

Ткачук П.В., Страфун С.С., Савосько С.І., Макаренко О.М.
ДУ «Інститут травматології та ортопедії НАМН України», м. Київ, Україна
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Структурні порушення колінного суглоба при моделюванні остеоартрозу

Резюме. У статті досліджено структурні зміни капсули колінного суглоба, мениска й суглобової поверхні на моделі остеоартрозу. Встановлено кровонаповнення й стаз судин капсули й ворсинок синовіальної оболонки, загибель клітин ворсинок, дистрофічні зміни хондроцитів мениска й епіфіза кісток суглоба. Дефект суглобової поверхні й перетин хрестоподібної зв'язки позначилися на товщині хряща, редукції клітинного складу й резорбції субхондральної кістки. Зроблено висновок про участь судинного чинника в розвитку дистрофічних і деформаційних змін структурних утворень колінного суглоба при остеоартрозі.

Ключові слова: остеоартроз; судини; капсула; мениск; суглобовий хрящ

Вступ

Остеоартроз — хронічне захворювання суглоба, що полягає в дистрофічних змінах хрящових поверхонь синовіальних суглобів і субхондральної кістки. Захворювання має різну етіологію, активно досліджується й дискутується в працях, що містять клінічні й експериментальні дані щодо вивчення особливостей розвитку остеоартрозу. Перетин передньої хрестової зв'язки є універсальним способом моделювання остеоартрозу в лабораторних тварин, що призводить до пошкодження хрящів і субхондральної резорбції кістки (Hayami T., 2006). При цій патології можливі компенсаторна активація ангіогенезу (Chunyi Wen, 2014) та ішемічні зміни тканин хряща (хряща й кістки) (Zhang S., 2012). Судинний чинник відіграє не останню роль у патогенезі остеоартрозу. Порушення кровотоку в судинах кістки й синовіальної оболонки призводить до некрозу судин і оточуючого хряща. Ці результати дозволили припустити, що життєздатність епіфізарного хряща суглоба залежить від адекватного кровопостачання оточуючих судин і сильно впливає на стан кровопостачання в патогенезі остеохондрозу, остеоартрозу (Carlson C.S., 1991). Показано спонтанні ураження й некроз епіфізарного хряща стегнової кістки, що були пов'язані з некротичними кровонесними судинами (Lykissas M.G., 2012). Структурно-функціональні порушення ендотелію збільшують тромбоз і підвищують ризик тромбозу, призводять до ішеміч-

ного ураження м'яких тканин, капсули суглоба й некрозу кісткової тканини. Ендотеліальна дисфункція в пацієнтів із деформуючим остеоартрозом супроводжується порушенням тону вен нижніх кінцівок, що проявляється збільшенням діаметра вен, їх дилатацією і сприяє розвитку тромботичних ускладнень після ендопротезування великих суглобів (Глеубаєва Н.В., 2009). Разом з тим судинний чинник є самостійним фактором мінералізації суглобового хряща. Саме тому дослідження ролі судинних порушень у колінному суглобі при нормі й патології є актуальним завданням у вирішенні проблеми лікування остеоартрозу.

Мета: дослідити в експерименті зміни судин капсули колінного суглоба на моделі остеоартрозу.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на кролях вагою 3–4 кг. Остеоартроз моделювався шляхом механічного пошкодження суглобової поверхні великогомілкової кістки. Для цього тварин наркотизували тіопенталом натрію в дозі 60 мг/кг (внутрішньоочеревинно). Тварин у стані наркотичного сну фіксували в положенні на спині. Ділянку шкіри навколо колінного суглоба голили й зрошували бетадином (Egis, Угорщина).

Скальпелем здійснювали доступ до колінного суглоба через медіальну поверхню, перетинали великогомілкову зв'язку. Шляхом циркулярних

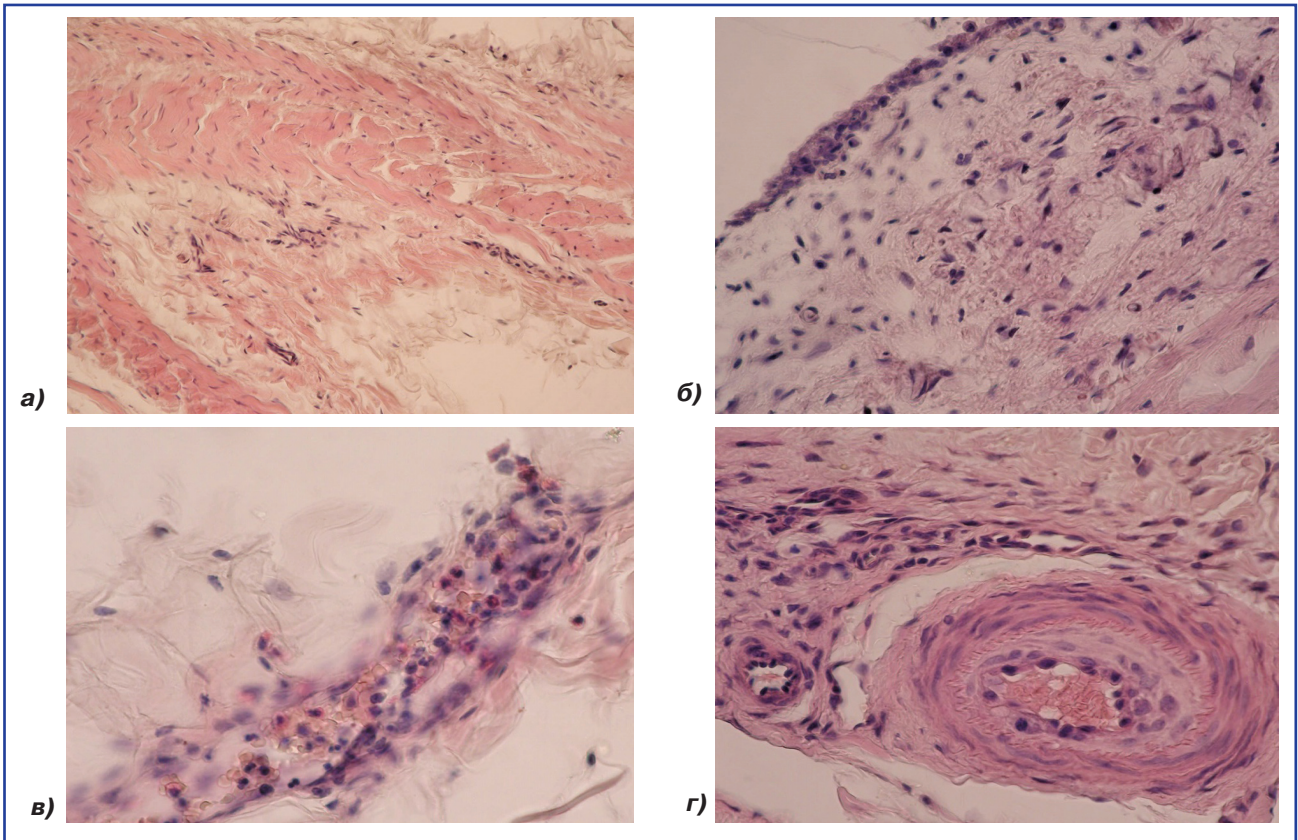


Рисунок 1. Структурні зміни капсули колінного суглоба. Порушена щільність колагенових волокон капсули, інфільтрація лейкоцитів через судини капсули, збільшення товщини інтими артерії: а–б) капсула; в) лейкоцити у вені; г) поява шару клітин під інтимою артерії. Гематоксилін-еозин, $\times 400$

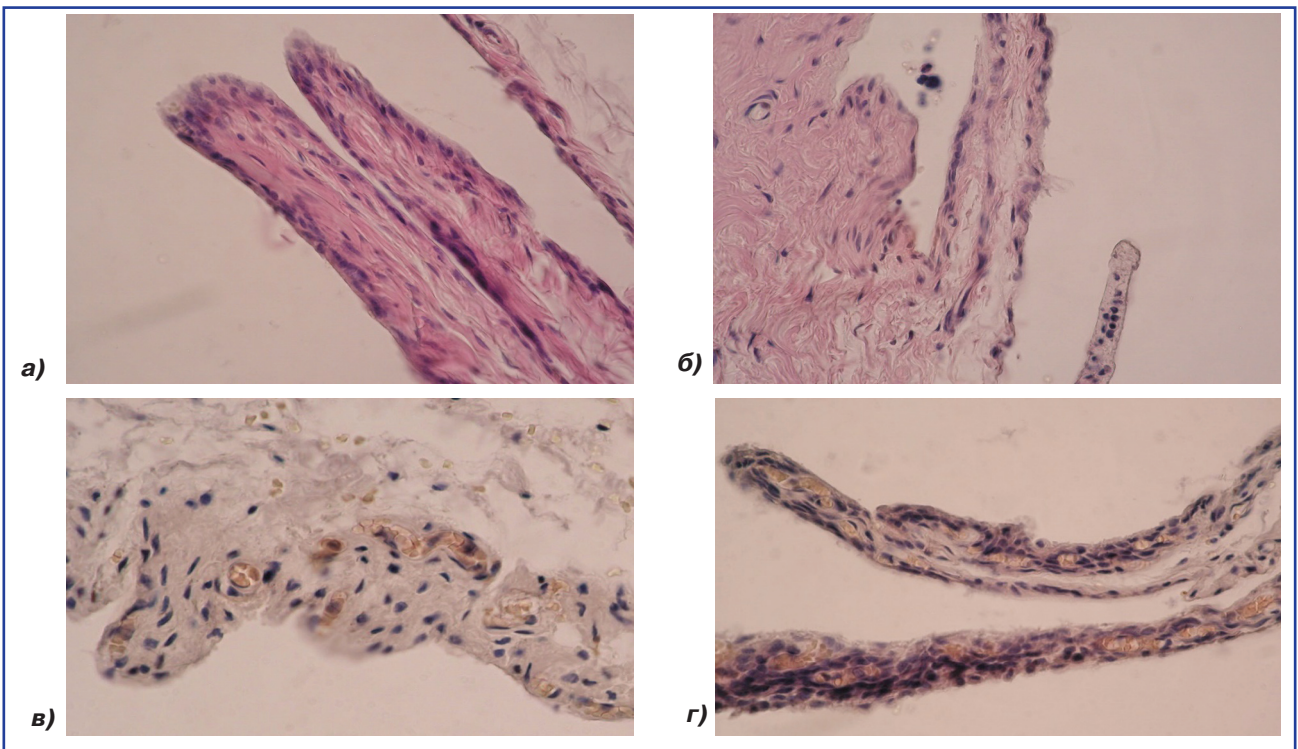


Рисунок 2. Структурні зміни синовіальної оболонки капсули колінного суглоба. Різке кровонаповнення й стаз мікросудин синовіальної мембрани, редукція клітин у ворсинках: а) інтактні ворсинки; б) редукція синовіоцитів; в) кровонаповнення судин синовіальної мембрани; г) кровонаповнення судин синовіальних ворсинок. Гематоксилін-еозин, $\times 400$

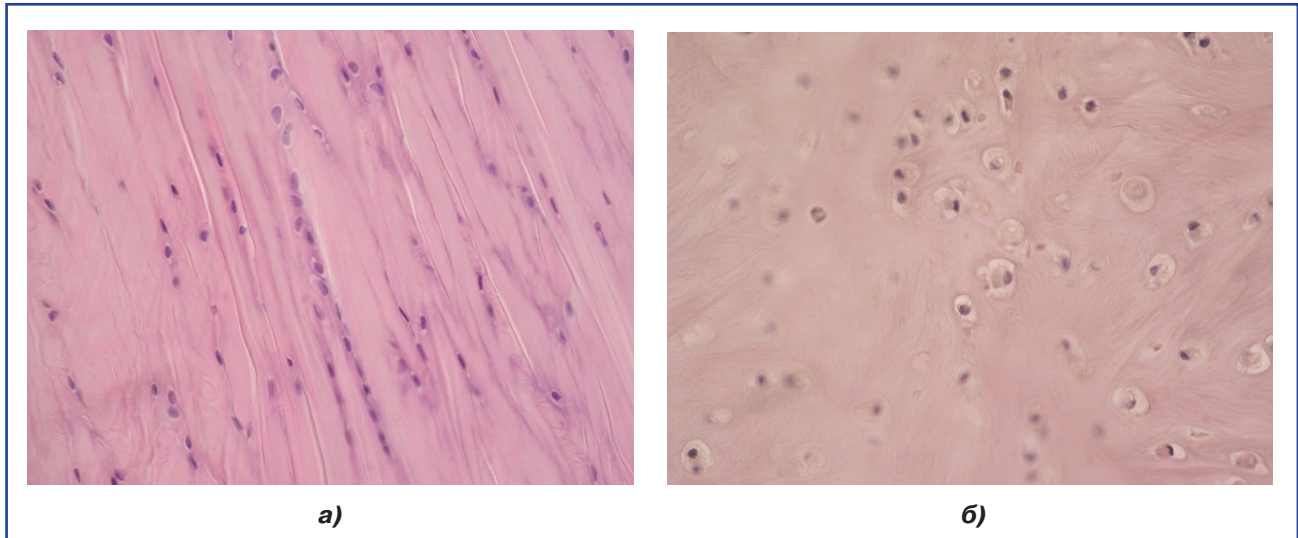


Рисунок 3. Структурні зміни меніска колінного суглоба: а) інтактний меніск; б) загибель хондроцитів, збільшення об'єму лакун. Гематоксилін-еозин, $\times 400$

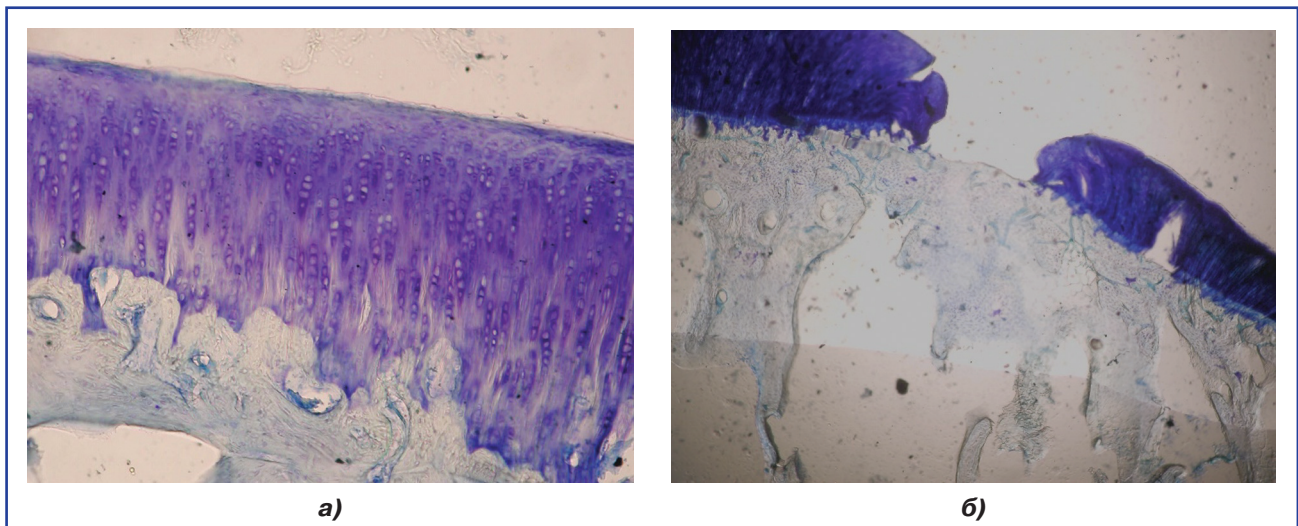


Рисунок 4. Суглобова поверхня великогомілкової кістки колінного суглоба: а) непорушена поверхня; б) дефект суглобової поверхні. Толуїдиновий синій, $\times 200$

обертів модифікованою спицею Ілізарова з напайкою, пошкоджувальній частині якої надавався рух низькообертним приводом, завдавали пошкодження в центральній ділянці суглобової поверхні. Епіфізарну поверхню стегнової кістки залишали інтактною. Суглобову сумку зашивали шовним матеріалом 3/0. По поверхні суглобової сумки здійснювали термічну коагуляцію з метою створення регіонарного ішемічного пошкодження. Шкіру на рівні доступу також зашивали матеріалом 3/0 і зрощували бетадином.

Через 1,5 місяця після моделювання артрозу тварин виводили з експерименту шляхом швидкої декапітації. Здійснювали доступ до колінного суглоба. Анатомічні утворення суглоба (капсулу, меніск, епіфіз великогомілкової кістки) фіксували протягом 3

днів у 10% розчині нейтрального формаліну. Після фіксації зразки промивали в проточній воді, щоб позбутися формаліну. Капсулу суглоба й меніски зневоднювали й вмішували в парапласт (Leica Surgipath Paraplast Regular). Протокол дегідратації: етанол (від 70% до 100% розчину етанолу), діоксан, ксилол, ксилол/парапласт (1 : 1; 37 °C), парапласт (56 °C). Парафінові зрізи органів товщиною 8–10 мкм виготовляли на мікротомі Thermo Microm HM 360. Зрізи депарафінували, регідратували й забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою. Окремо виділяли епіфіз великогомілкової кістки. Зразки промивали й проводили їх декальцинацію у розчині OsteoFast 2 (BioGnost Ltd., Хорватія) упродовж 4–5 тижнів (3 зміни декальцинуючого розчину). Після завершення декальцифікації проби

промивали водою. Зі зразків отримували криозрізи товщиною 20–25 мкм. Зрізи забарвлювали толудіновим синім за методикою Шморля. Гістологічні зрізи вміщували під покривне скельце в синтетичний бальзам. Гістологічні препарати досліджували на мікроскопі Olympus BX 51.

Результати та обговорення

В експерименті досліджено структурні утворення пошкодженого й інтактного колінного суглоба. При макроскопічному дослідженні встановлено збільшення обсягу параартикулярних тканин суглобової капсули. Цілісність суглобової сумки (капсули) не порушена, а товщина стінки збільшена, має ділянки розшарування. При мікроскопічному дослідженні виявлено структурно-функціональні зони (шари) капсули — зовнішню фіброзну й внутрішню синовіальну (рис. 1). Фіброзна оболонка являє собою щільну волокнисту сполучну тканину, охоплює суглоб по всьому зовнішньому контуру й переходить у періост. Структурні зміни фіброзного шару капсули полягають у розшаруванні колагенових пучків, появі лакун з інтерстиційною желатиноподібною масою й зміні кровоносних судин. В окремих артеріях встановлено зменшення просвіту за рахунок збільшення товщини інтими, появи фіброblastів у субендотеліальній зоні судини. На противагу цьому вени й оточуюча сполучна тканина містили значну кількість лейкоцитів (нейтрофілів, еозинофілів і моноцитів), що вказує на їх інфільтрацію в стінку капсули і є морфологічною ознакою запалення.

Внутрішній шар капсули — синовіальна оболонка — вистилає синовіальну порожнину за винятком меніска й суглобових поверхонь. У контролі й дослідній групі синовіальна мембрана (оболонка) формує ворсинки (відростки). У дослідній групі у стінці й ворсинках мікросудини різко кровонаповнені й стазовані (рис. 2), а в деяких зразках ворсинки мають загиблі клітини (синовіоцити), фрагментарно позбавлені клітин. Ці зміни є проявом дистрофічних процесів у синовіальній оболонці капсули суглоба.

Меніски були виявлені в усіх досліджених суглобах через 1,5 місяця після моделювання остеоартрозу. Верхня, нижня й латеральна поверхня менісків були визначені, а їх контур структурно збережений. Винятком була медіальна поверхня: відмічено фрагментарне пошкодження після моделювання патології. Гістологічна будова меніска відносно однорідна, межі між верхньою, середньою й нижньою поверхнями нечіткі. Меніск представлений хрящовою тканиною, хондромукоїдом і хондроцитами. Останні розташовані здебільшого хаотично. За морфологією структура меніска подібна до гіалінового хряща, як і суглобові поверхні, лише в латеральній поверхні хондроцити формують веретеноподібні структури, між якими відмічено пучки колагену. Характерною ранньою морфологічною ознакою пошкодження меніска

при моделюванні остеоартрозу є набряк клітинних лакун, а пізньою — загибель хондроцитів і редукція щільності ізогенних груп у об'ємі хондромукоїду, поява пустих лакун (рис. 3).

Вірогідним критерієм остеоартрозу є дефект суглобової поверхні. На рис. 4 показано дефект хряща й кістки у ділянці перетину хрестоподібної зв'язки і пошкодження великогомілкової кістки. Зміни хряща полягають у зменшенні товщини, загибелі хондроцитів, появі порожніх лакун ізогенних груп. Субхондральна кісткова тканина також має вільні лакуни, що є ознакою деструктивних змін, хоча в деяких ділянках виявлено зміну контуру кісткової тканини у бік епіфізарної поверхні за рахунок проникнення судин у глибокі шари хряща й осифікації.

Отже, на основі результатів експериментального дослідження зроблено висновок про участь судинного чинника в розвитку остеоартрозу колінного суглоба. Запропонована модель остеоартрозу дозволила отримати патологію, що максимально наближена до патогенезу захворювання. Встановлено деформаційні й дистрофічні зміни суглобової поверхні, зміни субхондральної епіфізарної кістки й порушення стінки синовіальної оболонки. Якщо структурні основи пошкодження суглобової поверхні описано в багатьох публікаціях, то окремий інтерес становлять результати дослідження суглобової капсули. Схожі структурні порушення хряща описано при введенні колагенази VII (Seung'Ah, 2007), натрієвої солі моноіодоцтової кислоти (Baragi), дексаметазону (Вишне夫斯基, 2004), вітаміну А (Патент 79206, Україна), створенні механічного дефекту й перетинанні хрестоподібної зв'язки (Smith, 2005; Ozkan, 2009; Batiste, 2002; Tiralochne, 2005; Jean, 2009). Але увага зосереджена головним чином на суглобовій поверхні, а зміна капсули і, головне, судинам не приділяється достатньо уваги. Як відомо, кісткова тканина характеризується високою васкуляризацією, особливо епіфізи кісток. Тому судинна патологія на рівні кісток позначається на метаболізмі епіфізарного хряща, адже суглобова поверхня позбавлена власних судин. Такою є нормальна гістофізіологія хрящової тканини, і її трофіка реалізується з субепіфізарної кістки й суглобової сумки, синовіальної рідини (Arnoldi et al., 1994). Тому порушення перфузії судин капсули позначається на метаболізмі всього суглоба. Це пояснюють тим, що зменшена перфузія спричинює застійні явища в судинах капсули, що супроводжується збільшенням проникності стінки судин, виходу плазми й розвитку інтерстиційного набряку. Це, у свою чергу, збільшує внутрішньотканинний і суглобовий тиск, що погіршує метаболізм хрящової тканини суглоба. Ознаки таких змін виявлено у власних дослідженнях: збільшення інтерстиційної рідини, розшарування капсули, стаз судин капсули і загибель синовіоцитів, що формують ворсинки синовіальної мембрани. Ці зміни оцінено як наслідок ішемічного пошкодження. Ішемія при-

зводить до втрати життєздатності клітин суглобової стінки, хондроцитів менісків і суглобових поверхонь, субхондральної кістки. Деформаційне пошкодження поверхні великогомілкової кістки спричинило деструктивні зміни й на рівні кістки, які полягали у формуванні порожніх лакун, позбавлених кісткового мозку. Це є ознакою резорбції кістки, на що вказують і інші автори (Noble B.S., 2003; Cardoso L., 2009). Очевидно, що зміни на рівні капсули, меніска й кістки є стадійними й прямо залежать від ступеня втрати перфузії регіонарних судин. Відповідно до цього зниження перфузії й прогресуюча ішемія визначають характер перебігу дистрофічних змін хряща суглоба.

Висновки

Результати власних досліджень дозволили зробити висновок про те, що життєздатність епіфізарного хряща суглоба залежить від адекватного кровопостачання оточуючих судин і судинний чинник впливає на патогенез остеоартрозу.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Список літератури

- Hayami T., Pickarski M., Zhuo Y., Wesolowski G.A., Rodan G.A., Duong le T. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis // *Bone*. — 2006. — 38. — 234-43.
- Chunyi Wen, Weijia William Lu, Kwong Yuen Chiu. Importance of subchondral bone in the pathogenesis and management of osteoarthritis from bench to bed // *Journal of Orthopaedic Translation*. — 2014. — Vol. 2, Issue 1. — P. 16-25.
- Zhang C., Li Y., Cornelia R., Swisher S., Kim H. Regulation of VEGF expression by HIF-1 α in the femoral head cartilage following ischemia osteonecrosis // *Scientific Reports*. — 2012. — 2. — 650. — <http://doi.org/10.1038/srep00650>.
- Carlson C.S., Meuten D.J., Richardson D.C. Ischemic necrosis of cartilage in spontaneous and experimental lesions of osteochondrosis // *J. Orthop. Res.* — 1991 May. — 9(3). — 317-29.
- Lykissas M.G., Gelalis I.D., Kostas-Agnantis I.P., Vozonelos G., Korompilias A.V. The role of hypercoagulability in the development of osteonecrosis of the femoral head // *Orthopedic Reviews*. — 2012. — 4(2). — e17. — <http://doi.org/10.4081/or.2012.e17>
- Тлеубаева Н.В. Патогенетические аспекты послеоперационных тромбических осложнений при деформирующем остеоартрозе: Дис... канд. мед. наук: 14.00.16 / Тлеубаева Надежда Викторовна; [Место защиты: ГОУВПО «Кемеровская государственная медицинская академия»]. — Кемерово, 2009. — 113 с.
- Seung'Ah Y., Bo'Hyoun P., Hyung'Ju Y. et al. Calcineurin Modulates the Catabolic and Anabolic Activity of Chondrocytes and Participates in the Progression of Experimental Osteoarthritis // *Arth. Rheum.* — 2007. — Vol. 56, № 7. — P. 2299-2311.
- Baragi V.M., Becher G., Bendele A. M. et al. A new class of potent matrix metalloproteinase 13 inhibitors for potential treatment of osteoarthritis: Evidence of histologic and clinical efficacy without musculoskeletal toxicity in rat models // *Arth. Rheum.* — 2009. — Vol. 60, № 7. — P. 2008-2018.
- Вишневский В.А., Малышкина С.В. Моделирование артроза путем введения дексаметазона в коленный сустав крысы // *Ортоп. травмат. протезир.* — 2004. — № 4. — С. 76-80.
- Пат. 79206, Україна, МПК8 G 09 B 23/28. Спосіб моделювання остеоартрозу з синовітом / Коваленко В.М., Вікторов О.П., Корж М.О., Дедух Н.В., Лисенко І.В., заявник і патенто власник Інститут кардіології ім. акад. М.Д. Стражеска АМН України. — № 200510418; Заявл. 4.11.2005; Опубл. 25.05.2007; Бюл. № 7.
- Smith G. Jr, Myers S.L., Brandt K.D. et al. Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection // *J. Rheumatol.* — 2005. — Vol. 32, № 2. — P. 325-334.
- Ozkan F.U., Ozkan K., Ramadan S., Guven Z. Chondroprotective effect of N-acetylglucosamine and hyaluronate in early stages of osteoarthritis — an experimental study in rabbits // *Bull. NYU Hosp. Jt. Dis.* — 2009. — Vol. 67, № 4. — P. 352-357.
- Batiste D.L., Kirkley A., Laverty S. et al. Ex vivo characterization of articular cartilage and bone lesions in a rabbit ACL transection model of osteoarthritis using MRI and micro-CT // *Osteoarth. Cartil.* — 2002. — Vol. 10, № 2. — P. 145-155.
- Tiralocche G., Girard C., Chouinard L. et al. Effect of oral glucosamine on cartilage degradation in a rabbit model of osteoarthritis // *Arth. Rheum.* — 2005. — Vol. 52, № 4. — P. 1118-1128.
- Jean Y.H., Wen Z.H., Chang Y.C. et al. Intraarticular injection of the cyclooxygenase-2 inhibitor parecoxib attenuates osteoarthritis progression in anterior cruciate ligament transected knee in rats: role of excitatory amino acids // *Osteoarth. Cartil.* — 2007. — Vol. 15, № 6. — P. 638-645.
- Arnoldi C.C. Vascular aspects of degenerative joint disorders. A synthesis // *Acta Orthop. Scand. Suppl.* — 1994. — 261. — 1-82.
- Noble B.S., Peet N., Stevens H.Y., Brabbs A., Mosley J.R., Reilly G.C., Reeve J., Skerry T.M., Lanyon L.E. Mechanical loading: biphasic osteocyte survival and targeting of osteoclasts for bone destruction in rat cortical bone // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* — 2003. — 284. — C934-43.
- Cardoso L., Herman B.C., Verborgt O., Laudier D., Majeska R.J., Schaffler M.B. Osteocyte apoptosis controls activation of intracortical resorption in response to bone fatigue // *J. Bone Miner. Res.* — 2009. — 24. — 597-605.

Отримано 03.12.2018 ■

Ткачук П.В., Страфун С.С., Савосько С.И., Макаренко О.М.
ГУ «Институт травматологии и ортопедии НАМН Украины», г. Киев, Украина
Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

Структурные нарушения коленного сустава при моделировании остеоартроза

Резюме. В статье исследованы структурные изменения капсулы коленного сустава, мениска и суставной поверхности на модели остеоартроза. Установлены кровенаполнение и стаз сосудов капсулы и ворсинок синовиальной оболочки, гибель клеток ворсинок, дистрофические изменения хондроцитов мениска и эпифиза костей сустава. Дефект суставной поверхности и пересечение крестообразной связки сказались

на толщине хряща, редукции клеточного состава и резорбции субхондральной кости. Сделан вывод об участии сосудистого фактора в развитии дистрофических и деформационных изменений структурных образований коленного сустава при остеоартрозе.

Ключевые слова: остеоартроз; сосуды; капсула; мениск; суставной хрящ

P.V. Tkachuk, S.S. Strafun, S.I. Savosko, O.M. Makarenko
State Institution "Institute of Traumatology and Orthopedics of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine
Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Structural disturbances of the knee joint while modeling osteoarthritis

Abstract. The article deals with the structural changes in the capsule of the knee joint, meniscus and articular surface on the model of osteoarthritis. Blood filling, stasis of the capsule vessels and synovial villi, villi cell death, dystrophic changes in the meniscal chondrocytes and the epiphysis of joint bones were established. Defect of the articular surface and cruciate ligament transection affected the thickness of the

cartilage, reduction of the cellular composition and resorption of the subchondral bone. It was concluded that the vascular factor is involved in the development of dystrophic and deformational changes in the structural formations of the knee joint in osteoarthritis.

Key words: osteoarthritis; vessels; capsule; meniscus; articular cartilage