

## КІЛЬКІСНІ СПІВВІДНОШЕННЯ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ

### КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

ovpelypenko@ukr.net

Фрагмент науково-дослідної роботи «Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти та інших екзогенних чинників на морфологічний стан внутрішніх органів» № державної реєстрації 0113V006185.

**Вступ.** Опорно-руховий апарат людини і особливо такі складні його вузли як суглоби, постійно піддається різного роду ушкоджуючим факторам оточуючого середовища (температурні, механічні тощо). Значне чи тривале ушкодження суглобу веде до дисбалансу співвідношень складових компонентів, що погрожує можливою загибеллю окремих клітин чи клітинних комплексів. В таких умовах організм повинен мати досконалу захисну систему підтримки структурно-метаболічного гомеостазу. Здатність протистояти руйнуючим факторам закладена на різних рівнях організації суглобових структур і залежить від висхідного стану тканин, що зумовлює у подальшому ступінь вираженості захисної реакції та, відповідно, глибини патологічного процесу [1,8,10].

Останнім часом теорія первинності дегенеративних змін суглобового хрящу у субхондральній кістці набуває все більшої популярності [7,13,15,16].

Виникнення артрозних змін у суглобах через первинне травматичне ушкодження суглобового хрящу не викликає сумніву, але кількість спостережень деструкції, у тому числі запальної етіології без наявності травматичного компоненту робить дану проблему вельми актуальною [3,6,14]. Гістохімічні дослідження здатності субхондральної кістки продукувати велику кількість протизапальних цитокинів та факторів росту, що можуть впливати на деградацію хрящової тканини за рахунок судинної інвазії та утворення мікротріщин хрящу [11] підтверджують вказану теорію.

Тим не менш, пластинчаста кісткова тканина, яка є обов'язковим компонентом епіфізарної частини синовіальних суглобів, згідно даних різних досліджень [2,4,5,12], має певний діапазон кількісних морфологічних співвідношень, які повинні враховуватись при доказових експериментах вказаного відділу опорно-рухової системи.

**Мета дослідження.** Визначити кількісні співвідношення морфологічних структур кісткової тканини епіфізарної ділянки колінних суглобів щурів для подальшого порівняння їх при розвитку патологічних

змін у суглобі переважно запального характеру та після впливу на вказані зміни лікувальних заходів.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проводилось на 30 ссавців щурів лінії «Вістар» віком 12 тижнів з масою 130-150 г, що знаходились в умовах віварію ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». Експерименти на тваринах проводились у відповідності до правил Європейської конвенції про гуманне відношення до тварин [9].

Для гістологічного дослідження матеріал – дистальні метаепіфізи стегнових кісток – фіксували 10% нейтральним формаліном, після чого проводили декальцинацію кісткової тканини використовуючи ТРІАЛОН Б, зневоднювали у спиртах концентрації, що зростали та занурювали у парафін. Для світової мікроскопії зрізи, отримані на мікротомі, фарбували гематоксилином та еозином, укладали на предметні скла. Вивчення матеріалу проводили за допомогою мікроскопу Biogex-3 BM-500T з цифровою мікрофотонасадкою DCM 900 з адаптованими для даних досліджень програмами.

При вивченні отриманого матеріалу визначались якісні та кількісні характеристики трабекулярного компоненту, волокнистих структур та вільної рідини.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Субхондральна кістка тварин, що досліджувались мала типову губчасту структуру, рівномірний окрас. Межа переходу до хрящу, що кальцифікується рівномірна, спостерігались окремі випячування кісткової тканини з чіткими контурами.

Особливу увагу приділяли метаболічно активним осередкам кістки, а саме трабекулярній складовій. Відмічались кількість, довжина та товщина трабекул, відстань між ними і наявність порожнин безпосередньо у самих трабекулах.

Трабекули губчастої кістки комірчастої організації мали товщину 280 – 330 мкм із загальноновизнаною остеонною структурою. Орієнтація пластинчастих структур визначалась у первинній документації відповідно розробленої просторової схеми. У трабекулах менше 250 мкм остеонна структура була відсутня. Об'єм кісткових трабекул складав  $59,23 \pm 2,01\%$ , товщина –  $55,71 \pm 6,17$  мкм.

Сітка кісткових трабекул дистального метаепіфізу стегнової кістки містила велику кількість остеобластів, особливо на прикордонній межі із зоною росту. Крупні остеобласти, окрашені відпо-

відно метаболічної активності, розташовувались на зовнішній поверхні кісткових трабекул, більшість знаходилась безпосередньо у самих трабекулах. Остеобласти займали майже  $\frac{1}{2}$  частину загальної площини кісткової тканини ( $23,66 \pm 0,11$ ). Поодинокі клітини мали ознаки деструктивних процесів.

Наявність багатоядерних клітин у резорбтивних порожнинах (остеокластів) дозволяло робити висновок про активність процесів ремоделювання кісткової тканини даного осередку.

Одним з проявів наявності патологічних змін кісткової тканини є відхилення показників гідратації її складових. Тому визначення дольової частини рідинної частини є важливим діагностичним критерієм при визначенні інтенсивності запальних процесів. В ході досліджень встановлено наступні складові взаємовідносини:

- вміст води кортикальної речовини –  $0,43 \pm 0,02$  мг/мм<sup>3</sup> ( $19,17 \pm 50,56\%$ ).
- вміст органічної частини –  $0,24 \pm 0,01$  мг/мм<sup>3</sup> ( $24,15 \pm 0,76\%$ ).
- вміст мінеральної частини –  $1,23 \pm 0,02$  мг/мм<sup>3</sup> ( $56,68 \pm 1,22\%$ ).

На даному етапі дослідження ми не проводили диференційний аналіз кількісних співвідношень типів колагенових складових органічного складу кісткової тканини матеріалу, що вивчався. Відмічено лише присутність різних типів колагену, серед яких, відповідно даним провідних вчених, значно переважав колаген I типу. Матрикс кісткової тканини досліджуваного матеріалу складав 24% від загального матеріалу спостережень.

На межі окістя та кістки визначались самостійні пучки волокон з переходом у кортикальний шар (колаген III типу). Колаген VI типу спостерігався у місцях прикріплення сухожилок та капсул суглобів, у періості та ендості у вигляді коротких філаментів. Колаген V типу, як утворення колагену I типу у вигляді центрального стрижня колагенових фібрил під час дослідження не враховувався як окрема гістологічна одиниця.

Взагалі остеоїд виглядав як тонка полоска гомогенно рожевого кольору. При вивченні кількісних характеристик остеоїду отримані наступні дані:

Товщина остеоїду в середньому складала  $9,1 \pm 1,3$  мкм, об'єм остеоїду –  $9,56 \pm 0,21$  мкм<sup>3</sup>; поверхня остеоїду –  $20,24 \pm 0,38\%$ . Отримані дані співпадають з даними інших досліджень.

### Висновки

Кісткова тканина щурів має досить складну структуру, складові якої знаходяться у тісних взаємовідношеннях між собою. Індивідуальні відмінності кількісних характеристик повинні враховуватись при морфологічних дослідженнях з подальшою інтерпретацією визначених взаємовідносин у лабораторних та клінічних експериментах. Зміни органічного, мінерального та рідинного компоненту кістки пов'язані між собою загальними процесами, що виникають при патологічних чи маніфестних фізіологічних процесах у організмі.

**Перспективи подальших досліджень.** Наступні етапи наукових досліджень в цьому напрямку будуть стосуватися структурних змін компонентів кісткової тканини в умовах запального процесу та при застосуванні активних біологічних речовин.

## Література

1. Дедух Н.В. Патоморфология костной ткани при остеопорозе / Н.В. Дедух // В кн. Остеопороз: эпидемиология, клиника, диагностика, профилактика и лечение / под ред. Н.А. Корж, В.В. Поворознюк, Н.В. Дедух [та ін.]. – Х. : Золотые страницы, 2002. – С. 52-54.
2. Кутя С.А. Закономерности изменений механико-пластических характеристик позвонков крыс молодого возраста при систематической гравитационной перегрузке с использованием средств, повышающих устойчивость к действию гипергравитации / С.А. Кутя, А.О. Столоногов, Р.В. Лискевич // Укр. мед. альм. – 2012. – Т. 15, № 5. – С. 100-102.
3. Лузін В.І. Стан кісткової тканини у ділянці нанесеного дефекту у щурів періоду старечих змін в умовах стрептозотоцинового діабету / В.І. Лузін, А.В. Івченко // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4. – С. 56-58.
4. Полковенко О.В. Изменения гистоструктуры проксимальных и дистальных метафизов бедренных костей крыс при экспериментальной гипокинезии / О.В. Полковенко // Science Rise. – 2014. – Выпуск № 1. Том 3. – С. 31-34.
5. Фаламеева О.В. Структурно-функциональные изменения костной ткани позвоночника и конечностей у крыс Oxys / О.В. Фаламеева, М.А. Садовой, Ю.В. Храпова, Н.Г. Колосова // Хирургия позвоночника. – 2006. – Выпуск № 1. – С. 88-94.
6. Bailey A.J. Phenotypic expression of osteoblast collagen in osteoarthritic bone: production of type I homotrimer / A.J. Bailey, T.J. Sims, L. Knott // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 2002. – V. 34. – P. 176-182.
7. Bobinac D. Changes in articular cartilage and subchondral bone histomorphometry in osteoarthritic knee joints in humans / D. Bobinac, J. Spanjol, S. Zoricic, I. Maric // Bone. – 2003. – V. 32 (3). – P. 284-290.
8. Burr D.B. The involvement of subchondral mineralized tissues in osteoarthrosis: quantitative microscopic evidence / D.B. Burr, M.B. Schaffler // Microsc Res Tech. – 1997. – 37(4). – P. 343-357
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986 [Text]. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
10. Hilal G. Abnormal regulation of urokinase plasminogen activator by insulin-like growth factor 1 in human osteoarthritic subchondral osteoblasts / G. Hilal, J. Martel-Pelletier, J. Pelletier [et al.] // Arthritis Rheum. – 1999. – V. 42. – P. 2112-2122.
11. Hunter D.J. The role of bone metabolism in osteoarthritis / D.J. Hunter, T.D. Spector // Curr. Rheumatol. Rep. – 2003. – V. 5(1). – P. 15-19.
12. Lajeunesse D. Subchondral bone sclerosis in osteoarthritis: not Just an innocent bystander / D. Lajeunesse, F. Massicotte, J.P. Pelletier, J. Martel-Pelletier // Mod. Rheumatol. – 2003. – V. 13. – P. 7-14.
13. Lajeunesse D. The role of bone in treatment of osteoarthritis / D. Lajeunesse // Osteoarthritis Cartilage. – 2004. – V. 12, Suppl A. – P. 34-38.
14. Messner K. Simultaneous changes in bone mineral density and articular cartilage in a rabbit meniscectomy model of knee osteoarthrosis / K. Messner, A. Fahlgren, I. Ross, B. Andersson // Osteoarthritis Cartilage. – 2000. – V.8. – P. 197-206.

15. Westacott C.I. Alteration of cartilage metabolism by cells from osteoarthritic bone / C.I. Westacott, G.R. Webb, M.G. Warnock [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 1997. – V. 40. – P. 2182-2191.
16. Westacott C.I. Cells from osteoarthritic bone produce enzymes which degrade cartilage / C.I. Westacott, G.R. Webb, C.J. Elson // *Trans. Orthop. Res. Soc.* – 1998. – V. 23. – P. 919.

**УДК** 611.71-616-092.9

### **КІЛЬКІСНІ СПІВВІДНОШЕННЯ СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ ЩУРІВ**

**Пелипенко О. В., Шепітько В. І.**

**Резюме.** Проведене морфологічне дослідження кількісних співвідношень елементів кісткової тканини епіфізарної ділянки колінних суглобів щурів. Отримані характеристики трабекулярної складової, матриксу та рідини можуть бути використані у подальших експериментальних дослідженнях як контрольні.

**Ключові слова:** кісткова тканина, субхондральна кістка, щури.

**УДК** 611.71-616-092.9

### **КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ СООТНОШЕНИЯ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ КОСТНОЙ ТКАНИ КРЫС**

**Пелипенко А. В., Шепітько В. І.**

**Резюме.** Проведено морфологическое исследование количественных соотношений элементов костной ткани эпифизарного участка коленных суставов крыс. Полученные характеристики трабекулярной составляющей, матрикса и жидкости могут быть использованы в дальнейших экспериментальных исследованиях как контрольные.

**Ключевые слова:** костная ткань, субхондральная кость, крысы.

**UDC** 611.71-616-092.9

### **QUANTITATIVE RELATIONSHIPS OF THE STRUCTURAL COMPONENTS OF BONE TISSUE OF RATS**

**Pelipenko A. V., Shepitko V. I.**

**Abstract.** The presence of arthrotic changes in the joints due to articular cartilage trauma has no doubt. Recently, the theory of primary degenerative changes in articular cartilage in subchondral bone is gaining popularity.

A morphological study of the quantitative ratios of the elements of bone epiphyseal area of the knee joints of rats.

30 male rats «Wistar» of 12 weeks of age of weight 130-150 g were investigated. Histological material is prepared by the generally accepted rules. Studying the received material, the qualitative and quantitative characteristics of trabecular component, fibrous structures and free fluid were determined.

Subchondral bone animals which studied had typical spongy structure, uniform color. Border of uniform transition to the cartilage that is being calcified were observed some protruding of bone tissue with clear contours.

Particular attention was paid to metabolically active cells of bone, such as trabecular component. The number, length and thickness of trabeculae, the distance between them and the presence of cavities in the most directly trabeculae were observed.

Trabecular of trabecular bone had a thickness of 280 – 330 mm with universally osteo structure. Orientation of lamellar structures was defined in the primary spatial documentation developed under the scheme. In less than 250 microns of trabecular there was no osteo structure. Trabecular bone output was  $59,23 \pm 2,01\%$ , thickness –  $55,71 \pm 6.17$  mm.

Network of trabecular bone of the distal femur of metaepiphysis contained a large number of osteoblasts, especially in the border zone limits of growth. Large osteoblasts, colored due to metabolic activity, located on the outer surface of the trabecular bone, the majority was located directly in the most trabeculae. Osteoblasts occupy nearly 1/3 of the total bone plane ( $23,66 \pm 0,11$ ). Single cells showed signs of destructive processes.

One of the manifestation of the presence of pathological changes of bone tissue are deviations of hydration of its components. Therefore, the definition of equity of the liquid is an important diagnostic criterion in determining the intensity of inflammatory processes. During the research, the following components of the relationship are determined:

The water content of the cortical substance –  $0,43 \pm 0,02$  mg / mmi ( $19,17 \pm 50,56\%$ ). The content of organic –  $0,24 \pm 0,01$  mg / mmi ( $24,15 \pm 0,76\%$ ). The content of the mineral –  $1,23 \pm 0,02$  mg / mmi ( $56,68 \pm 1,22\%$ ).

At this stage of the study we did not conduct a differential analysis of quantitative ratios of collagen type organic components of bone material that was studied. Marked only the presence of different types of collagen, among which, according the data of leading scientists, greatly surpassed type I collagen. Matrix bone test material was 24% of the total material observations.

At the border of the periosteum and bones, the separate bundles of fibers of passage in cortical layer (collagen type III) were determined. Collagen type VI observed in places of attachment of tendon and joint capsule, the periosteum in the form of short filaments. Collagen type V as the formation of collagen type I in the form of a central core of collagen fibrils were not considered during the study as a distinct histological unit.

Generally osteoid looked like a thin strip homogeneously pink color. In the study of quantitative characteristics of osteoid, the following data are received:

## МОРФОЛОГІЯ

---

---

Osteoid thickness averaged  $9,1 \pm 1,3$  mm, osteoid volume –  $9.56 + 0.21$  microns; osteoid surface –  $20,24 \pm 0,38\%$ . The received data coincide with other studies.

Bone tissue of rats has a very complex structure, elements of which are in close relationship between them. Individual differences of quantitative characteristics should be considered in morphological studies with further interpretation of the relationship identified in laboratory and clinical experiments.

**Keywords:** subchondral bone, rat.

*Рецензент – проф. Костиленко Ю. П.*

*Стаття надійшла 07.03.2016 року*