

Az ép és osteoporosisos femur corticalisának ultrastruktúrája

Józsa László dr.

Országos Baleseti és Sürgősségi Intézet, Budapest

Összefoglalás: A corticalis állományának ultrastruktúráját vizsgálta fiatal, egészséges és idős osteoporosisos férfiak combcsont-diaphysisében. Mind az egészségesek, mind az osteoporosisos femurokban az osteonok orientációja, finomszerkezeti képe azonos. Minőségi eltéréseket nem észlelt. Az osteonok átmérőjének és falvastagságának nagyfokú variabilitását mutatta ki.

ULTRASTRUCTURE OF FEMORAL COMPACT BONE IN YOUNG AND OSTEOPOROTIC SUBJECTS

Scanning electron microscopic and ultrastructural-morphometrical study was carried out on cross and longitudinal sections of femoral compact bone of five young, healthy persons (killed by accident), and teen osteoporotic male subjects. The diameter of the osteons and the thickness of the osteon-wall show great variety in osteoporotic femurs. No qualitative ultrastructural alterations are seen between healthy and osteoporotic cortical bone of the femora.

A csonttritkulás talaján bekövetkező fracturák patológiai kutatásában mind jobban előtérbe kerül a csont minőségének és architektúrájának morfológiai vizsgálata (Heaney 1993 Marotti 1993). A csontozat minősége számos összetevő (csontsejtek viabilitása, kollagénváz szerkezete, kollagénfehérje minősége, matrix-proteinek stb.) függvénye, ezek károsodása, kvalitatív vagy kvantitatív változása kihat a csont minőségére, és végső soron biomechanikai tulajdonságaira (Rubin és mtsai 2005, Schaffler és mtsai 1994). A corticalis és trabecularis csontállomány nemcsak makro- és mikrostruktúrájában, hanem szervezettségében, szupramolekuláris rendezettségében is eltérő. A különböző külső és belső hatások nem egyformán érintik a kétféle csontállományt (Józsa és mtsai 1988, Stout 1982). Kimutatható, hogy a csontsorvadást/csontritkulást előidéző ágensek (immobilizáció, idült vesebetegség, alumínium-intoxikáció, stb.) időben is, pathomorfológiailag is eltérően hatnak a szivacsos állományra és csontkéregre. Kétségtelen, hogy a trabecularis állomány elváltozásai gyorsabbak és szembe-tűnőbbek mint a corticalisé, s talán éppen emiatt szorult kissé háttérbe a csontkéreg vizsgálata (Sahar 2005).

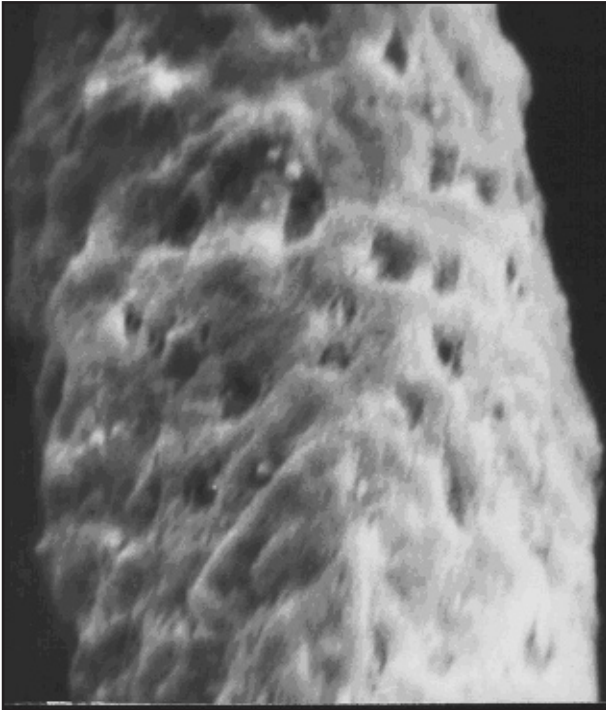
Három évtizede kezdődtek azok a vizsgálatok, amelyek az ép corticalis szerkezetét, valamint az osteoporosisos csontkéreg változásait hivatottak feltárni (Beddos

1977, Boyde 1990, 1996). Úgy tűnik, revideálnunk kell a corticalisra vonatkozó korábbi ismereteinket, nézeteinket, amelyek Havers klasszikus leírásából, 300 évvel korábbról származnak. Az osteonok lamella-rendszere ép csontban sem egységes, tömött és laza rétegek váltogatják egymást. A lamellák vastagsága életkor szerint is változik (Marotti 1993), s ezzel a csontszövet fajsúlya is másként alakul. A lamellák által létrehozott osteonok (Havers egységek) felépítésében, méreteiben is megmutatkozik az elemi alkotórészek változása.

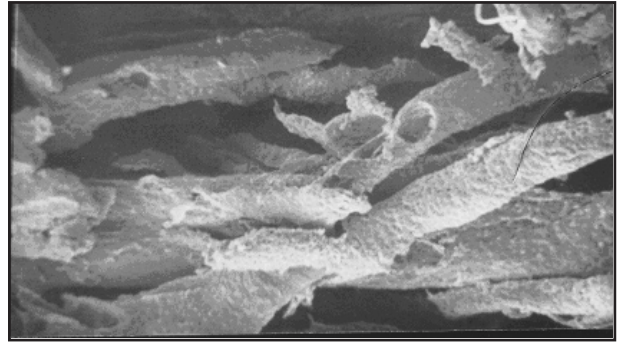
Megfigyeléseinkben a femur corticalis ultrastruktúráját, a csontkéreg elemeinek mennyiségi változásait elemeztük.

ANYAG ÉS MÓDSZEREK

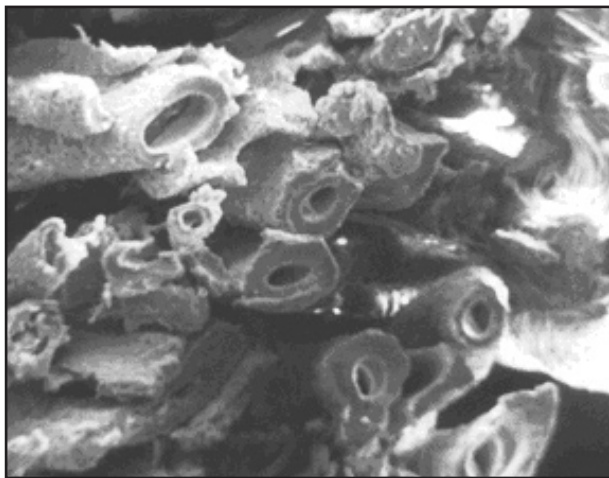
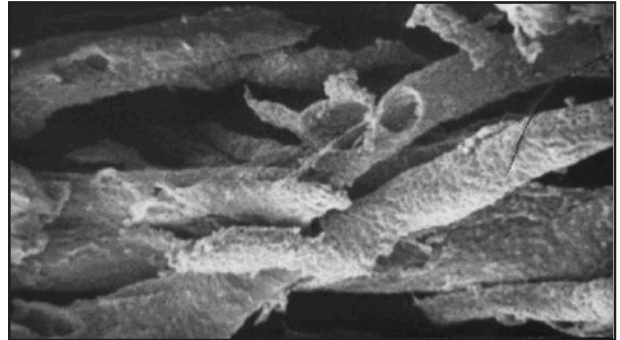
Fiatal (19–27 éves), baleset következtében elhunyt öt férfi, valamint tíz idős (69–78 éves), osteoporosisos személy, (akik combnyaktáji törést követően veszítették életüket) femur diaphysisének corticalisát dolgoztuk fel. A boncolás és szövettani vizsgálat endokrin, anyagcsere és daganatos betegséget nem tárt fel, tudomásunk szerint hormonkezelésben nem részesültek. Boncoláskor a bal femur-diaphysis középső részéből 4-5 cm-es darabokat



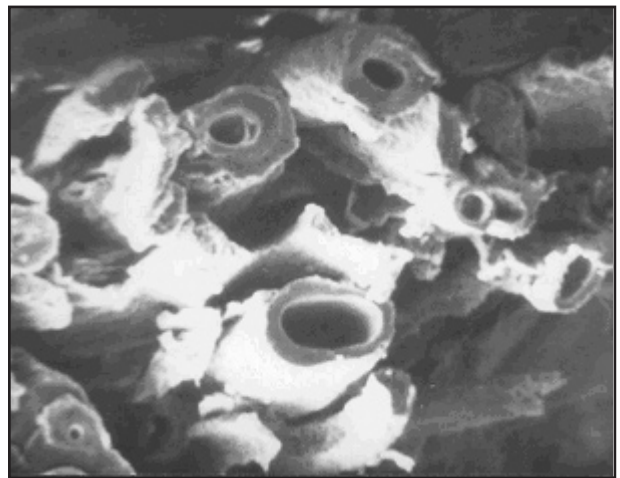
1. kép Az izolált osteon felületén kiemelkedések és lacunák látszanak. Ép femur. SEM eredeti nagyítás 3900 x.



2. kép. Az ép femurban az osteonok vastagsága kisfokú változatosságot mutat. Hossz-nézet SEM 350 x



3. kép. Ép femurban az osteonok átmérője szűk határokon belül változik. Harántmetszeti kép. SEM. 300 X

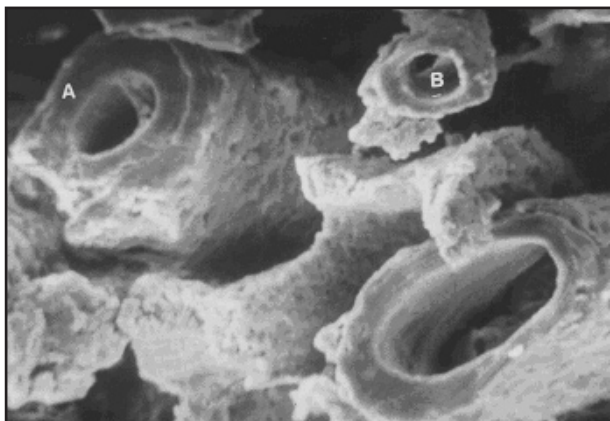


4. kép. Az osteoporosisos csontban az osteonok mérete között nagy különbségek látszanak. SEM. 300 X

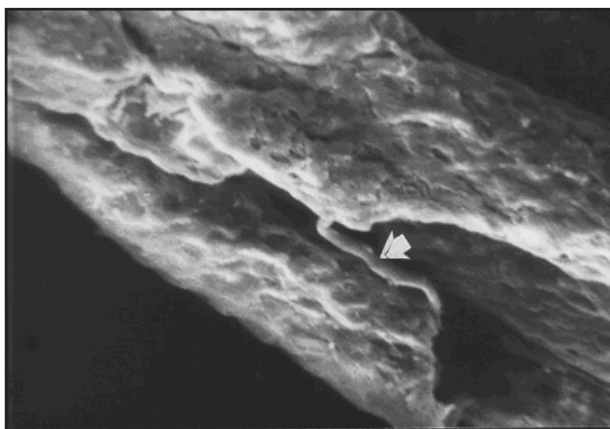
vettünk ki, óvatosan megtisztítottuk a csontvelőtől és lágyrészekről. Naponta váltott EDTA oldatban mésztele-nítettük, majd decalcinálás után (egyszer használatos mikrotom-késsel) keresztbe és hosszába 0,5 cm-es szele-teket vágunk. Ezek egy részét pufferolt (pH 7,4) glutár-aldehid oldatban fixáltuk. Más blokkokat desztillált vizes kimosás után 0,2%-os tripszin oldattal (pH 7,4) emésztettük 37 C°-on, 24 órán át. Ezt követően ezeket is fixáltuk, a továbbiakban a kétféle módon előkészített minták feldolgozása megegyezett. A decalcinálással és enzim-emésztéssel az osteonokat izoláltuk, ezzel felüle-tüket, belvilágukat, az osteon-falat tudtuk feltárni. Három napos rögzítés után, pufferes kimosást követően, felszál-

ló alkohol sorban víztelenítettük, majd kritikus-pont szá-rítóban (Balzers, Liechtenstein) kiszárítottuk. A prepará-tumokat arannyal felgőzöltük és TESLA BS 300 típusú pásztázó elektronmikroszkóppal (SEM) vizsgáltuk és fényképeztük. A vizsgálatok az egykori Országos Trau-matológiai Intézetben, az azóta megszüntetett Patholo-giai Osztály elektronmikroszkópos laboratóriumában történtek.

Standard nagyítású felvételeken meghatároztuk 50–50 osteon átmérőjét és négy- négy szembenálló ponton az osteon-fal vastagságát, és a Havers csatorna átmérőit. A mért értékek szignifikanciáját két mintás t-próbával szá-moltuk ki.



5. kép. Osteoporosisos csont. Az A és B jelzésű osteonok átmérőjében 285%-os, a falvastagságukban 140-200%-os különbség van. SEM. 620 X

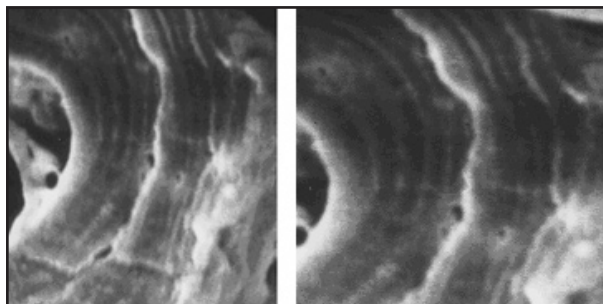


7. kép. A hajszálér (nyíl) egyik osteonból átlép a másikba. Ép femur. SEM. 3300 X

Valamennyi csont-mintából, a decalcinálás és fixálás után paraffin-beágyazás és hagyományos szövettani metszetek is készültek. Ezeket pikroszírinsz, valamint Masson trikróm festéssel színeztük.

MEGFIGYELÉSEK

Az osteonok a csont hossz tengelyével párhuzamos elrendeződésűek, illetve néhány fokkal térnek el a hossz tengelytől mind az ép, mind az osteoporosisos csontban. Nem találtunk harántul elhelyezkedő osteont. Az enzim-emésztéssel kezelt mintákban az osteonok laza hálózatot képeztek. Nem volt kimutatható különbség az ép és osteoporotikus csont-matrix (noncollagenous matrix-protein) emészthetősége között. A tripszin „mindössze” az osteonok közötti mátrixot emésztette, azonban hatástalan volt a kollagén-lamellákat összekapcsoló proteineire. Az osteonok felülete egyenetlen, előemelkedéseket és „völgyeket” képez (1. kép), az egyik osteon kiemelkedései beleilleszkednek a másik lacunáiba. A nem-kollagén



6. kép. Az osteonok lamellái (sötét részek) és a közöttük lévő kötőanyag (világos részek) fajtánként lényegében azonos vastagságúak. Ép femur. SEM. A kép 3300 X., B kép: 5000 X.

Az osteonok és Havers csatornák legnagyobb és legkisebb méretei ép és osteoporosisos femurban

Képlet	Ép femur	Osteoporosisos femur	Szignifikancia
Osteon minimális átmérő μm	211 \pm 32 (100%)	140 \pm 21 (100%)	0,01
Osteon maximális átmérő μm	275 \pm 49 (130%)	234 \pm 38 (167%)	n.s.
Havers csatorna minimális átmérő μm	70 \pm 6	57 \pm 9	n.s.
Havers csatorna maximális átmérő μm	87 \pm 11	103 \pm 17	n.s.

mátrix-proteineken kívül mechanikusan is kapcsolódnak egymáshoz az osteonok. Az ép és osteoporotikus csontok osteonjainak felülete között minőségi (morfológiai) eltérést nem találtunk. A fiatalok femurjában 30%-nyi különbség volt a minimális és maximális osteon-átmérőben (2. és 3. kép). Ezzel szemben az osteoporotikus csontokban jóval változatosabb az átmérő, a legkisebb és legnagyobbak között 167%-os átlagos differencia mutatkozott. Egyes mintákban előfordult, hogy az osteonok vastagságában két-háromszoros eltérést láttunk (4. kép). Az osteonok falvastagsága az ép csontban csekély ingadozást mutatott, míg az osteoporotikus csontokban – a szomszédos képletek között is – akár két-háromszoros különbség is előfordult (5. kép). Az osteoporotikus csontokban az osteonok „lazábban”, a fiatalok csontjaiban sűrűbben helyezkedtek el. Az osteon-fal lamellaris szerkezete hasonló az ép és osteoporotikus csontokban. Az osteon-fal lamellái és a közöttük lévő „kötőanyag” egy osteonon belül azonos vastagságúak mind az ép (6. kép), mind az osteoporosisos csontban. Az osteonok belvilága

(t. k. a Havers csatorna) lényegesen tágabb osteoporoticus csontokban. Az osteonok között sűrű összeköttetések látszóttak, a csatornában futó capillaris gyakorta „átlép”, vagy anastomosist ad a szomszédos osteonba (7. kép).

Vizsgálataink azt mutatták, hogy az ép és osteoporosisos csont ultrastruktúrája között nem minőségi, hanem az osteonok sűrűségére, átmérőjére, falvastagságára, a Havers csatorna tágasságára vonatkozó mennyiségi eltérések észlelhetők.

MEGBESZÉLÉS

A corticalis és szivacsos állomány eltérően viselkedik immobilizáció, osteoporosis, vagy intoxikáció során. A trabecularis csont gyorsabban és kifejezettebben reagál külső behatásokra, s ugyanez mondható el csonttrikulás esetén. A kutatók érdeklődésének homlokterében (érthető módon) a szivacsos állomány osteoporosiskor bekövetkező eltéréseinek megfigyelése áll. A csontkéregre kisebb figyelmet fordítottak, illetve csak a csontkéreg vastagságára terjedtek ki a vizsgálatok. *Beddoe* (1977) egy 50 éves férfi és egy 9 éves fiú csöves csontjainak osteon-méreteit ismertette és hasonlította össze egy agár kutya adataival. *Ardizzoni* (2001) az osteocyták lacunáinak és az osteonok lamelláinak méreteit, *Ascensi* (2008) a kollagén-orientáció és osteocyták kapcsolatát vizsgálta. *Boyde* és *mtsai* (1996) a kollagén-degradáció morfológiai jeleit elemezték pásztázó elektronmikroszkóppal. *Doktorov* és *mtsai* (2002) a csontkéreg és szivacsos állomány remodellizációjának életkorral történő változásait írták le. Az osteoporosisos csontkéreg osteon-sűrűségére vonatkozó adatok ellentmondásosak. Egyes kutatók az osteon-sűrűség növekedését (*Beddos* 1977, *Sahar* és *mtsai* 2005), mások ennek ellenkezőjét tapasztalták (*Marotti* 1993, *Stout* 1982). Az eltérő eredmények feloldhatók, ha tekintetbe vesszük az osteonok méreteit. Úgy találtuk, hogy osteoporosisban mind az osteonok átmérője, mind a fal vastagsága nagy variációt mutat.

Vizsgálataink azt mutatták, hogy nem minőségi, hanem mennyiségi különbségek mutathatók ki az ép és osteoporosisos csont finomszerkezete között.

IRODALOM

- Ardizzoni, A.*: Osteocyte lacunar size, lamellar thickness relationships in human secondary osteons. *Bone* 2001.28. 215-219
- Ascenzi, M. G., Gill, J., Lomovtsev, A.*: Orientation of collagen at the osteocyte lacunas in human secondary osteons. *J. Biomech.* 2008. 41. 3426-3435
- Beddos, A. H.*: Measurements of the microscopic structure of cortical bone. *Phys. Med. Biol.* 1977. 22. 298-308
- Boyde, A., Riggs C. M.*: The quantitative study of the orientation of collagen in compact bone. *Bone* 1990. 11. 35-39
- Boyde, A., Jones, S.J.*: Scanning electron microscopy of bone. *Microsc. Res. Techn.* 1996. 33. 92-120
- Doktorov, A. A., Denisov-Nikolskio. Iu, I., Pak, G. C.*: Structural organisation of compact and cancellous bone tissue of human rib in aging. *Morfologia* 2002. 122. 53-57. Orosz nyelven, angol összefoglalóval.
- Havers, C.*: *Osteologica Nova*. London. 1691.
- Heaney, R. P.*: Is there a role for bone quality in fragility fractures? *Calcif. Tissue Int.* 1993. 53. Suppl. 1. 3-6
- Hert, J., Fiala, P., Petrtyl, M.*: Osteon orientation of the diaphysis of the long bones in man. *Bone* 1994. 15. 269-277
- Józsa, L., Järvinen, M., Réffy, A., Kannus, P. et al.*: Cortical and trabecular osteopenia after immobilisation. *Int. Orthop.* 1988. 12. 169-172
- Marotti, G.*: A new theory of bone lamination. *Calcif. Tissue Int.* 1993. Suppl.1. 47-56
- Rubin, M. A., Jasluk, I.*: The TEM characterization of the lamellar structure of osteoporotic human trabecular bone. *Micron*, 2005. 36. 653-664
- Sahar, N. D., Hong, S. I., Kohn, D. H.*: Micro- and nano-structural analyses of damage in bone. *Micron* 2005. 36. 617-629
- Schaffler, M. B., Pitchford, W. C., Choi, K., Riddle, J. H.*: Examination of compact bone microdamage using back-scattered electron microscopy. *Bone* 1994. 15 483-488
- Stout, S. D.*: The effect of long-term immobilisation on the histomorphometry of human cortical bone. *Calcif. Tissue Int.* 1982. 34. 337-342