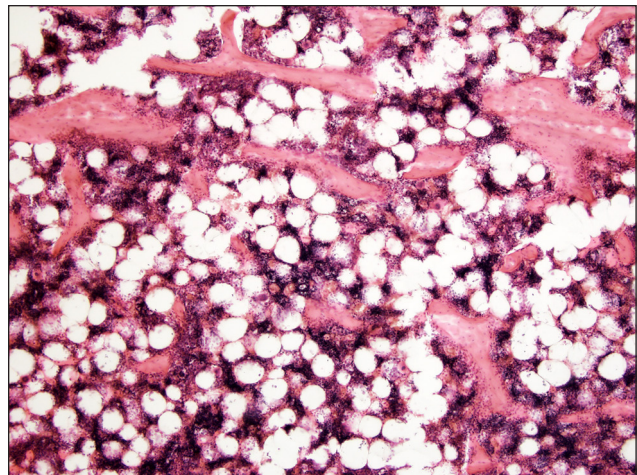
Гістологічна картина свідчить про те, що самицям — НСМ притаманний трабекулярний тип остеопорозу, однак під дією екзогенного стресорного фактору він переходить у цих тварин у більш руйнівну — змішану форму, тобто розвиваються порушення в компактній кістці, де резорбція перебігає за каналікулярним типом.

Оскільки зміни в мікробудові стегнових кісток НСМ після ГпК співпадають із вираженими змінами гормонального рівня у цих тварин, як це ми показали раніше [6], зроблено висновок про високу чутливість процесів ремоделювання кісткової тканини до дії стресових чинників у нащадків матерів, стресованих під час вагітності. Тому можна віднести таких нащадків до групи ризику розвитку остеопатій ще в репродуктивному віці.

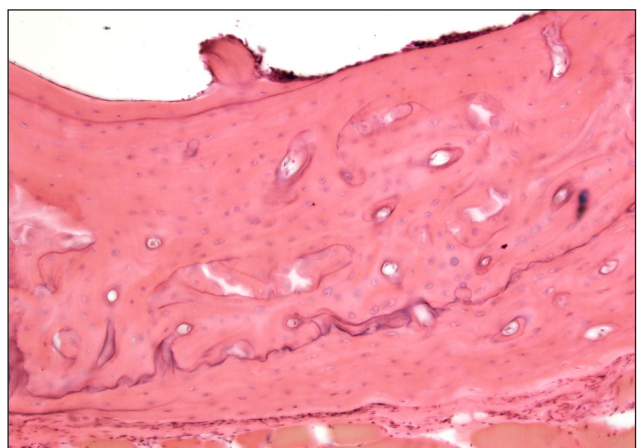
Результати нашої роботи не тільки підтверджують патогенетичну роль екзогенного стресу в розвитку порушень у кістковій тканині, а й одночасно вказують на те, що ступінь вираженості змін у кістці під впливом стресу в постнатальному періоді може бути наслідком стресорної дії на вагітних матерів. Ці результати свідчать, що у стресованих самиць для



**Рис. 1.** Фрагмент дистального метафіза стегнової кістки 12-місячної самиці щура — НСМ. Нерівномірна мінералізація матриксу. Гематоксилін та еозин. Зб. 200



**Рис. 2.** Фрагмент дистального метафіза стегнової кістки 12-місячної самиці щура — НСМ після ГпК. Порушення трабекулярної сітки. Поодинокі, непов'язані трабекули. Червоний та жовтий кістковий мозок у міжтрабекулярних просторах. Гематоксилін та еозин. Зб. 200



**Рис. 3.** Фрагмент діафіза стегнової кістки 12-місячної самиці щура — НСМ після ГпК. Резорбція по каналікулярному типу. Нерівномірне забарвлення матриксу, ділянки лізису. Гематоксилін та еозин. Зб. 200

остеопротекції необхідно застосовувати підходи до зниження стрес-напруження симпато-адреналової системи.

Таким чином, отримані результати дають можливість розглядати стрес у першому триместрі вагітності як першопричину формування підвищеної чутливості кісткової тканини до дії стресорів (або їх комбінації) впродовж постнатального життя. Перспективними є подальші дослідження, спрямовані на створення профілактичних заходів захисту нащадків від негативного впливу стресу матерів, що дасть змогу знизити ризик розвитку остеопенії та остеопорозу.

### Висновки

Порушення в довгих кістках після обмеження рухомості (за умов гіпокінезії) тварин — нащадків матерів, які перенесли стрес у першому триместрі вагітності, значно вираженіші порівняно з аналогічними змінами в кістках нащадків інтактних самиць. Вони становлять групу ризику розвитку остеопенії, потребують постійного ретельного спостереження за процесами формування скелета, починаючи від народження до зрілого віку.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872015351-54>

Стаття надійшла до редакції 21.05.2015

### Список літератури

1. Nathanielsz P. W. Fetal programming: from gene to functional systems — an overview / P. W. Nathanielsz, K. L. Thornburg // *J. Physiol.* — 2003. — Vol. 547, № 1. — P. 3–4.
2. Fowden A. L. Endocrine mechanisms of intrauterine programming / A. L. Fowden, A. J. Forhead // *Reproduction.* — 2004. — Vol. 127. — P. 515–526.
3. Остеопороз — от редкого симптома эндокринных болезней до безмолвной эпидемии XX–XXI века / И. И. Дедов, П. А. Мельниченко, Ж. Е. Белая, Л. Я. Рожинская // *Проблемы эндокринологии.* — 2011. — № 1. — С. 35–47.
4. Cooper G. Epidemiology of osteoporotic fracture: looking to the future / G. Cooper // *Reumatology.* — 2005. — Vol. 4. — P. 36–40.
5. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis / D. J. P. Barker, J. G. Eriksson, T. Forsen, C. Osmond // *Int. J. Epidemiol.* — 2002. — Vol. 31. — P. 1235–1239.
6. Вплив гестаційних негараздів матерів на систему адапційних гормонів нащадків (експериментальне дослідження) / Л. Ю. Сергієнко, О. В. Картавцева, Г. В. Герашенко [та ін.] // *Проблеми ендокринної патології.* — 2004. — № 3. — С. 83–89.
7. Pratt N. C. Effect of social stress during early pregnancy on litter, size, and sex ratio in golden hamster (*Mesocricetus auratus*) / N. C. Pratt, R. D. Lisk // *J. Reprod. Fert.* — 1989. — Vol. 87. — P. 763–769.
8. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах / за ред. О. Г. Резнікова // *Ендокринологія.* — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.
9. Тимошенко О. П. Стресс как этиопатогенетический фактор структурно-метаболических повреждений костной и хрящевой тканей: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 16.00.02, 03.00.04 / Ольга Павловна Тимошенко. — М., 1990. — 33 с.

## THE MICROSTRUCTURE OF THE LONG BONES IN RATS — DESCENDANTS GESTATIONAL STRESSED MOTHERS UNDER CONDITIONS OF HYPOKINESIA

L. Yu. Sergienko

SI «V. Danilevsky Institute for Endocrine Pathology Problems National Academy of Medical Sciences of Ukraine»