

**РОЛЬ ЕКСПРЕСІЇ Кі67 ТА iNOS У РАННЬОМУ НЕВИНОШУВАННІ ВАГІТНОСТІ**<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)<sup>2</sup>ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України» (м. Львів)<sup>3</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)

ihor.zastavnyy@gmail.com

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Робота виконана в рамках НДР кафедри гістології, цитології та ембріології ЛНМУ імені Данила Галицького «Лектино- та імуногістохімічний аналіз вуглеводних детермінант нормальних та патологічно змінених клітин і тканин» (№ державної реєстрації 0117U001076) та договору про співпрацю між кафедрою гістології, цитології та ембріології ЛНМУ імені Данила Галицького та ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України».

**Вступ.** Поняття «невиношування вагітності» (НВ) включає втрату плода у період від зачаття до 16-26-го повного тижня внутрішньоутробного розвитку, в залежності від юридичних норм різних країн і є найбільш частим її ускладненням [8,13,18]. При цьому, в більшості спостерігається раннє невиношування вагітності (РНВ), тобто таке, що відбулось до 10-12 тижня внутрішньоутробного розвитку [14]. За частотою виникнення виділяють спорадичне (СНВ) та звичне невиношування (ЗНВ). Перше – це одно- чи дворазова втрата плода, відповідно друге – це втрата, яка відбулась більше 3-ох разів [24]. Статистичні дані свідчать, що невиношуванням завершуються близько 8-20% всіх клінічно встановлених вагітностей [19,20], при цьому звичним невиношуванням – близько 2-5% [25]. Найчастішими причинами СНВ є хромосомні аномалії плода, порушення з боку матері (напр. анатомічні, ендокринні, автоімунні), її вік, фактори навколишнього середовища та ін., тоді як приблизно в 50% випадків, причини ЗНВ не є до кінця встановленими та часто окреслюються поняттям «ідіопатичне невиношування вагітності», до якого можна віднести ще й імунне неплоддя, оскільки механізми останнього також не є достеменно вивченими [15,5].

Першим бар'єром та основним компонентом плодово-материнського інтерфейсу на ранніх етапах розвитку є структурні компоненти ворсинок хоріона. Детальне вивчення експресії імуногістохімічних маркерів, активності проліферації структурних компонентів ВХ, різних ознак їх відповіді на молекулярному рівні при звичному ранньому невиношуванні вагітності дасть можливість зрозуміти патогенез цієї патології.

Кі67 – нуклеарний маркер проліферації клітин, визначення рівня експресії якого зазвичай використовують для оцінки агресивності онкологічного процесу, в тому числі – раку молочної залози [1, 9, 7]. Роль

цього маркера та маркерів проліферації клітин загалом у розвитку раннього невиношування вагітності вивчалась на децидуальних клітинах [12,16].

Нітрогену (II) оксид (NO) відіграє важливу роль у фізіологічних та патологічних процесах, наприклад – запальних, які запускаються у відповідь на бактерійну, вірусну, грибкову інфекції, в разі автоімунного процесу чи інших зовнішніх чинників [11]. Нітроген оксид синтаза (NOS) здійснює синтез NO із L-аргініну та поділяється на кілька ізоформ – ендотеліальну (eNOS), нейрональну (nNOS) та індукцибельну нітроген оксид синтазу (iNOS) [17,21,3]. Остання, кальцій незалежна NOS здатна синтезувати порівняно велику кількість NO впродовж тривалого періоду у відповідь на вищезгадані подразники [6].

З точки зору синтезу структурними компонентами ВХ нітроген оксиду проводились, в основному, генетичні дослідження та аналіз рівня вільних радикалів NO в периферійній крові жінок [23,22]. Було доведено підвищення рівня NO в плазмі крові у жінок, які страждають на ЗНВ та СНВ, порівняно із нормальним перебігом вагітності та поліморфізм окремих генів eNOS у жінок, що може мати зв'язок із ідіопатичним ЗНВ [23].

У світлі вищенаведеної інформації, ми вважаємо за доцільне вивчення активності проліферації та експресії iNOS в клітинах ВХ ембріонів людини, отриманих після СНВ та ЗНВ і порівняти отримані дані із такими в нормальних ворсинках хоріона. Найбільш доступний та показовий метод для такої гістологічної оцінки є імуногістохімічний, із застосуванням відповідних антитіл.

**Мета дослідження.** Вивчити роль експресії імуногістохімічних маркерів – Кі67 та індукцибельної нітроген оксид синтази в структурних компонентах ворсинок хоріона ембріонів людини, отриманих внаслідок спорадичного, звичного невиношування вагітності та порівняти отримані результати із ВХ, отриманими після артифіційних абортів.

**Об'єкт і методи дослідження.** В якості гістологічного матеріалу для дослідження використовувалась тканина отримана після вишкрібання порожнини матки після звичного, спорадичного невиношування вагітності та після проведення артифіційного аборту за бажанням жінки від 5 до 12 тижня гестації, підтвердженого УЗД обстеженням та відповідною медичною документацією.

Таблиця 1.

Панель первинних антитіл

Антитіло	Клон	Титр	Виробник
Ki-67 iNOS	клон SP6	1:50	TermoScientific
	клон Ab-1	1:100	TermoScientific

Група спорадичного невиношування включала 42 зразки ВХ, отриманих від жінок, які вже мають дітей і звернулись за медичною допомогою з приводу втрати вагітності вперше чи вдруге в житті.

Група звичного невиношування включала 33 зразки ВХ, отриманих від жінок, які звертались за медичною допомогою більше 3-ох разів та не мають дітей. Виключними факторами із цієї групи були наступні: встановлений діагноз антифосфоліпідного синдрому, аутоімунного тиреоїдиту, системного червоного вовчака, ревматоїдного поліартриту чи склеродермії в жінки та хромосомні аномалії плода, підтверджені цитогенетичним методом.

Контрольна група включала 35 зразків ВХ, отриманих від жінок, в яких є діти і яким була проведена процедура артифіційного абортів за їх бажанням. Виключними факторами були наступні: відсутність дітей та діагностовані цитогенетичним методом хромосомні аномалії в плоді.

Із отриманого матеріалу під збільшувачим склом були відібрані ворсинки хоріона, промиті 0,9% розчином NaCl та зафіксовані в розчині Буена. Після цього – проводилась заливка гістологічного матеріалу в парапластові блоки за стандартною схемою [10].

Гістологічні зрізи товщиною 4-6 мкм наносили на адгезивні предметні скельця SuperFrost Plus, після депарафінізації та регідратації зрізів проводили температурне демаскування антигенів – heat induction of epitope retrieval (зрізи були розміщені в цитратному буфері з рН 6.0 і підігрівалися в автоклаві при температурі +121°C 8 хвилин) та пригнічували активність ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню протягом 20 хвилин. Далі проводили інкубацію зрізів з первинними антитілами у вологих камерах при температурі 23-25°C протягом 30 хвилин. В якості первинних використовувалися моноклональні антитіла до Ki-67 та iNOS (TermoScientific, США) (табл. 1). Титр антитіл підбирався згідно рекомендацій виробника з використанням у якості розчинника спеціального розчину Antibody Diluent (TermoScientific, США). Для ідентифікації реакції використовували

систему візуалізації Quanto (TermoScientific, США), з нанесенням в якості хромогену 3-діамінобензидин тетрахлориду (DAB) (TermoScientific, США). Для відокремлення незабарвлених структур зрізи додатково обробляли гематоксилином Майєра.

При оцінюванні ІГХ реакцій з маркерами iNOS інтенсивність цитоплазматичного забарвлення оцінювалася за 4 категоріями: 0 – негативна реакція (<10% забарвлених клітин), 1 – слабка (20-50% забарвлених клітин), 2 – помірна (60-80% забарвлених клітин), 3 – сильна (90-100% забарвлених клітин), згідно рекомендаціям багатьох авторів [2,26].

Зафарбування за допомогою гематоксилину Меєра та еозину проводилось за стандартною схемою [4].

Дослідження проводилось із дозволу жінок на гістологічному матеріалі, зафіксованому та скерованому в Інститут спадкової патології НАМНУ для проведення цитогенетичного аналізу в період червня 2016 – червня 2017 року та здійснювались згідно із основними стандартами GCP (1996 р.), Європейської конвенції із прав людини та біомедицини від 04.04.1997, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації із етичних принципів наукових медичних досліджень із залученням людей (1964-2008), Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 та за погодженням із Комісією з біоетики ЛНМУ імені Данила Галицького (Протокол № 2 від 15.02.2016).

Результати досліджень та їх обговорення.

Зафарбовані гематоксилином та еозином, оглядові препарати показали, що досліджувані ворсинки хоріона включають наступні компоненти: синцитіотрофобласт (СТБ), вкритий мікрворсинками, цитотрофобласт (ЦТБ), мезенхіма (МХ), до складу якої входять фібробласти, сполучнотканинні волокна, клітини Гофбауєра (КлГ) та судини мікроциркуляторного русла.

У ворсинках хоріона групи ЗН в 12 із 33 (36%) зразків спостерігалось відшарування і ущільнення мезенхіми, стоншення ЦТБ та СТБ, що можна охарактеризувати як деструктивні зміни тканини. Подібна картина спостерігалась і в окремих ВХ із групи СН (у 8 зразках (19%)). У контрольній групі ВХ подібні зміни не відмічались в жодному випадку (рис. 1). Слід також зауважити, що кількість судинних компонентів МХ в перших двох групах була також менша, особливо у ВХ із дистрофічними змінами.

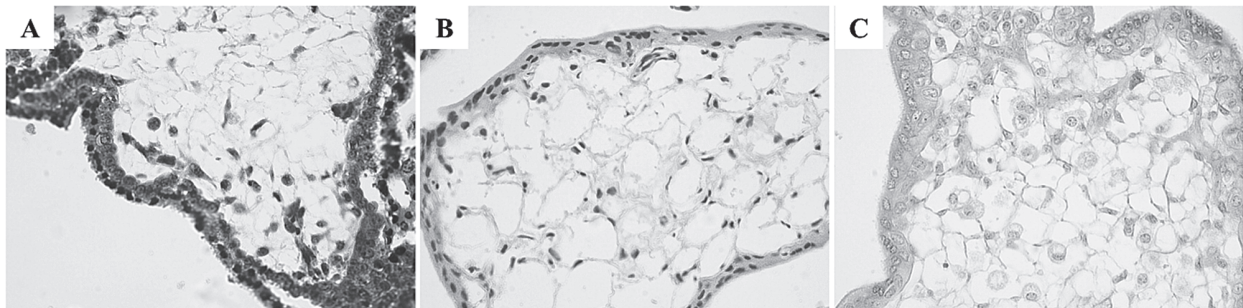
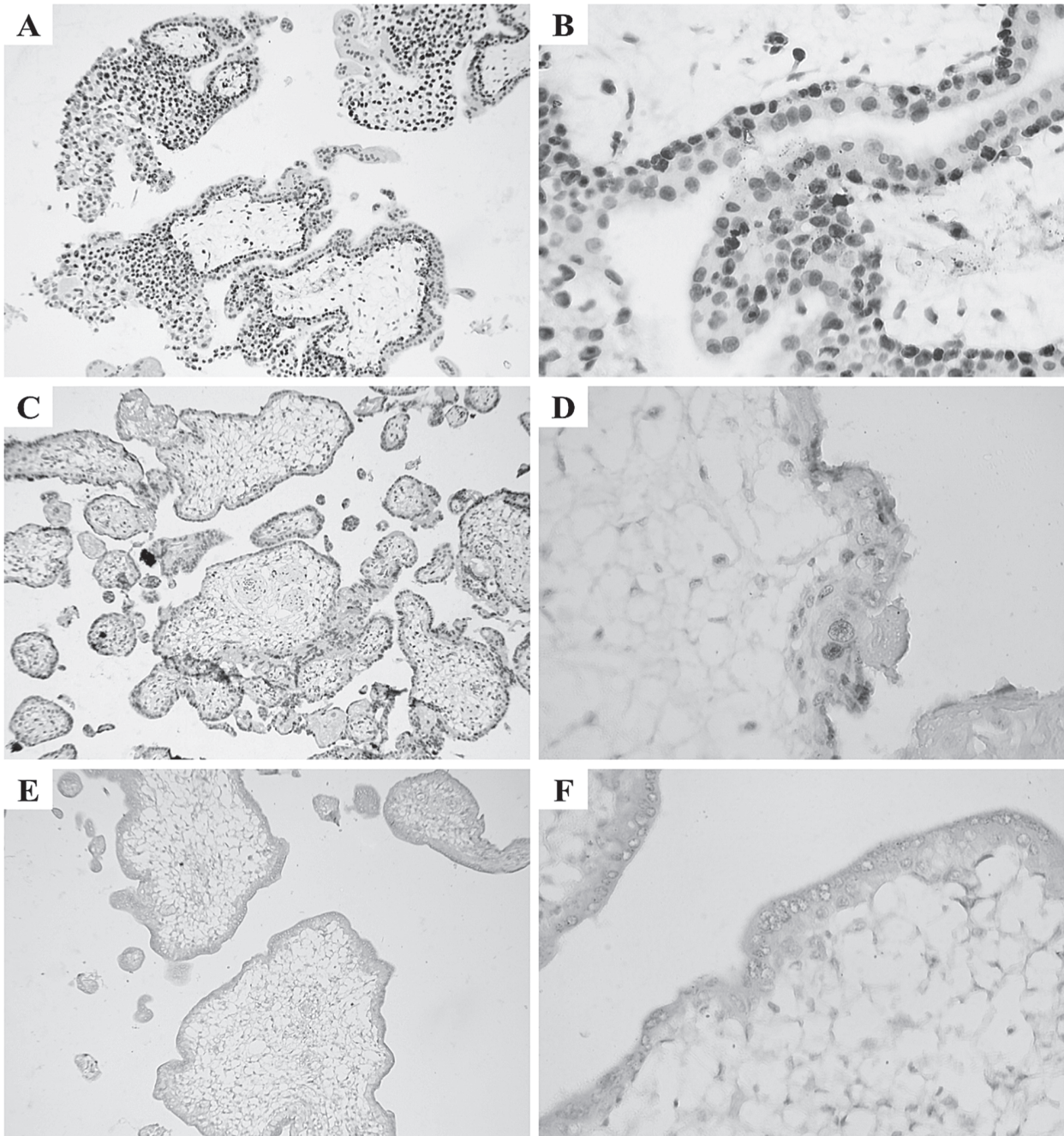


Рис. 1. Досліджувані ворсинки хоріона, зафарбовані гематоксилином та еозином (x400).

А – ворсинки хоріона контрольної групи; В – ворсинки хоріона групи спорадичного невиношування вагітності; С – ворсинки хоріона групи звичного невиношування.



**Рис. 2.** Експресія Кі 67 у структурних компонентах ворсинок хоріона ембріонів людини, отриманих після раннього невиношування вагітності та в нормі. А, В – ворсинки хоріона контрольної групи (x100, x400); С, D – ворсинки хоріона групи спорадичного невиношування вагітності (x100, x400); Е, F – ворсинки хоріона групи звичного невиношування (x100, x400).

*Ki 67*

Експресія цього маркера спостерігалась лише в ядрах клітин ЦТБ та синцитіальних бруньок (СБ) у всіх досліджуваних групах. Велика кількість проліферуючих клітин цитотрофобласту спостерігалась в контрольній групі. У групах спорадичного та звичного невиношувань відмічалась відсутня або дуже низька експресія цього маркера (рис. 2).

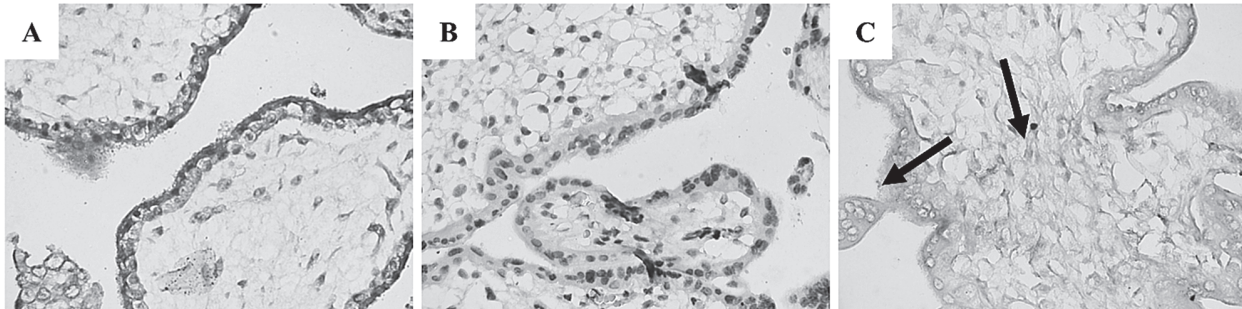
*iNOS*

Після застосування антитіл до iNOS в контрольній групі не було відмічено жодної активності синтази на поверхні клітин чи в їх цитоплазмі. У двох інших гру-

пах в більшості досліджуваних тканин ВХ – картина подібна до КГ, але в невеликій кількості зразків спостерігалось незначне накопичення iNOS на поверхні мікрворсинок СТБ та в окремих ділянках мезенхіми (рис. 3).

Підсумовані результати щодо активності експресії каспази 3 та iNOS оцінені трьома дослідниками незалежно один від одного та представлені в таблиці 2.

Отримані результати можуть свідчити про значну активність процесів проліферації в клітинах цитотрофобласту нормальних ворсинок хоріона та їх порушення у випадку ЗНВ та СНВ.



**Рис. 3.** Експресія iNOS у структурних компонентах ворсинок хоріона ембріонів людини, отриманих після раннього невиношування вагітності та в нормі (x400). А – ворсинки хоріона контрольної групи; В – ворсинки хоріона групи спорадичного невиношування вагітності; С – ворсинки хоріона групи звичного невиношування (стрілками позначені ділянки незначної експресії iNOS на поверхні мікрворсинок синцитію та в мезенхімі).

**Висновки.** В результаті проведеного дослідження спостерігалось зниження активності експресії Ki67 (фактора проліферації) в ядрах клітин цитотрофобласту при спорадичному та звичному невиношуваннях вагітності, що свідчить про зниження процесів проліферації та диференціації компонентів гемато-плацентарного бар'єру, сповільнює його формування і може відігравати ключову роль у розвитку невиношування вагітності.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується більш детальне вивчення досліджуваного гістологічного матеріалу із застосуванням інших імуногістохімічних маркерів та скануючої електронної мікроскопії.

Таблиця 2.

**Рівень експресії Ki67 та iNOS в структурних компонентах ворсинок хоріона ембріонів людини**

Структурні компоненти		Група		
		Контрольна група	Спорадичне невиношування	Звичне невиношування
Ki67	Цитотрофобласт	3*	0	0
	Синцитіотрофобласт	0	0	0
	Мезенхіма	0	0	0
iNOS	Цитотрофобласт	0	0	0
	Синцитіотрофобласт	0	0	0
	Мезенхіма	0	0	0

**Примітка.** \* – “0” – негативна реакція, “1” – слабка реакція, “2” – помірна реакція, “3” – сильна реакція.

**Література**

- Bilash SM, Bilash VP. Dynamika ekspresiyi markera proliferatsiyi na strukturnykh elementakh pid nyzhn'oshchelepnykh slynyykh zaloz u porivnyal'no-vydovomu aspekti v normi. Naukovo-praktychny zhurnal «Problemy nauky». Pol'shcha. 2017;6(6):19-21. [in Ukrainian].
- Lulko AV, Molchanov AV, Shponka IS. Ocenka ekspresii markerov kletochnoho cykla i mezhkletochnoj adgezii u pacyentov s poverkhnostnym rakom mochevogo puzyrja. Urolohija. 2012;16(1):52-60. [in Russian].
- Aldridge JR, Moseley CE, Boltz DA, Negovetich NJ, Reynolds C, Franks J, et al. TNF/iNOS-producing dendritic cells are the necessary evil of lethal influenza virus infection. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009;106(13):5306-11.
- Avwiuro G. Histochemical uses of haematoxylin – a review. Jpcs. 2011;1:24-34.
- Baek KH, Lee EJ, Kim YS. Recurrent pregnancy loss: the key potential mechanisms. Trends in molecular medicine. 2007;13(7):310-7.
- Blaise GA, Gauvin D, Gangal M, Authier S. Nitric oxide, cell signaling and cell death. Toxicology. 2005;208(2):177-92.
- De Azambuja E, Cardoso F, de Castro G, Colozza M, Mano MS, Durbecq V, et al. Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12 155 patients. British journal of cancer. 2007;96(10):1504-13.
- El-Sayed MM, Mohamed SA, Jones MH. Expectant management of first-trimester miscarriage. J Obstet Gynaecol. 2009;29:681-5.
- Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer. 1983;31:13-20.
- Hewitson TD, Wigg B, Becker GJ. Tissue preparation for histochemistry: fixation, embedding, and antigen retrieval for light microscopy. Histology Protocols. Humana Press, Totowa, NJ; 2010. p. 3-18.
- Hickey MJ, Granger DN, Kubes P. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) and regulation of leucocyte/endothelial cell interactions: studies in iNOS-deficient mice. Acta Physiologica. 2001;173(1):119-26.
- Inada K, Shima T, Nakashima A, Aoki K, Ito M, Saito S. Characterization of regulatory T cells in decidua of miscarriage cases with abnormal or normal fetal chromosomal content. Journal of reproductive immunology. 2013;97(1):104-11.
- Katz VL, Lentz GM, Lobo RA, Gershenson DM. Spontaneous and recurrent abortion: etiology, diagnosis, treatment. Comprehensive Gynecology. 6th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Mosby; 2012; chap 16.
- Kolte AM, Bernardi LA, Christiansen OB, Quenby S, Farquharson RG, Goddijn M, et al. Terminology for pregnancy loss prior to viability: a consensus statement from the ESHRE early pregnancy special interest group. Human Reproduction. 2014;30(3): 495-8.
- Lee RM, Silver RM. Recurrent pregnancy loss: summary and clinical recommendations. Semin Reprod Med. 2000;18:433-40.
- Meresman GF, Olivares C, Vighi S, Alfie M, Irigoyen M, Etchepareborda JJ. Apoptosis is increased and cell proliferation is decreased in out-of-phase endometria from infertile and recurrent abortion patients. Reproductive Biology and Endocrinology. 2010;8(1):126.

17. Mgbemena V, Segovia J, Chang TH, Bose S. KLF6 and iNOS regulates apoptosis during respiratory syncytial virus infection. *Cellular immunology*. 2013;283(1):1-7.
18. Mohangoo AD, Blondel B, Gissler M, Velebil P, Macfarlane A, Zeitlin J. International comparisons of fetal and neonatal mortality rates in high-income countries: should exclusion thresholds be based on birth weight or gestational age? *PLoS ONE*. 2013;8(5):e64869.
19. National Coordinating Centre for Women's and Children's Health (UK) [Internet]. Ectopic Pregnancy and Miscarriage: Diagnosis and Initial Management in Early Pregnancy of Ectopic Pregnancy and Miscarriage. NICE Clinical Guidelines, No. 154. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists [Retrieved 4 July 2013]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132775/>
20. Norwitz ER. Overview of the etiology and evaluation of vaginal bleeding in pregnant women. Waltham, MA: UpToDate; 2014. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-the-etiology-and-evaluation-of-vaginal-bleeding-in-pregnant-women>
21. Panis C, Mazzucco TL, Costa CZF, Victorino VJ, Tatakahara VLH, Yamauchi LM, et al. Trypanosoma cruzi: effect of the absence of 5-lipoxygenase (5-LO)-derived leukotrienes on levels of cytokines, nitric oxide and iNOS expression in cardiac tissue in the acute phase of infection in mice. *Experimental parasitology*. 2011;127(1):58-65.
22. Parveen F, Faridi RM, Alam S, Agrawal S. Genetic analysis of eNOS gene polymorphisms in association with recurrent miscarriage among North Indian women. *Reproductive biomedicine online*. 2011;23(1):124-31.
23. Raffaelli F, Nanetti L, Vignini A, Mazzanti L, Giannubilo SR, Curzi CM, et al. Nitric oxide platelet production in spontaneous miscarriage in the first trimester. *Fertility and sterility*. 2010;93(6):1976-82.
24. Regan L, Rai R, Backos M. The investigation and treatment of couples with recurrent first-trimester and second-trimester miscarriage. *RCOG Green Top Guideline*. 2011;17:1-17.
25. Ware BD, Gibson M, Silver RM. Recurrent miscarriage. *New England Journal of Medicine*. 2010;363(18):1740-7.
26. Yemelyanova A, Vang R, Kshirsagar M, Lu D, Marks MA, Shih IM, et al. Immunohistochemical staining patterns of p53 can serve as a surrogate marker for TP53 mutations in ovarian carcinoma: an immunohistochemical and nucleotide sequencing analysis. *Modern pathology*. 2011;24(9):1248.

### РОЛЬ ЕКСПРЕСІЇ Kі67 ТА iNOS У РАНЬОМУ НЕВИНОШУВАННІ ВАГІТНОСТІ

**Заставний І., Яценко А., Ткач І., Шпонька І., Луцик О.**

**Резюме.** Першим бар'єром та основним компонентом плодово-материнського інтерфейсу на ранніх етапах розвитку є структурні компоненти ворсинки хоріона. Детальне вивчення експресії імуногістохімічних маркерів Kі67 (нуклеарний маркер проліферації клітин) та iNOS (відіграє важливу роль у фізіологічних та патологічних процесах, наприклад – запальних) в структурних компонентах ворсинки хоріона, різних ознак їх відповіді на молекулярному рівні при звичному ранньому невиношуванні вагітності дасть можливість зрозуміти патогенез цієї патології.

В результаті проведеного дослідження спостерігалось зниження активності експресії Kі67 в ядрах клітин цитотрофобласту при спорадичному та звичному невиношуваннях вагітності, що свідчить про зниження процесів проліферації та диференціації компонентів гемато-плацентарного бар'єру, сповільнює його формування і може відігравати ключову роль у розвитку невиношування вагітності.

**Ключові слова:** ворсинки хоріона, імуногістохімія, невиношування вагітності, звичне невиношування, спорадичне невиношування.

### РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ Kі67 И iNOS В РАННЕМ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

**Заставный И., Яценко А., Ткач И., Шпонька И., Луцик А.**

**Резюме.** Первым барьером и основным компонентом плодово-материнского интерфейса на ранних этапах развития являются структурные компоненты ворсинок хориона. Детальное изучение экспрессии иммуногистохимических маркеров Kі67 (нуклеарный маркер пролиферации клеток) и iNOS (играет важную роль в физиологических и патологических процессах, например – воспалительных) в структурных компонентах ворсинок хориона, различных признаков их ответа на молекулярном уровне при привычном раннем невынашивании беременности даст возможность понять патогенез этой патологии.

В результате проведенного исследования наблюдалось снижение активности экспрессии Kі67 в ядрах клеток цитотрофобласта при спорадическом и привычном невынашивании беременности, что свидетельствует о снижении процессов пролиферации и дифференциации компонентов гемато-плацентарного барьера, замедляет его формирование и может играть ключевую роль в развитии невынашивания беременности.

**Ключевые слова:** ворсинки хориона, иммуногистохимия, невынашивание беременности, привычное невынашивание, спорадическое невынашивание.

### THE ROLE OF Kі67 AND iNOS EXPRESSION IN EARLY PREGNANCY LOSS

**Zastavnyy I., Yashchenko A., Tkach I., Shponka I., Lutsyk A.**

**Abstract.** The term "pregnancy miscarriage" (PM) includes the loss of the fetus from conception to the 16th-26th full week of fetal development, depending on the legal norms of different countries and is the most often its complication. Early pregnancy miscarriage (until the 12<sup>th</sup> week of gestation) is the most frequent type of PM.

The first barrier and the main component of the fetomaternal interface in the early stages of development are the structural components of the chorionic villi. A detailed study of the expression of Kі67 immunohistochemical marker (cell proliferation marker) and iNOS (plays an important role in physiological and pathological processes, for example inflammatory) in the structural components of the chorionic villi, various signs of their response at the molecular level during spontaneous and recurrent early pregnancy miscarriage will make it possible to understand the pathogenesis of this pathology.

The purpose of this study was to investigate the role of expression of immunohistochemical markers – Ki67 and inducible nitrogen oxide synthase in the structural components of the chorionic villi of human embryos derived from sporadic, recurrent miscarriage of pregnancy, and to compare the results obtained from artificial abortions.

The group of sporadic miscarriage included 42 samples, a group of recurrent miscarriage included 33 samples and control group – 35 samples.

Expression of Ki67 marker was observed only in the nuclei of the cytotrophoblast and syncytial sprouts in all of the studied groups. A large number of proliferating cells of the cytotrophoblast was observed in the control group. In the groups of sporadic and habitual negligence, there was no or very low expression of this marker.

After the use of antibodies to iNOS, no activity of the synthase on the cell surface or in their cytoplasm was observed in the control group. In two other groups, in most of the studied tissues – the picture was similar to control group.

As a result of this study, the Ki67 expression activity was decreased in the cells of cytotrophoblast cells in sporadic and recurrent miscarriage of pregnancy, indicating a decrease in the processes of proliferation and differentiation of the components of the hematoplacental barrier, which slows down its formation and can play a key role in the development of miscarriage.

**Key words:** chorionic villi, immunohistochemistry, miscarriage, recurrent miscarriage, sporadic miscarriage.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.*

Стаття надійшла 27.01.2018 року

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-1-142-285-291

УДК 616.711-018.3-003

*Костерін С. Б., Дедух Н. В., Мальцева В. Є.*

### МОРФОЛОГІЯ МІЖХРЕБЦЕВОГО ДИСКА ТА КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ АПОФІЗІВ ТІЛ ХРЕБЦІВ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОПОРОЗУ ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України» (м. Харків)

[ortop.kosterin@gmail.com](mailto:ortop.kosterin@gmail.com)

**Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.** Стаття є фрагментом досліджень, що проведено за темою НДР: «Дослідити спільні ланки в механізмі патогенезу остеопорозу, остеоартрозу та остеохондрозу хребта для обґрунтування підходів до підвищення ефективності діагностики, профілактики та лікування». Шифр теми ЦФ.2017.1.НАМНУ, № державної реєстрації 0117U001021.

**Вступ.** Остеохондроз хребта – одне з поширених хронічних захворювань людини. Міжхребцеві диски є невід'ємною частиною хребта, сприяють його рухливості, а також вони підтримують рівномірний розподіл напруги на ділянки замикальних пластин. В склад цієї складної структури входить хрящові замикальні пластинки, волокнисте кільце та драглисте ядро, структури, що не мають судин. Живлення дисків проходить через судини кісткової тканини. У зв'язку з цим, серед розробок в цьому напрямку досліджують зміни якості кісткової тканини. В літературі представлено дані щодо змін мінеральної щільності тіл хребців, архітектури тіл хребців та впливу цих змін на спрямованість дегенеративних проявів в міжхребцевих дисках [13, 17, 18, 19], механічної якості тіл хребців в кореляції зі станом міжхребцевих дисків [19]. Суперечливі дані стосуються стану міжхребцевого диску в умовах різної мінеральної щільності. Є дослідження, що проведено на близнюках, в якому представлено значущу асоціацію між дегенерацією дисків та підвищеною мінеральною щільністю в проксимальному відділі стегнової кістки та попереково-

му відділі хребта [11]. За даними інших дослідників в умовах низької мінеральної щільності міжхребцеві диски зберігають свою будову [12,20].

Відома значна роль субхондральної кісткової тканини у розвитку остеоартрозу, що пов'язано з експресією остеобластами прозапальних цитокинів та ростових факторів, що впливають на хондроцити та замикають цикл розвитку артрозу [3,7,9,14]. Якщо ці дані екстраполювати на прилеглу до міжхребцевого диску кісткову тканину, то можливо, її роль також важлива в розвитку в диску деструктивних порушень [10,15,20]. Однак гістологічних досліджень, щодо змін у міжхребцевому диску, залежно від стану прилеглої кісткової тканини, зокрема кісткової тканини апофізів не виявлено, хоча ці структури через замикальні пластинки пов'язані метаболізмом [16].

**Мета дослідження** – в експерименті на тваринах дослідити зміни в структурі міжхребцевого диску в кореляції з прилеглою кістковою тканиною тіл хребців на етапах розвитку остеопорозу, індукованого оваріоектомією.

**Об'єкт і методи дослідження.** Об'єкт дослідження – кісткова тканина апофізів тіл хребців та міжхребцевий диск.

*Експериментальне моделювання остеопорозу.* Експериментальні дослідження було проведено з дотримання вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовую-