

УДК 616.314-089.843:546.82:611.716.1/.4-018.4-003.93
© Гетманец А.В., 2012

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЦА БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АРТРИТЕ КОЛЕННОГО СУСТАВА

Гетманец А.В.

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Гетманец А.В. Гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости при экспериментальном артрите коленного сустава // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 29-31.

В эксперименте на 196 белых крысах-самках репродуктивного возраста исследовали влияние экспериментального артрита коленного сустава на строение проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости.

Экспериментальный артрит коленного сустава сопровождался сужением проксимальных эпифизарных хрящей большеберцовых костей, сужением их отдельных зон, а также снижением содержания в зоне остеогенеза первичной спонгиозы и количества клеток. Применение преднизолона на фоне экспериментального артрита усугубляло влияние условий эксперимента на строение эпифизарных хрящей. Внутривенное применение препаратов кальция третьего поколения сглаживало выявленные отклонения. Наиболее предпочтительным, по нашим данным, было применение препарата «Кальцецин Адванс».

Ключевые слова: кости, эпифизарный хрящ, экспериментальный артрит, преднизолон, «Кальцецин Адванс».

Гетманец О.В. Гістологічна будова проксимального епіфізального хряща великогомілкової кістки при експериментальному артриті колінного суглоба // Український морфологічний альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 29-31.

В експерименті на 196 білих щурах-самках репродуктивного віку досліджували вплив експериментального артриту колінного суглоба на будову проксимального епіфізального хряща великогомілкової кістки. Експериментальний артрит колінного суглоба супроводжувався звуженням проксимальних епіфізальних хрящів великогомілкової кістки, звуженням їх окремих зон, а також зниженням вмісту в зоні остеогенезу первинної спонгіїзії і кількості клітин. Застосування преднізолону на тлі експериментального артриту посилювало вплив умов експерименту на будову епіфізальних хрящів. Внутрішньопідшківної застосування препаратів кальцію третього покоління згладжувало виявлені відхилення. Найбільш кращим, за нашими даними, було застосування препарату «Кальцецин Адванс».

Ключові слова: кістки, епіфізальний хрящ, експериментальний артрит, преднізолон, «Кальцецин Адванс».

Getmanets A.V. Histological structure of the proximal tibial epiphyseal cartilage in experimental arthritis of the knee // Украинский морфологический альманах. – 2012. – Том 10, №2. – С. 29-31.

In the experiment on 196 white female rats of reproductive age investigated the effects of experimental arthritis of the knee on the structure of the proximal tibial epiphyseal cartilage. Experimental arthritis of the knee accompanied by narrowing the proximal tibial epiphyseal cartilage, narrowing their individual zones, as well as lower maintenance in the area of osteogenesis primary spongiosa and cell number. Use of prednisolone against experimental arthritis complicated by the experimental conditions on the structure of the epiphyseal cartilage. Intragastric administration of drugs with the third-generation calcium smoothed identified deviations. Most preferably, to our knowledge, was the use of the drug "Calcemin Advance".

Key words: bones, epiphyseal cartilage, an experimental arthritis, Prednisolone, "Calcemin Advance".

Поражения суставов являются одними из наиболее тяжелых болезней человечества, а проблемы их диагностики, профилактики и лечения являются одними из ключевых в терапии, ревматологии и клинической фармации. Они широко распространены среди людей зрелого возраста и характеризуются тенденцией к прогрессированию, что приблизительно в 60% случаев ведет к снижению трудоспособности, а в 11,55% - к инвалидизации [2, 3]. В доступной литературе достаточно широко описаны проблемы патогенеза, профилактики, диагностики и лечения заболеваний суставов [6, 10], однако информация о том, как в условиях заболеваний суставов изменяется строение эпифизарных хрящей длинных трубчатых костей практически отсутствует.

Поэтому **цель данного исследования** - изучить гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости (ББК) в условиях экспериментального артрита коленного сустава, введения преднизолона и обосновать возможности коррекции выявленных изменений препаратами кальция третьего поколения. Работа является фрагментом НИР кафедры нормальной анатомии Луганского государственного медицинского университета «Морфогенез длинных трубчатых костей в условиях экспериментального артрита» (гос. регистрационный № 0109U004614).

Материал и методы. Исследование проведено на 196 белых крысах-самках репродуктивного возраста, распределенных на 7 групп. Первую группу составили интактные животные. Во 2-й группе животные получали внутривенно через зонд преднизолон в дозировке, эквивалентной 10 мг/сутки для человека [8]. Крысам 3-7 групп под эфирным наркозом вводили в полость коленного сустава суспензию талька. На следующий день после оперативного вмешательства все животные 4-7 групп также начинали получать внутривенно через зонд преднизолон в дозировке, эквивалентной 10 мг/сутки для человека. По истечении месяца после оперативного вмешательства крысы 5-7 группы также внутривенно через зонд начинали получать препараты кальция третьего поколения. Животные в 5-й группе получали «Кальцецин» в эквиваленте 2 таблетки в сутки для человека, 6-й – «Кальцецин» в эквиваленте 4 таблетки в сутки и в 7-й – «Кальцецин Адванс» в эквиваленте 2 таблетки в сутки. Все манипуляции на животных выполняли в соответствии с правилами Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях [9].

По истечении сроков эксперимента (7, 15, 30 и 90 дней) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли большеберцовые кости, отделяли проксимальные эпифизы, фиксировали их в 10%

растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 10-12 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15^х ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1]. При морфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфофункциональная классификация В.Г.Ковешникова (1980) [4]. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

Все полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [5].

Результаты и их обсуждение. Общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК животных контрольной группы за период с 7 по 90 день наблюдения уменьшалась с $494,75 \pm 4,18$ мкм до $455,19 \pm 2,65$ мкм. Такие изменения происходили за счет пропорционального сужения всех зон проксимального эпифизарного хряща ББК. Так, за период с 7 по 90 день наблюдения ширина зоны индифферентного хряща уменьшилась с $54,38 \pm 0,97$ мкм до $50,75 \pm 1,31$ мкм, зоны пролиферирующего хряща – с $169,08 \pm 2,33$ мкм до $154,75 \pm 2,19$ мкм, зоны дефинитивного хряща с $141,72 \pm 2,07$ до $130,36 \pm 1,99$ мкм, зоны деструкции – с $60,08 \pm 1,35$ мкм до $54,44 \pm 0,98$ мкм и зоны остеогенеза – с $69,47 \pm 1,49$ мкм до $64,89 \pm 0,84$ мкм.

С увеличением возраста животных контрольной группы наряду с сужением проксимальных эпифизарных хрящей ББК изменялось и соотношение основных их объемных компонентов. При этом объемное содержание межклеточного вещества в эпифизарных хрящах ББК за период наблюдения увеличилось с $40,67 \pm 0,81\%$ до $42,42 \pm 0,68\%$, а объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза, а также удельное количество клеток, расположенных преимущественно на поверхности трабекул, напротив, уменьшилось – соответственно с $68,08 \pm 0,98\%$ до $66,61 \pm 0,86\%$ и с $47,31 \pm 0,73$ шт./мм² до $43,69 \pm 0,83$ шт./мм².

Введение подопытным животным преднизолон в первую очередь сопровождалось сужением зоны остеогенеза: ее ширина была меньше, чем у контрольных животных во все установленные сроки соответственно на 9,04%, 4,04%, 8,58% и 7,15%. При этом ширина зоны пролиферирующего хряща была меньше контрольной с 15 по 90 день эксперимента на 3,89%, 4,08% и 7,47%, а ширина зоны индифферентного хряща – на 90 день на 6,73%. Наряду с этим ширина зоны деструкции была больше контрольной на 30 и 90 день эксперимента на 4,96% и 7,60%, а ширина зоны дефинитивного хряща на 90 день – на 4,24%. В результате общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК была меньше контрольной только на 30 и 90 день эксперимента – на 2,23% и 2,18%.

Применение преднизолон также сопровождалось увеличением объемного содержания межклеточного вещества в проксимальных эпифизарных хрящах ББК: оно было больше контрольного с 15 по 90 день эксперимента на 5,83%, 7,93% и 6,88%. В то же время, объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза, а также

удельное количество клеток, расположенных преимущественно на поверхности трабекул, напротив, было меньше контрольного во все установленные сроки эксперимента соответственно на 4,12%, 4,30%, 2,24% и 6,63%, и на 4,11%, 4,33%, 6,98% и 7,25%.

Такая динамика исследуемых показателей связана с развитием и прогрессированием явлений глюкокортикоид-индуцированного остеопороза [7].

В условиях экспериментального артрита коленного сустава общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК во все установленные сроки была меньше контрольных значений соответственно на 2,81%, 4,51%, 6,22% и 4,56%. В первую очередь это происходило за счет зоны субхондрального остеогенеза, которая была уже контрольной с 15 по 90 день на 7,24%, 8,62% и 6,98%, и за счет зоны деструкции, которая также была уже контрольной на 15 и 30 день – на 5,54% и 5,87%. Также, ширина зон пролиферирующего и дефинитивного хряща была меньше контрольных значений на 30 и 90 день эксперимента – соответственно на 5,82% и 6,17%, и на 5,87% и 4,83%.

В условиях экспериментального артрита коленного сустава определялось и увеличение содержания межклеточного вещества в проксимальном эпифизарном хряще ББК: с 15 по 90 день эксперимента оно было больше контрольного на 7,12%, 9,96% и 6,88%. При этом удельное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза и количество клеток на поверхности трабекул было меньше контрольного также с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 7,50%, 3,19% и 8,46%, и на 4,63%, 6,15% и 5,53%.

Это свидетельствует об угнетении функциональной активности эпифизарных хрящей.

Сочетание обоих факторов (введение преднизолон и экспериментальный артрит коленного сустава) сопровождалось потенцированием негативного влияния условий эксперимента: сравнение полученных данных с показателями 3-й группы (экспериментальный артрит коленного сустава без применения преднизолон) показало, что общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК и ширина зоны деструкции были меньше контрольных на 30 и 90 день эксперимента на 2,28% и 6,09%, и на 4,92% и 9,90%. Также, на 90 день эксперимента ширина зон пролиферирующего хряща, дефинитивного хряща и остеогенеза, а также количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза, были меньше контрольных соответственно на 3,98%, 3,99%, 14,27% и 4,10%.

Внутрижелудочное введение «Кальцемина» в стандартной дозировке на фоне применения преднизолон и экспериментального артрита (5-я группа) сопровождалось незначительным сглаживанием влияния условий эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща ББК.

Сравнение полученных данных с показателями 4-й группы (сочетание артрита коленного сустава и применения преднизолон без использования «Кальцемина») показало, что общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК превосходила контрольные показатели на 30 и 90 день на 2,60% и 3,49%. Также, на 90 день наблюдения ши-

рина зон пролиферирующего хряща и остеогенеза были больше аналогичных значений 4-й группы на 4,10% и 6,98%.

Внутрижелудочное введение «Кальцемина» в удвоенной дозировке на фоне сочетания применения преднизолона и экспериментального артрита (6-я группа) также сопровождалось сглаживанием влияния условий эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща ББК, несколько более выраженным, чем в 5-й группе.

Сравнение полученных данных с показателями 4-й группы (сочетание артрита коленного сустава и применения преднизолона без использования «Кальцемина») показало, что общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК превосходила контрольные показатели с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 2,87%, 4,29% и 6,53%. При этом ширина зоны индифферентного хряща была больше контрольных значений на 15 и 90 день на 5,57% и 7,42%, ширина зоны пролиферирующего хряща – на 30 и 90 день на 5,84% и 6,65%, а ширина зоны дефинитивного хряща – на 90 день на 5,89%.

В этих условиях содержание первичной спонгиозы было больше аналогичных значений 4-й группы на 15 и 90 день на 5,43% и 7,15%, а удельное количество клеток на поверхности костных трабекул на 90 день – на 7,30%. Также, содержание межклеточного вещества в хряще было меньше контрольного на 30 день – на 6,20%.

Наконец, введение «Кальцемина Адванс» в стандартной дозировке на фоне применения преднизолона и экспериментального артрита (7-я группа) сопровождалось значительным сглаживанием влияния условий нашего эксперимента на структурно-функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща ББК.

Сравнение полученных данных с показателями 4-й группы (сочетание артрита коленного сустава и применения преднизолона без использования «Кальцемина») показало, что общая ширина проксимального эпифизарного хряща ББК, а также ширина зон деструкции и остеогенеза, превосходила контрольные показатели с 15 по 90 день эксперимента соответственно на 3,82%, 6,42% и 10,20%, на 7,35%, 6,33% и 9,84% и на 5,47%, 10,70% и 24,91%. При этом ширина зоны пролиферирующего хряща была больше контрольной на 15 и 90 день на 3,63% и 6,89%, а ширина зоны дефинитивного хряща – на 12,05% и 8,94%.

В этих условиях содержание межклеточного вещества в хряще было меньше аналогичных значений 4-й группы во все установленные сроки эксперимента соответственно на 5,08%, 7,55%, 9,87% и 9,69%. Также, удельное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза было больше контрольного во все установленные сроки эксперимента на 4,88%, 4,42%, 6,70% и 9,34%, а удельное количество клеток на поверхности трабекул – с 15 по 90 день на 4,00%, 7,04% и 8,56%.

Вероятно, это связано с тем, что «Кальцемин Адванс» в своем составе содержит микроэлементы в большей концентрации, чем обычный «Кальцемин», в частности бор, обладающий хондро- и остеопротекторным действием.

Заключение. Экспериментальный артрит коленного сустава сопровождается сужением проксимальных эпифизарных хрящей большеберцовых костей, сужением их отдельных зон, а также снижением содержания в зоне остеогенеза первичной спонгиозы и количества клеток. Применение преднизолона на фоне экспериментального артрита усугубляло влияние условий эксперимента на строение эпифизарных хрящей. Внутрижелудочное применение препаратов кальция третьего поколения сглаживало выявленные отклонения. Наиболее предпочтительным, по нашим данным, было применение препарата «Кальцемин Адванс».

Перспективы дальнейших исследований.

Для подтверждения выявленных закономерностей в дальнейшем будет проведено гистологическое исследование диафизов большеберцовых костей в условиях нашего эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Коваленко В.М. Ревматичні хвороби в Україні: сучасний стан проблеми і надання медичної допомоги та шляхи покращення / В.М. Коваленко, В.М.Корнацький, Н.М.Шуба та ін. – К., 2004. – С. 23-26.
3. Коваленко В.Н. Остеоартроз. Практическое руководство / В.Н. Коваленко, О.П. Борткевич. – К.: Моршон, 2003. – 448 с.
4. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропогенетика, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т. 2. – С. 251-252.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: Моршон, 2000. – 320 с.
6. Остеоартроз. Консервативна терапія / За ред. М.О. Коржа, Н.В.Дедух, І.А.Зупанця. – Х., Прапор, 1999. – 336 с.
7. Подрушник Е.П. Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / Е.П. Подрушник, А.И. Новохацкий // Ортопед. травматол. - 1983. - N8. - С.15-18.
8. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6, – С. 1513-1516.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. - Strasbourg, 1986. - 52 p.
10. Spector T.D. Methodological problems in the epidemiological study of osteoarthritis / T.D. Spector, Hochberg M.C. // Ann. Rheum. Dis. – 1994. – Vol. 53. – P. 43-46.

Надійшла 12.03.2012 р.
Рецензент: проф. С.А.Кашенко