

МОРФОЛОГІЯ СУГЛОБОВОГО ХРЯЩА ТА СУБХОНДРАЛЬНОЇ КІСТКИ ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОПОРОЗУ

КЗ «Сумська обласна клінічна лікарня» (м. Суми)

***ДУ «Інститут патології хребта та суглобів**

ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» (м. Харків)

nataliyayakovenchuk @ukr.net

Стаття є фрагментом дослідження по темі «Вивчити загальні ланки в механізмі патогенезу остеопорозу, остеоартрозу та остеохондрозу хребта для обґрунтування підходів підвищення ефективності діагностики, профілактики та лікування». Шифр теми ЦФ.2017.1.НАМНУ, № державної реєстрації 0117U001021

Вступ. Артроз – це метаболічне захворювання, у разі якого зміни мають місце у всіх структурах ураженого суглоба, кульмінацією є деградація суглобового хряща. В останні роки особливу увагу приділяють взаємодії кістково-суглобової системи у розвитку цієї патології. Дослідження проводять в різних напрямках – вивчення мінеральної щільності кісткової тканини у пацієнтів з артрозом, метаболічного профілю при поєднанні артрозу та остеопорозу, виявлення генетичних маркерів, проводиться розробка терапевтичних підходів [3,4,7,8]. В останні роки сформувався новий напрямок досліджень – вивчення суглобового хряща в нерозривній єдності з субхондральною кісткою. Цей напрямок обумовлено тим, що існує точка зору про зміни в субхондральній кістці як пускового механізму розвитку артрозу [8,9,11,12].

Мета дослідження – в експерименті на тваринах вивчити морфологічні особливості в організації суглобового хряща колінного суглоба і субхондральної кістки на етапах розвитку остеопорозу, індукованого оваріоектомією.

Об’єкт і методи дослідження. Об’єктом дослідження було вивчення морфології суглобового хряща і субхондральної кістки колінного суглоба в умовах моделювання остеопорозу шляхом оваріоектомії.

Експеримент на тваринах був виконаний в експериментально-біологічній клініці ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» з додержанням правил гуманного відношення до експериментальних тварин та асептики згідно «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовують для дослідних та інших наукових цілей» та Закону України [1,2].

Остеопороз моделювали на білих лабораторних щурах шляхом оваріоектомії, яка розглядається як «золотий стандарт» індукування експериментального остеопорозу [6]. Після премедикації та введення тварин в наркоз, був виконаний поперечний пошаровий розріз передньої черевної стінки до 1,5 см, виділені роги матки та яєчники. Після перев’язки

шовною ниткою їх відсікали. Рану пошарово ушивали.

Тварин виводили з експерименту через 1 та 3 міс. після операції.

Дослідження було проведено з дотриманням норм біоетики (протокол № 155 від 29.06.2016 р.)

Для морфологічного дослідження виділяли колінні суглоби. Матеріал фіксували в 10% формаліні, проводили по спиртам зростаючої міцності (від 50 до 96%) та заключали в целоїдин [5]. Зрізи виготовляли на мікротомі Reichert, фарбували гематоксиліном та еозинном, а також пікрофуксином за ван Гізона. Було проведено морфометричний аналіз за наступними показниками, що якісно характеризують субхондральну кістку та суглобовий хрящ (**табл. 1**).

Результати досліджень та їх обговорення

1 міс. після оваріоектомії. У тварин в ділянках субхондральної кістки дистального відділу стегнової кістки та проксимального відділу великогомілкової кістки, виявлено зниження маси кісткової тканини на локальних територіях (**рис. 1**).

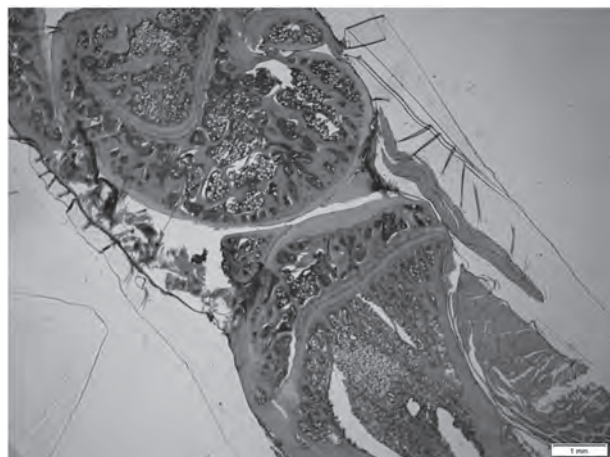


Рис. 1. Субхондральна кістка та кістка нижче зони росту. Лише на ділянках кісткові трабекули формують дрібнопетлясту мережу. Розширені міжтрабекулярні простори. Гематоксилін та еозин. Зб. 20.

Субхондральна кісткова тканина була представлена кістковими трабекулами, які лише на ділянках формували дрібнопетлясту мережу. Відмічено формування ділянок з поодинокими кістковими трабекулами. Між кістковими трабекулами розташовувалися розширені міжтрабекулярні простори заповнені

Оцінка (бали) субхондральної кістки та суглобового хряща колінного суглоба в умовах моделювання остеопорозу

Субхондральна кістка. Будова трабекул та міжтрабекулярних просторів	Бали оцінки	Суглобовий хрящ, матрикс	Бали оцінки
Норма	1	Норма	1
Початкові прояви змін в кісткових трабекулах	2	Нерівномірність контурів поверхні	2
Розширення міжтрабекулярних просторів до 1/3	3	Невеликі локальні ділянки розшарування матриксу	3
Розширення міжтрабекулярних просторів до 2/3	4	Розшарування матриксу на території 1/3	4
Невеликі тріщини, розшарування матриксу кісткових трабекул	5	Розшарування матриксу на території 1/2	5
Порушення фронту остеогенезу	6	Розшарування базофільної лінії	6
Стоншення кісткових трабекул, порушення формування трабекулярної сітки, поодинокі незв'язані кісткові трабекули, тріщини	7	Зменшення товщини суглобового хряща або міжхребцевого диска	7
Стоншення кісткових трабекул, порушення формування трабекулярної сітки, поодинокі незв'язані кісткові трабекули, мікропереломи кісткових трабекул	8	Виражені деструктивні зміни, зменшення висоти	8
Клітини субхондральної кісткової тканини	Бали оцінки	Клітини суглобового хряща	Бали оцінки
Норма	1	Норма: рівномірна щільність хондроцитів, відсутність деструктивних змін	1
Невеликі ділянки без остеоцитів	2	Невеликі ділянки без хондроцитів	2
Деструкція поодиноких клітин	3	Деструкція поодиноких клітин	3
Низька щільність клітин на ділянках	4	Низька щільність клітин на ділянках	4
Великі ділянки без клітин	5	Великі ділянки без клітин	5
Загибель клітин на значних територіях	6	Загибель клітин на значних територіях	6

червоним кістковим мозком. Виявлено зміни й в структурі кісткових трабекул, що віддзеркалювали порушення в організації міжклітинної речовини та клітин. Окремі кісткові трабекули мали мікротріщини, невеликі осередки гомогенізації матриксу. Поблизу таких ділянок щільність остеоцитів на кісткових трабекулах була знижена. Виявлено поодинокі порожні лакуни або лакуни з пікнотичними остеоцитами. Особливістю було порушення лінії остеогенезу між кістковою тканиною та некальцифікованим суглобовим хрящем. Відзначено підвищення ангиогенезу, формування кісткової тканини навколо судин, що проникає в глибокі відділи кальцифікованого хряща (рис. 2).

В некальцифікованому та кальцифікованому суглобовому хрящі виявлено незначні зміни. У глибоких відділах знижена щільність хондроцитів та виявлено поодинокі хондроцити зі щільними ядрами.

Новостворена кісткова тканина в ділянці кальцифікованого хряща відрізнялася від прилеглої кісткової тканини підвищеною щільністю остеоцитів.

Через 3 міс. після оваріоектомії значні зміни виявлено в субхондральній кістці (рис. 3). Поряд зі зниженням маси кісткових трабекул виявлено деструктивні зміни, а саме – розшарування матриксу з візуалізацією колагенових волокон, вогнища деструкції, зниження щільності остеоцитів (рис. 4).

Більшість остеоцитів розташовувалися в широких лакунах з нечіткими краями, що свідчить про остеоцитарний остеолізис. В літературі наведено дані порушення фенотипу та метаболізму остеоци-

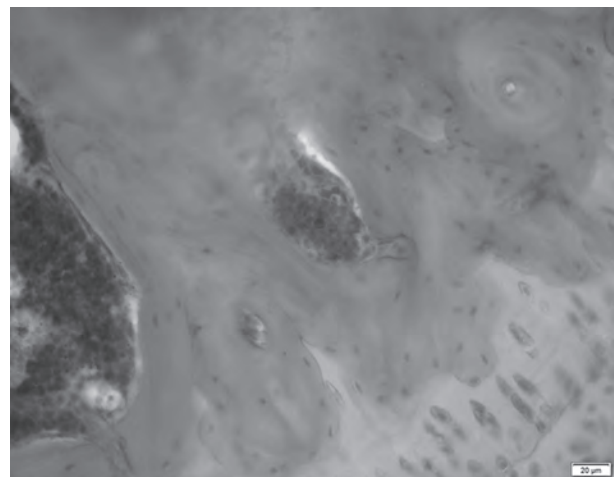


Рис. 2. Субхондральна кістка. Нерівномірний фронт остеогенезу на межі з кальцифікованим хрящем. Гематоксилін та еозин. Зб. 400.

тів в субхондральній кістці у разі розвитку артрозу, які пов'язані зі змінами активації/деактивації основних сигнальних макромолекул (лужної фосфатази, остеокальцину та остеопонтину), що впливають на функцію остеобластів та остеокластів [11].

Серед змін суглобового хряща відмічено невеликі ділянки без хондроцитів та деструкцію поодиноких клітин. Виявлено порушення забарвлення матриксу, що може свідчити про порушення біосинтезу макромолекул.

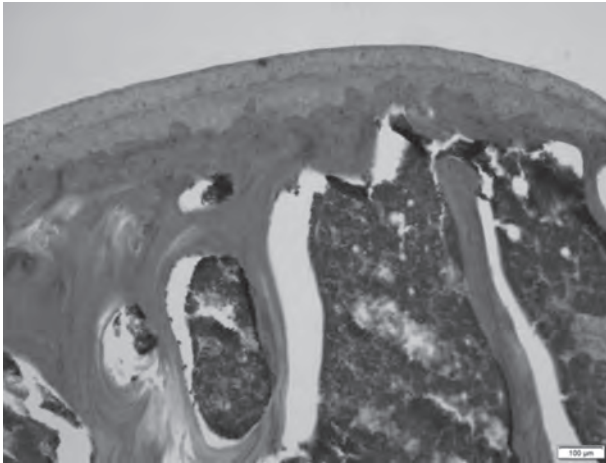


Рис. 3. Порушення будови субхондральної кістки. Нерівномірний фронт остеогенезу. Гематоксилін та еозин. Зб. 100.

На основі якісних тестів оцінки суглобового хряща та субхондральної кістки через 3 міс. після моделювання остеопорозу проведена оцінка в балах (табл. 2). Виявлено, що показники суглобового хряща склали (2,2+0,13) балів, в субхондральній кістці цей бал був вірогідно вищим ($P < 0,001$).

Таблиця 2.

Морфологічні показники стану суглобового хряща колінного суглоба та субхондральної кістки

Показники, що досліджені	Бали
Матрикс суглобового хряща	2,27 + 0,21
Клітини суглобового хряща	2,17 + 0,17
Сумарний показник	2,20 + 0,13
Субхондральна кістка	4,13 + 0,34
Остеоцити	2,47 + 0,19
Сумарний показник	3,3 + 0,25*

Примітка. * $P < 0,001$ – порівняно з показниками суглобового хряща.

Таким чином, через 1 та 3 міс. після оваріоектомії щільність кісткових трабекул в області субхондральної кістки була низькою, також виявлено порушення будови кісткових трабекул. Відомо, що втрата естрогенів в післяменопаузі у жінок або штучному

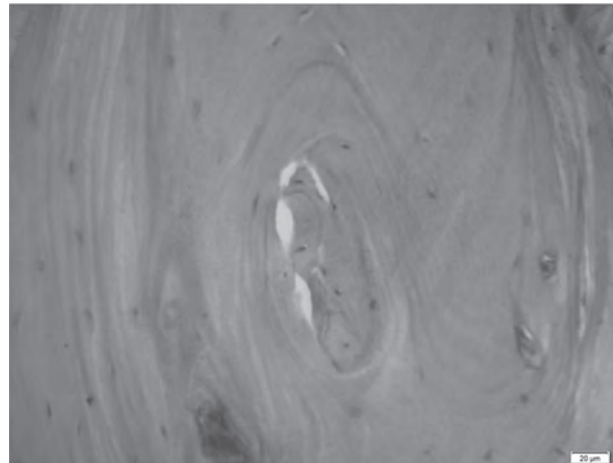


Рис. 4. Деструктивні зміни кісткової трабекули. Розшарування матриксу з візуалізацією колагенових волокон, вогнища дисрегенерації, зниження щільності остеоцитів. Гематоксилін та еозин. Зб. 400.

порушенні їх метаболізму шляхом оваріоектомії, призводить до розвитку остеопенії або остеопорозу, що підвищує ризик розвитку артрозу [3]. З метою оцінки динаміки порушень в цих двох системах нами були взяті ранні терміни дослідження щоб проаналізувати початкові зміни в хрящовій тканині, які відбуваються на тлі остеопорозу. Дані дослідження дозволяють зробити висновок, що прояви порушень в суглобовому хрящу менш виражені та настають пізніше, ніж в субхондральній кістці. Висунуті гіпотези про вплив субхондральної кістки на розвиток післяменопаузального артрозу знайшли підтвердження в нашому експериментальному дослідженні.

Висновки

1. Моделювання остеопорозу шляхом оваріоектомії призводить до виражених змін в субхондральній кістці.

2. Зміни в суглобовому хрящі можуть бути розглянуті на тлі порушень субхондральної кістки.

Перспективи подальших досліджень. Продовжити дослідження стану субхондральної кістки та суглобового хряща в подальшому з аналізом експресії остеоцитами та хондроцитами металопротеїназ, що призводять до деструкції суглобового хряща. Визначення маркерів апоптозу.

Література

1. Evropeyska konventsia pro zahist hrebetnih tvarin, scho vikoristovuyutsya dlya doslidnih ta inshih naukovih tsiley. Strasburg, 18 bereznya 1986 roku: ofitsiyiniy pereklad [Elektronniy resurs] / Verhovna Rada Ukraini. – Ofits. veb-sayt. – (Mizhnarodniy dokument Radi Evropi). – Rezhim dostupu do dokumenta: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137.
2. Zakon Ukraini № 3447-IV vld 21.02.2006 «Pro zahist tvarin vid zhorstokogo povodzheniya» (Stattya 26).
3. Korzh N.A Osteoporoz i osteoartroz: patogeneticheski vzaimosvyazannyye zabolevaniya? (obzor literatury) / N.A. Korzh, N.V. Deduh, N.N. Yakovenchuk // Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye – 2013. – № 4. – S. 102-110.
4. Pasieshvili L.M Osteoartroz i osteoporoz: mehanizmy realizatsii i sposoby diagnostiki / L.M. Pasieshvili, L.N. Bobro // Krymskiy terapevticheskiy zhurnal. – 2009. – № 1 (12). – S. 30-33.
5. Sarkisov D.S. Mikroskopicheskaya tehnika / D.S. Sarkisov, Yu.L. Perov. – M.: Meditsina, 1996. – 544 s.
6. Eksperimentalniy osteoporoz / V.V. Povoroznyuk, N.V. Deduh, N.V. Grigoreva, I.V. Gopkalova. – K., 2012. – 228 s.
7. Baohua Li. Mechanical and material properties of the subchondral bone plate from the femoral head of patients with osteoarthritis or osteoporosis / Li Baohua, M.R. Aspden // Annals of the Rheumatic Diseases. – 1997. – Vol. 56. – P. 247-254
8. Dequeker J. Osteoarthritis and osteoporosis: Clinical and research evidence of inverse relationship / J. Dequeker, J. Aerssens, F.P. Luyten // Adral bonging Clinical and Experimental Research. – 2003. – Vol. 15. – P. 426-439.

9. Findlay M.D. Osteoblast-Chondrocyte Interactions in Osteoarthritis / M.D. Findlay, Gerald J Atkins // Curr. Osteoporos Rep. – 2014. – Vol. 12. – P. 127-134.
10. Glowacki J. Osteoporosis and Osteopenia in Patients with Osteoarthritis / J. Glowacki, T.S. Thornhill // Ortho & Rheum Open Access J. – 2016. – Vol. 2 (3). – P. 555-590.
11. Jaiprakash A. Phenotypic Characterization of Osteoarthritic Osteocytes from the Sclerotic Zones: A Possible Pathological Role in Subchondral Bone Sclerosis / A. Jaiprakash, I. Prasadam, J. Feng, Y. Liu, R. Crawford // Int. J. Biol. Sci. – 2012. – Vol. 8. – P. 406-417.
12. Pang J. Subchondral Bone in osteoarthritis: a review / J. Pang, Y.L. Cao, Y.Y. Shi // Zhongguo Gu Shang. – 2011. – Vol. 24, 8. – P. 702-704.

МОРФОЛОГІЯ СУГЛОБОВОГО ХРЯЦА ТА СУБХОНДРАЛЬНОЇ КІСТКИ ПІСЛЯ МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОПОРОЗУ

Яковенчук Н. М., Дедух Н. В.

Резюме. В статті представлені дані експериментального дослідження на щурах в умовах моделювання остеопорозу шляхом овариоектомії та дослідження суглобового хряща колінного суглоба та субхондральної кістки з метою дослідження впливу прилеглої кісткової тканини на хрящову. Виявлені значні зміни в субхондральної кістки порівняно з суглобовим хрящем.

Ключові слова: щури, моделювання овариоектомії, колінний суглоб, гістологічні дослідження, суглобовий хрящ, субхондральна кістка.

МОРФОЛОГИЯ СУСТАВНОГО ХРЯЦА И СУБХОНДРАЛЬНОЙ КОСТИ ПОСЛЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТЕОПОРОЗА

Яковенчук Н. Н., Дедух Н. В.

Резюме. В статье представлены данные экспериментального исследования на крысах в условиях моделирования остеопороза путем овариоэктомии и исследования суставного хряща коленного сустава и субхондральной кости с целью выявления влияния прилегающей костной ткани на хрящевую ткань. Выявлены значительные изменения в субхондральной кости по сравнению с суставным хрящом.

Ключевые слова: крысы, овариоэктомия, коленный сустав, гистологические исследования, суставной хрящ, субхондральная кость.

MORPHOLOGY OF JOINT CARTILAGE AND SUBHONDRAL BONE PLATE AFTER MODELING OSTEOPOROSIS

Yakovenchuk N. N., Dedukh N. V.

Abstract. In the elderly osteoporosis and osteoarthritis occur with high frequency and various authors are defined as age-associated diseases.

In recent years a new direction of research has been formed – the study of articular cartilage in inseparable unity with the subchondral bone plate to determine the influence of adjacent bone on cartilaginous tissue. This direction is due to the fact that there is a view of changes in the subchondral bone plate as a trigger mechanism for the development of osteoarthritis.

Object and methods. The study was conducted on white laboratory rats under conditions of osteoporosis modeling by ovariectomy. Early studies of subchondral bone plate disorders and its effects on articular cartilage have been investigated by histological methods using morphometric analysis with an assessment of the quality of the articular cartilage (surface, matrix and cells) and the subchondral bone plate (trabecular bone and intertrabecular spaces).

Results. It was found that after 1 month after ovariectomy in the regions of the subchondral bone plate of the distal femur and proximal tibia, bone mass was decreased in local areas. In 3 months the density of bone trabeculae in subchondral bone plate areas was low. Along with the decrease in the mass of bone trabeculae their destructive changes, namely, the stratification of the matrix with the visualization of collagen fibers, disturbance of bone formation, and the decrease in the density of osteocytes were revealed. Most of the osteocytes were located in broad lacunae with fuzzy edges, indicating osteocytic osteolysis.

Among changes in articular cartilage, small areas without chondrocytes and destruction of single cells were noted. A discoloration of the matrix was found, which may indicate a suppression of the biosynthesis of the main macromolecules. On the basis of qualitative tests for assessing articular cartilage and subchondral bone plate after 3 months after osteoporosis modeling, an assessment was made in points. It was found that articular cartilage indexes were (2.2 + 0.13) points, in the subchondral bone plate, this score was significantly higher (3,3 + 0,25) балів (P < 0.001).

Conclusion. Thus, manifestations of violations in the articular cartilage were less pronounced than in the subchondral bone plate. The hypothesis about the influence of subchondral bone plate as risk factor on the development of postmenopausal osteoarthritis has been confirmed in our study.

Keywords: rats, ovariectomy, knee joint, histological examination, articular cartilage, subchondral bone plate.

Рецензент – проф. Шепітько В. І.

Стаття надійшла 09.11.2017 року