



УДК 636.7.09:591.84

## МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОАРТРОЗУ КОЛІННОГО СУГЛОБА У СОБАК

**В. В. КЛИМЧУК\***, асистент кафедри хірургії і патофізіології ім. акад. І.О. Поваженка факультету ветеринарної медицини

**Національний університет біоресурсів і природокористування України**

E-mail: vadvetdoctor@gmail.com

<https://doi.org/10.31548/bio2018.05.021>

У статті висвітлено результати проведених досліджень з моделювання остеоартрозу у собак із використанням хірургічного методу Pond-Nuki. Описано методику проведення оперативного втручання та виготовлення гістопрепаратів. Описано наявність у них виразних мікроскопічних змін тканини та макроскопічних змін у макропрепараті. Відзначено, що за остеоартрозу колінного суглоба собак у суглобовому хрящі стегнової кістки виявляються руйнування поверхневих шарів суглобового хряща, невідповідне розташування хондроцитів, руйнування й лізис частини хондроцитів та зменшення вмісту глікопротеїдів у міжклітинній речовині.

*Ключові слова:* Pond-Nuki, гістологія, суглоб, остеоартроз, хрящова тканина, патологія, собаки

**Актуальність.** Під час проведення дослідницької роботи із суглобами часто потрібно створити експериментальну модель остеоартрозу. Для цього необхідно провести моделювання його на експериментальних тваринах. Мета таких експериментів – створити штучну хворобу з подальшим проведенням на ній експериментальних досліджень із впливу різних терапевтичних методик і засобів на перебіг хвороби.

**Аналіз останніх досліджень та публікацій.** Наука у своєму розпорядженні володіє достатньо великим вибором способів, що дозволяють отримати дегенеративні зміни в суглобовому хрящі і інших структурах суглоба. Дистрофічні і деструктивні порушення в суглобах можуть бути досягнуті різними способами: шляхом введення

в суглоб хімічних речовин; фізичними факторами; механічними і травматичними ушкодженнями, що призводять до порушення стабільності суглоба.

Є моделі, які можуть бути відтворені тільки на колінному суглобі: розсічення передньої хрестоподібної зв'язки (модель Pond-Nuki) [Pond MJ, Nuki G., 1973]; видалення частини меніска, розсічення передньої хрестоподібної зв'язки [Schwartz E.R., 1987]; дислокація надколінка до латерального виростка стегнової кістки з подальшою (21 доба) репозицією [Панков Е. Я. зі співавт., 1988].

**Мета досліджень** – провести моделювання остеоартрозу колінного суглоба у собак із використанням методу Pond-Nuki та описати отримані макро- та мікроскопічні зміни.

\* Науковий керівник – доктор ветеринарних наук, професор В. П. Сухонос



**Матеріал і методи.** Підслідні варини – собаки. Для моделювання остеоартрозу колінного суглоба у собак, після здійснення латерального доступу до колінного суглобу і розсічення його капсули, колінну чашку зміщують медіально. Далі, для кращої візуалізації передньої хрестоподібної зв'язки, кінцівку згинають і після виявлення зв'язки перетинають скальпелем або ножицями. На капсулу суглоба накладають кілька вузлуватих швів із синтетичного матеріалу. Рану ушивають. Під час виконання оперативного втручання застосовувалась тотальна внутрішньовенна загальна анестезія.

Для гістологічних досліджень відбирали шматочки суглобового хряща, який вкриває епіфіз стегнової кістки собак у колінному суглобі. Відібраний матеріал фіксували в рідині Коже. Фіксація тривала 5-7 діб, після чого для видалення із зразків фіксатора їх промивали проточною водою протягом 16-24 год, а потім зразки декальцинували [2]. Для декальцинації застосову-

вали 5 % розчин мурашиної кислоти на дистильованій воді. Декальцинуючий розчин змінювали двічі на день із розрахунку 25 мл на 1 г зразка. Декальцинацію проводили доти, доки в розчин не переставали виділятися іони кальцію, що перевіряли, додаючи до 5 мл декальцинуючого розчину 1 мл 5 % водного розчину оксалату натрію. За наявності в розчині іонів кальцію в осад випадає оксалат кальцію [4].

Після декальцинації зразки для видалення залишків декальцинуючої суміші промивали проточною водою 24 год і заливали в парафін [3]. Зрізи товщиною 7-15 мкм одержували за допомогою санного мікротома із застосуванням одноразових комерційних ножів. Одержані зрізи зафарбовували гематоксиліном Караці та еозином; Толуїдиновим синім [1]. Гістопрепарати вивчали під мікроскопом MCX 100LED виробництва фірми Micros (Австрія) за збільшеннях від 50 x до 1000 x та фотографували за допомогою фотоапарату Canon EOS 550D.

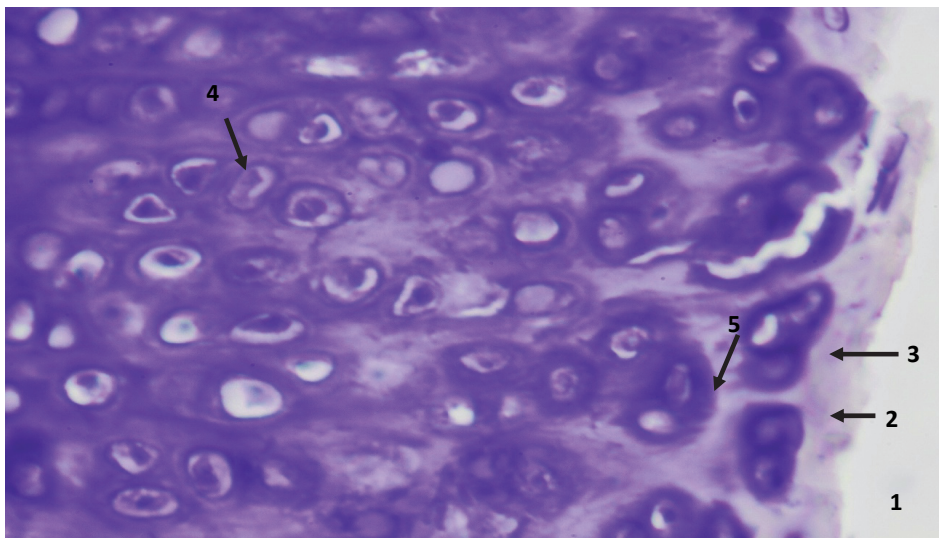
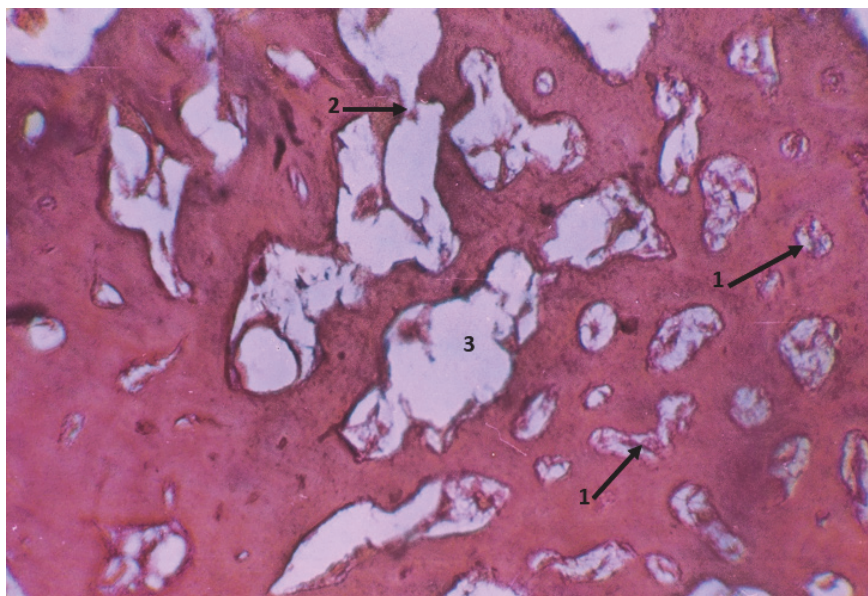


Рис. 1. Ділянка хряща стегнової кістки собаки за остеоартрозу: 1 – суглобова порожнина; 2 – суглобова поверхня хряща; 3 – ізогенна група хондроцитів; 4 – невпорядковано розташовані хондроцити; 5 – навколоклітинний матрикс хряща; 6 – міжклітинна речовина. Гематоксилін Караці та еозин, x 400.

**Результати досліджень та їх обговорення.** З метою контролю ефективності створеної нами моделі були проведені гістологічні дослідження суглобового

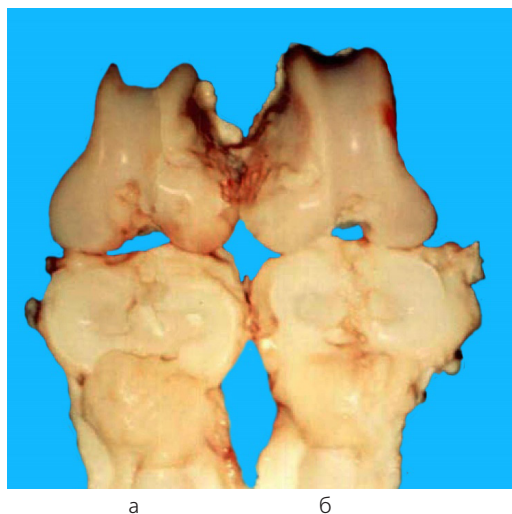
собак була відносно однаковою. Отримані дані підтверджують наш висновок про адекватність виявлених структурних змін остеоартрозу.



**Рис. 2.** Ділянка стегнової кістки собаки за остеоартрозу безпосередньо під хрящем колінного суглоба: 1 – кісткові вічка; 2 – лізис кісткової тканини; 3 – велика порожнина неправильної форми. Гематоксилін Караці та еозин,  $\times 100$ .

хряща і субхондральної кістки у оперованому та неоперованому суглобах. Стан хрящового покриття і субхондральної кістки оцінювали за 16 параметрами. Контролем слугували собаки, яким лікування не проводилося.

Результати порівняльної гістологічної оцінки змін у суглобовому хрящі оперованих і не оперованих колінних суглобах у контрольній групі собак показав, що гістологічні зміни з'являються вже через місяць після операції (зміни суглобового хряща оперованих колінних суглобів склали  $1,6 \pm 0,11$ ,  $p < 0,0001$ , а у суглобовому хрящі неоперованих колінних суглобів  $0,073 \pm 0,005$ ). Ці дані відповідають даним авторів цієї моделі (рис. 1). Ступінь деструктивних змін у суглобах різних



**Рис. 3.** Моделювання остеоартрозу колінного суглоба. Оперований (а) і неоперований (б) суглоби.



**1. Макроскопічні зміни у суглобах (бали)**

Ознаки	Колінні суглоби	
	Оперовані, n = 20	Неоперовані, n = 20
Зміна кольору та блиску	2,2 ± 0,447	0,0 ± 0,0
Поширення фарбування туші	1,5 ± 0,1	0,0 ± 0,0
Інтенсивність фарбування туші	3,1 ± 0,7	0,0 ± 0,0
Остеофіти	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Сумарні зміни	6,8 ± 1,247	0,0 ± 0,0

**2. Гістологічні зміни суглобового хряща (бали) в оперованих і неоперованих колінних суглобах собак контрольної групи**

Ознаки	Колінні суглоби	
	Оперовані, n = 5	Неоперовані, n = 5
Руйнування поверхневої зони хряща	2 ± 0,447	0,0 ± 0,0
Паннус	1,2 ± 0,347	0,0 ± 0,0
Зміна товщини хряща	2,8 ± 0,2	0,2 ± 0,01
Вертикальні тріщини матрикса	1,6 ± 0,245	0,0 ± 0,0
Узурація поверхневого шару та відторгнення фрагментів	2,4 ± 0,245	0,0 ± 0,0
Негомогенність та фібриляція матрикса	2,0 ± 0,316	0,0 ± 0,0
Нерівномірність розподілу хондроцитів	1,6 ± 0,245	0,4 ± 0,03
Формування вогнищевих скупчень хондроцитів	1,0 ± 0,316	0,0 ± 0,0
Зменшення кількості хондроцитів	1,8 ± 0,2	0,2 ± 0,01
Збільшення кількості хондроцитів	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Ознаки активації хондроцитів	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Ознаки деструкції хондроцитів	2,0 ± 0,316	0,3 ± 0,025
некроз хондроцитів	2,0 ± 0,316	0,0 ± 0,0
Кісти	2,0 ± 0,447	0,0 ± 0,0
Порушення меж мінералізованого хряща	1,8 ± 0,374	0,0 ± 0,0
Середні сумарні зміни	1,6 ± 0,110	0,073 ± 0,005

Крім того, додатково на відміну від авторів даної моделі остеоартрозу, нами була проведена оцінка стану субхондральної кістки, в результаті якої виявили значні зміни в оперованих ( $0,373 \pm 0,04$ ) і в неоперованих ( $0,0 \pm 0,0$ ) суглобах (рис. 2).

Під час макроскопічної оцінки суглобових поверхонь нами виявлені виражені відмінності у ступені деструктивних змін суглобового хряща між оперованими

і неоперованими суглобами в контрольній групі (рис. 3, табл. 1).

Таким чином, наші дослідження підтвердили, що використання даної методики створення моделі остеоартрозу дозволяє швидко і стабільно відтворити деструктивні зміни у суглобовому хрящі.

Гістологічну оцінку стану суглобового хряща і субхондральної кістки в оперованих та неоперованих суглобах про-



### 3. Гістологічні зміни в субхондральній кістці (бали) в оперованих і неоперованих колінних суглобах собак контрольної групи

Ознаки	Колінні суглоби	
	Оперовані, n = 5	Неоперовані, n = 5
Товщина субхондральної пластинки	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Збільшення кількості остеоцитів у кістці	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Зменшення кількості остеоцитів у кістці	2,0 ± 0,32	0,0 ± 0,0
Зменшення кількості ліній склеювання у компактній кістці	1,8 ± 0,37	0,0 ± 0,0
Кількість остеофітів	0,8 ± 0,37	0,0 ± 0,0
Узурація крайової кортикальної кістки	1,0 ± 0,32	0,0 ± 0,0
Середні сумарні зміни	0,37 ± 0,04	0,0 ± 0,0

водили за критеріями, поданими в таблицях 2 та 3.

**Висновки і перспективи.** Остеоартроз колінного суглоба у собак характеризується виразними мікроскопічними змінами хрящової тканини, яка вкриває суглобову поверхню стегнової кістки. У суг-

лобовому хрящі стегнової кістки виявляються руйнування поверхневих шарів суглобового хряща, невпорядковане розташування хондроцитів, руйнування й лізис частини хондроцитів, а також зменшення вмісту глікопротеїдів у міжклітинній речовині.

#### Література

1. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфологічних методів дослідження у нормі та при патології / Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський. – Житомир: «Полісся», 2011. – 288 с.
2. Киселева А.Ф. Морфологічні методи дослідження в нормі і при патології / А.Ф. Киселева, А.Я. Житников, Л.В. Кейсевич і др. – К. Здоров'я, 1983. – 168 с.
3. Лилли Р. Патогістологічна техніка і практична гістохімія / Р. Лилли. – М.: Мир, 1969. – 648 с.
4. Меркулов Г.А. Курс патогістологічної техніки / Г.А. Меркулов. – Л.: «Медицина», 1969. – 423 с.
5. Родионова Н.В. Функціональна морфологія кліток в остеогенезі / Н.В. Родионова. – К.: Наук. Думка, 1989. – 192 с.

#### References

1. Horalskyi, L.P., Khomych, V.T., Kononskyi, O.I. (2011). Osnovy histolohichnoi tekhniky i morfofunktsionalni metody doslidzhennia u normi ta pry patolohii [Fundamentals of histological technique and morphofunctional methods of research in norm and at pathology]. Zhytomyr, Ukraine: «Polissia», 288.
2. Kiseleva, A.F., Zhitnikov, A.Ya., Keysevich, L.V. (1983). Morfofunktsionalnye metody issledvaniya v norme i pri patologii [Morphofunctional methods of investigation in norm and in pathology]. Kyiv, Ukraine: Zdorov'ya, 168.
3. Lilli, R. (1969). Patogistologicheskaya tehnika i prakticheskaya gistohimiya [Pathohistological technique and practical histochemistry] Moscow, Russia: Mir, 648
4. Merkulov, G.A., (1969). Kurs patogistologicheskoy tekhniki [Course of pathohistological techniques]. Leningra, Russia: «Medicyna», 423.
5. Rodionova, N.V. (1989). Funktsionalnaya morfologiya kletok v osteogeneze [Functional morphology of cells in osteogenesis]. Kyiv, Ukraine: Naukova dumka, 192.



## SUMMARY

*V. Klimchuk. Knee osteoarthritis modeling in dogs. Biological Resources and Nature Management. 2018. 10, № 5–6. P. 170–175. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.021>*

The article presents the results of conducted researches on osteoarthritis modeling in dogs using the Pond-Nuki surgical method. The method of surgical operation and preparing of histopreparations is described. The presence of expressive microscopic changes in tissue is described; and macroscopic changes in the joint. It is noted that osteoarthritis of the knee joint of dogs in the articular cartilage of the femur reveals the destruction of the surface layers of the articular cartilage, the disordered location of chondrocytes, the destruction and lysis of the part of chondrocytes, as well as the reduction of the content of glycoproteins in the intercellular substance.

**Keywords:** Pond-Nuki, histology, joint, osteoarthritis, cartilage tissue, pathology, dogs

## АННОТАЦІЯ

*В. В. Климчук. Моделирование остеоартроза коленного сустава собак. Биоресурсы и природопользование. 2018. 10, № 5–6. С. 170–175. <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.021>*

В статье отражены результаты проведенных исследований по моделированию остеоартроза у собак с использованием хирургического метода Pond-Nuki. Описана методика проведения оперативного вмешательства и изготовление гистопрепаратов. Описано наличие в них выразительных микроскопических изменений ткани и макроскопических изменений в макропрепаратах. Отмечено, что при остеоартрозе коленного сустава собак в суставном хряще наблюдаются разрушения поверхностных слоев суставного хряща, неупорядоченное расположение хондроцитов, разрушение и лизис части хондроцитов, а также уменьшение содержания гликопротеидов в межклеточном веществе.

**Ключевые слова:** Pond-Nuki, гистология, сустав, остеоартроз, хрящевая ткань, патология, собаки