

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

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-

Оцінка (бали) міжхребцевого диска та прилеглої кістки в умовах моделювання остеопорозу

Кістка, що прилегла до міжхребцевого диска	Бали оцінки	Міжхребцевий диск	Бали оцінки
Норма дрібно петляста губчаста кісткова тканина	1	Норма: слоїсте фіброзне кільце, клітинний синцитій в драглистому ядрі	1
Початкові зміни кісткових трабекул	2	Нерівномірність контурів	2
Порушення фронту остеогенезу	3	Невеликі локальні ділянки розшарування матриксу	3
Розширення міжтрабекулярних просторів до 1/3	4	Розшарування матриксу на 1/3 території	4
Розширення міжтрабекулярних просторів до 2/3	5	Розшарування матриксу на 1/2 території	5
Невеликі тріщини, розшарування матриксу	6	Зменшення висоти міжхребцевого диска	6
Стоншення кісткових трабекул, порушення формування трабекулярної сітки, поодинокі незв'язані кісткові трабекули, тріщини	7	Виражені деструктивні зміни, зменшення висоти	7
Стоншення кісткових трабекул, порушення формування трабекулярної сітки, поодинокі незв'язані кісткові трабекули, мікропереломи кісткових трабекул	8		
<i>Клітини кісткової тканини</i>	Бали оцінки	<i>Клітини міжхребцевих дисків</i>	Бали оцінки
Норма: рівномірна щільність клітин, відсутність деструктивних змін	1	Норма: рівномірна щільність клітин, відсутність деструктивних змін	1
Невеликі ділянки без остеоцитів	2	Невеликі ділянки без клітин	2
Деструкція поодиноких клітин	3	Деструкція поодиноких клітин	3
Низька щільність клітин 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

ються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.) [1,2]. План експериментальних досліджень ухвалено позитивним рішенням Комітету з біоетики (протокол № 155 від 29.06.2016 р.).

Остеопороз моделювали на білих лабораторних щурах шляхом оваріоектомії, яку розглядають як «золотий стандарт» індукування експериментального остеопорозу. Метод детально представлено в монографії [4]. Тварин виводили з експерименту через 1 та 3 міс. після операції.

Гістологічні дослідження. Для гістологічного дослідження у 10 шурів виділяли міжхребцеві диски з прилеглими тілами хребців. Матеріал фіксували в 10% розчині формаліну, проводили по спиртам зростаючої міцності (від 50 до 96°) та заключали в целоїдин [5]. Зрізи виготовляли на мікротомі Reichert, фарбували гематоксиліном та еозином, а також пікрофуксином за ван Гізон. Дослідження гістологічних зрізів проводили у світловому мікроскопі Olympus BX63 (Japan).

Був проведений морфометричний аналіз за показниками, що наведені в таблиці (табл. 1). У тварин на відміну від людини, зона росту розташована в тілі хребця й відділена від міжхребцевого диску шаром кісткової тканини, через яку проходить живлення диску. Тому в даному дослідженні об'єктом був прошарок кістки між зоною росту та міжхребцевим диском.

Вираховували середній бал для порівняння деструктивних змін в системі кістка – міжхребцевий

диск. Чим вище був сумарний бал, тим більш виражені зміни в досліджених структурах.

Метод електронної мікроскопії. Для ультраструктурного дослідження виділяли фрагменти міжхребцевого диску ($\approx 1 \text{ мм}^3$) і обробляли за стандартним методом електронної мікроскопії відповідно до рекомендацій Б. Уїклі [6]: префіксація в 5% фіксаторі Карновського, декальцинація (для мінералізованих тканин) в 3,7% розчині трилону Б, додаткова фіксація в 1% розчині чотириокису осмію (OsO_4), зневоднення в розчинах етилового спирту зростаючої міцності (від 50° до 96°) і в ацетоні, заключення у суміш епоксидних смол епона та аралдіта. Напівтонкі (1-2 мкм) та ультратонкі зрізи (0,05-0,09 мкм) виготовляли за допомогою скляних ножів на ультрамікротомі УМПП-3М. Диференційне фарбування напівтонких зрізів проводили 1% розчином метиленового синього та 1% розчином основного фуксину за S.R. Aparicio. Ультратонкі зрізи контрастували цитратом свинцю та ураніацетатом за методом Е. Рейнольдс. Ультраструктурний аналіз проводили з використанням трансмісійного електронного мікроскопу ЕМВ-100БР (Суми, Україна).

Результати досліджень та їх обговорення. Через 1 міс. після оваріоектомії виражених деструктивних змін в досліджених структурах не виявлено. Кістка мала ознаки реактивної перебудови с нерівномірним нашаруванням на ділянках новоутвореної кісткової тканини, та нерівномірно забарвленим матриксом (рис. 1). Міжтрабекулярні простори були вузькі та виповнені червоним кістковим мозком.

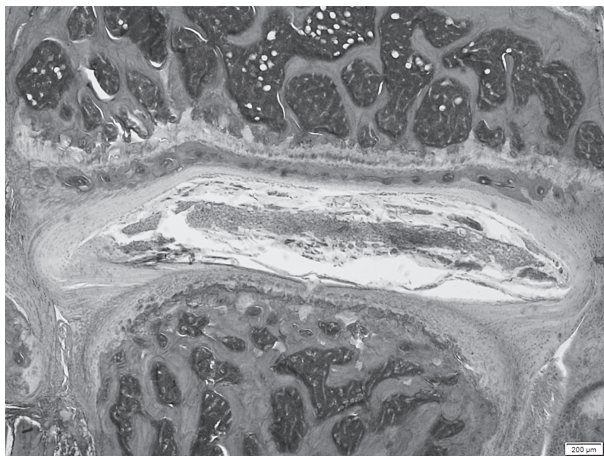


Рис. 1. Фотовідбиток гістологічного препарату. Міжхребцевий диск та кісткова тканина, прилегла до диску. Гематоксилін та еозин. Зб. 100.

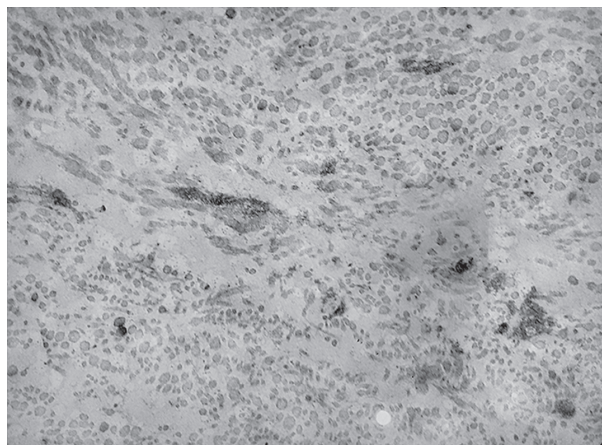


Рис. 3. Фотовідбиток електроннограми. Нерівномірна товщина колагенових волокон. Контрастовано за Рейнольдсом. Зб. 25200.

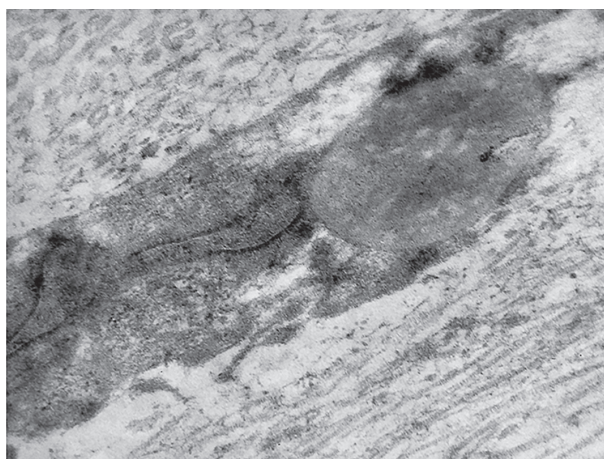


Рис. 2. Фотовідбиток електроннограми. Деструкція фіброхондроцита. Гігантська лізосома. Порушення плазматичної мембрани. Гранулоподібний розпад цитоплазми.
Контрастовано за Рейнольдсом. Зб. 24200.

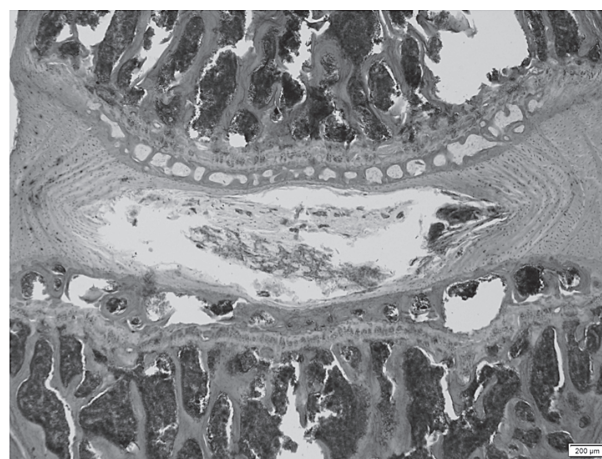


Рис. 4. Фотовідбиток гістологічного препарату. Розширені міжтрабекулярні простори в кістковій тканині на межі «міжхребцевий диск – наросткова зона». Нерівні контури з фрагментами кістки в просвіті. Гематоксилін та еозин. Зб. 40.

В міжхребцевому диску драглисте ядро було незначно розширено з ознаками деструкції в крайових відділах. Клітини в основному формували синцитій, однак були присутні ізольовано розташовані волокнисті структури та поодинокі клітини (рис. 1). Волокнисте кільце в основному зберігало характерні гістологічні риси: було представлено пластинами з пучків колагенових волокон між якими розташовувалися фіброхондроцити.

При детальному електронномікроскопічному аналізі клітин та міжклітинної речовини волокнистого кільця виявлено загиблі клітини з деструкцією плазматичної мембрани, великими лізосомами та продуктами розпаду в цитоплазмі (рис. 2). Навколо таких клітин визначено порушення розташування та будови колагенових волокон. Деякі з них були фрагментовані. У разі аналізу поперекових зрізів виявлено нерівномірну товщину колагенових волокон та присутність проміж ними продуктів розпаду у вигляді хлоп'я-подібних осередків (рис. 3).

3 міс. після оваріоектомії. Виявлено значне порушення кісткової тканини, що прилягає до між-

хребцевого диска. Характерною особливістю було формування розширених міжтрабекулярних просторів, на ділянках схожих з кистоподібними порожнинами (рис. 4).

Деякі з них мали нерівні контури з фрагментами кістки в просвіті. Території, що займає драглисте ядро, були розширені, щільність клітин зменшена, виявлено вогнища детриту, що скупчені в крайових відділах.

Виразені зміни виявлено й у волокнистому кільці. На ділянках пластини колагенових волокон були розшаровані (рис. 5), виявлено різної форми та напрямку тріщини, нерівномірне забарвлення. Деякі клітини були зменшені в розмірі, мали щільні округли ядра, що не характерно для клітин фіброзного кільця.

Поряд зі зміною форми та структури ядер фіброхондроцитів виявлено у деяких клітин наявність в цитоплазмі набряклих мітохондрій зі зруйнованими кристами (рис. 6), що свідчить про порушення енергетичного обміну клітин.

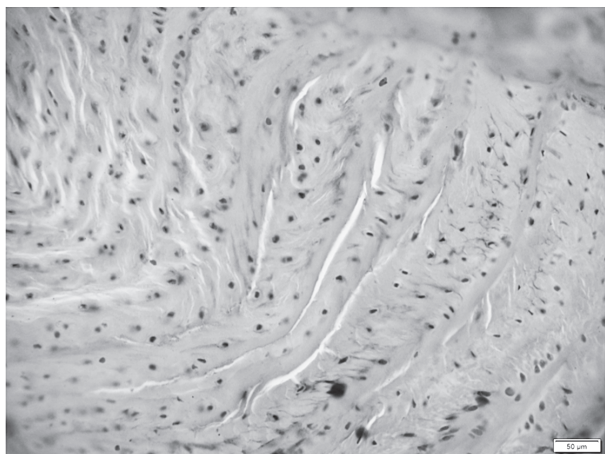


Рис. 5. Фотовідбиток гістологічного препарату. Волокнисте кільце. Колагенові волокна розшаровані. Різної форми та напрямку тріщини, нерівномірне забарвлення. Клітини зі щільними невеликими ядрами. Гематоксилін та еозин. Зб. 200.

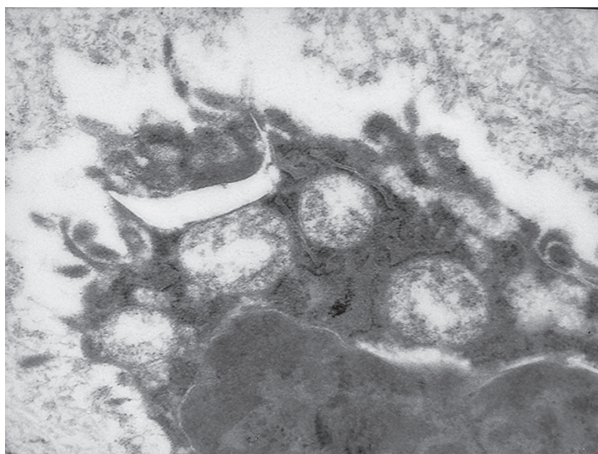
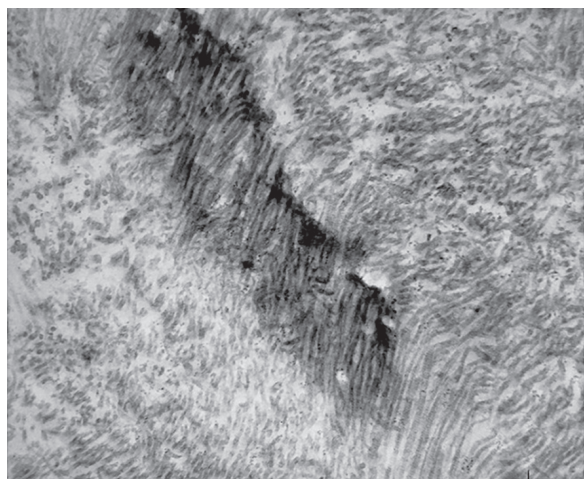
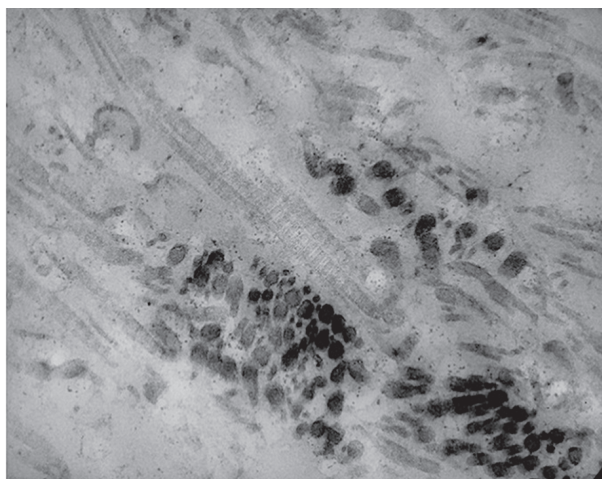


Рис. 6. Фотовідбиток електронограми. Порушення організації фіброхондроцита. Щільне ядро з нерівномерними контурами ядерної мембрани. Набряклі мітохондрії з порушення організації крист. Контрастовано за Рейнольдсом. Зб. 32400.



А



Б

Рис. 7. А, Б. Фотовідбиток електронограми. Порушення організації міжклітинної речовини волокнистого кільця. А) Ділянки кальцифікації колагенових волокон. Б) Фрагментація, утрата смугастості. Контрастовано за Рейнольдсом. А) 25200. Б) Зб. 39600.

Виражені зміни зафіксовано й в міжклітинній речовині волокнистого кільця (рис. 7 А, Б).

Проведено морфометричний аналіз стану міжхребцевого диску та кісткової тканини, що прилягає до нього (табл. 2). Виявлено, що в волокнистому хрящу деструктивні зміни в матриксі та клітинах були практично ідентичні за показниками оцінки в балах. В матриксі кісткових трабекул зміни були більш виражені, ніж в клітинах (табл. 2). Порівняння двох систем – кісткової тканини та волокнистого хряща – деструктивні зміни в 1,4 рази більш виражені в кістковій тканині ($P < 0,01$).

Таким чином, нами проаналізовано зміни у міжхребцевому диску з прилеглою до нього кістковою тканиною тіл хребців у щурів з остеопорозом, модельованим шляхом оваріоектомії. В проведеному нами дослідженні представлено дані щодо впливу на різні терміни змін будови прилеглої кістки на структурну організацію фіброзного кільця та драглистого ядра. В фіброзному кільці виявлено розшарування

матриксу та появу в ньому тріщин й деструктивних змін в клітинах. Деструктивні зміни були більш виражені в крайових відділах драглистого ядра, відмічено порушення формування синцитію. В кістковій тканині характерною особливістю було формування розширених міжтрабекулярних просторів, на ділянках схожих с кістоподібними порожнинами. В зв'язку з тим, що остеопороз моделювали шляхом оваріоектомії, що імітує післяменопаузальний остеопороз, досліджені зміни в міжхребцевому диску можуть бути також викликані як станом кістки, так й дефіцитом естрогенів [7,8,20]. Відомо, що клітини волокнистого хряща мають рецептори до естрогенів, котрі впливають на метаболізм хрящових тканин. Функція естрогену опосередкована двома класичними ядерними рецепторами естрогену - α та - β та мембранно-пов'язаним G-білком-зв'язаним рецептором 30 (GPR30) [21]. За дією рецепторів естрогени викликають проліферацію клітин драглистого ядра та за-

Таблиця 2.
Морфологічні показники міжхребцевого диску та стану кісткової тканини, що прилягає до нього (3 міс. після оваріоектомії)

Показники, що досліджені	Бали
Матрикс волокнистого кільця	3,07+0,25
Клітини волокнистого кільця	2,8+0,2
Сумарний показник	2,93+0,14
Трабекули кісткової тканини, що прилягають до міжхребцевого диску	4,67+0,23
Остеоцити	3,67+0,21*
Сумарний показник	4,17+0,18**

Примітка:

* вірогідність відмінностей деструктивних змін в матриці трабекул кісткової тканини, що прилегла до міжхребцевого диску, від показників остеоцитів, $P < 0,01$;

** вірогідність відмінностей стану кісткової тканини від показників волокнистого хряща.

хищають клітини від індукованого IL-1 β апоптозу, а їх втрата сприяє порушенню будови диска [8,21].

Дані, що отримано в результаті дослідження, свідчать, що будова міжхребцевого диска та при-

леглої до нього кісткової тканини негативно змінюється на ранніх термінах моделювання остеопорозу у тварин після оваріоектомії з більшими проявами в кістковій тканині.

Висновки

1. В умовах моделювання у щурів остеопорозу шляхом оваріоектомії виявлено, що на ранні терміни дослідження в міжхребцевому диску та прилеглій кістковій тканині тіл хребців розвиваються деструктивні зміни найбільш виражені в кістковій тканині.

2. Виявлено, що в міжхребцевому диску деструктивні зміни в матриці та клітинах були практично ідентичні за показниками оцінки в балах (3,07+0,25) та (2,8+0,2). В матриці кісткових трабекул деструктивні зміни були більш виражені порівняно з клітинами, (4,67+0,23) та (3,67+0,21) балів. Порівняно двох систем – кісткової тканини та міжхребцевого диску деструктивні зміни в 1,4 рази були більш виражені в кістковій тканині ($P < 0,01$).

Перспективи подальших досліджень – визначення механізмів взаємодії остеобластів кісткової тканини та фіброхондроцитів міжхребцевого диску.

Література

1. Europeyska konvetsiya pro zahist hrebetnih tvarin, scho vikoristovuyutsya dlya doslidnih ta inshih naukovih tsiley. Strasburg, 18 bereznya 1986 roku: oftsiyniy pereklad [Internet]. Verhovna Rada Ukraini. Ofits. veb-sayt. (Mizhnarodniy dokument Radi Evropi). Dostupno: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137 [in Ukrainian].
2. Zakon Ukraini № 3447-IV vid 21.02.2006 «Pro zahist tvarin vid zhorstokogo povodzhennya» (Stattya 26) [Internet]. Dostupno: <http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/3447-15> [in Ukrainian].
3. Korzh NA, Yakovenchuk NN, Dedukh NV. Osteoporoz i osteoartroz: patogeneticheskiy vzaimosvyazannyye zabolevaniya? (obzor literatury). Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye. 2013 Dec;4(593):102-10. [in Russian].
4. Povoroznyuk VV, Dedukh NV, Grigoreva NV, Gopkalova IV. Eksperimentalnyy osteoporoz. Kiev; 2012. 228 s. [in Russian].
5. Sarkisov DS, Perov YL. Mikroskopicheskaya tehnika. Moskva: Meditsina; 1996. 542 s. [in Russian].
6. Uikli B. Elektronnaya mikroskopiya dlya nachinayuschi. Moskva: Mir; 1975. 336 s. [in Russian].
7. Bin S, Youchao Y, Xiangyang L, Yi Z, Hongzhe L, Xiongjie S. Protective effect of estrogen against intervertebral disc degeneration is attenuated by miR-221 through targeting estrogen receptor. View ORCID Profile. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/biorxiv/early/2017/09/05/184523.full.pdf> DOI: <https://doi.org/10.1101/184523>
8. Calleja-Agius J, Muscat-Baron Y, Brincat MP. Estrogens and the intervertebral disc. Menopause Int. 2009;15(3):127-30. DOI: 10.1258/mi.2009.009016
9. Findlay DM, Atkins GJ. Osteoblast-Chondrocyte Interactions in Osteoarthritis Curr. Osteoporos Rep. 2014 Mar;12(1):127-34. DOI: 10.1007/s11914-014-0192-5
10. Keller TS, Ziv I, Moeljanto E. Interdependence of lumbar disc and subdiscal bone properties: a report of the normal and degenerated spine. J Spinal Disord. 1993 May;6(2):106-13. DOI: 10.1097/00024720-199304000-00003
11. Livshits G, Ermakov S, Popham M, MacGregor AJ, Sambrook PN, Timothy DS, et al. Evidence that bone mineral density plays a role in degenerative disc disease: the UK Twin Spine Study. Available from: <http://ard.bmj.com/on> [Internet]. 2017 Dec 15; Published by group.bmj.com. <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2010.131441>
12. Mattei TA. Osteoporosis delays intervertebral disc degeneration by increasing intradiscal diffusive transport of nutrients through both mechanical and vascular pathophysiological pathways. Med Hypotheses. 2013 May;80(5):582-6. DOI: 10.1016/j.mehy.2013.01.030
13. Nanjo Y, Morio Y, Nagashima H, Hagino H, Teshima R. Correlation between bone mineral density and intervertebral disk degeneration in pre-and postmenopausal women. J. Bone Miner. Metab. 2003;21(1):22-7. DOI: 10.1007/s007740300004
14. Sharma AR, Jagga S, Lee SS, Nam JS. Interplay between Cartilage and Subchondral Bone Contributing to Pathogenesis of Osteoarthritis. Int J Mol Sci. 2013 Sep 30;14(10):19805-30. DOI: 10.3390/ijms141019805
15. Simpson EK, Parkinson IH, Manthey B, Fazzalari NL. Intervertebral Disc Disorganization Is Related to Trabecular Bone Architecture in the Lumbar Spine. J Bone Miner Res. 2001;16:681-87. DOI: 10.1359/jbmr.2001.16.4.681
16. Van der Werf M, Lezuo P, Maissen O, van Donkelaar CC, Ito K. Inhibition of vertebral endplate perfusion results in decreased intervertebral disc intranuclear diffusive transport. J. Anat. 2007 Dec;211(6):769-774. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2007.00816.x
17. Wang JYX, Kwok AWL, Griffith JF, Leung JCS, Ma HT, Ahuja AT, et al. Relationship Between Hip Bone Mineral Density and Lumbar Disc Degeneration: A Study in Elderly Subjects Using an Eight-Level MRI-Based Disc Degeneration Grading System. J Magn Reson Imaging. 2011;33(4):916-20. DOI:10.1002/jmri.22518
18. Wang T, Zhang L, Huang C, Cheng AG, Dang GT. Relationship between osteopenia and lumbar intervertebral disc degeneration in ovariectomized rats. Calcif Tissue Int. 2004;75:205-13. DOI: 10.1007/s00223-004-0240-8
19. Wang YX, Griffith JF, Ma HT, Leung JC, Ma HT, Ahuja AT, et al. Is decreased BMD associated with less severe lumbar disc degeneration? Bone. 2008;43(Suppl 1):35.

20. Wang YX, Griffith JF. Effect of menopause on lumbar disc degeneration: potential etiology. *Radiology*. 2010 Nov;257(2):318-20. DOI: 10.1148/radiol.10100775
21. Wei A, Shen B, Williams LA, Bhargav D, Yan F, Chong BH, et al. Expression and functional roles of estrogen receptor GPR30 in human intervertebral disc. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2016 Apr;158:46-55. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2016.01.012

МОРФОЛОГІЯ МІЖХРЕБЦЕВОГО ДИСКА ТА КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ АПОФІЗІВ ТІЛ ХРЕБЦІВ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОПОРОЗУ

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

Резюме. У статті представлено результати дослідження, що проведені на 10 щурах, на терміни 1 і 3 міс. після моделювання остеопорозу шляхом овариоектомії. З використанням гістологічних методів і морфометрії вивчали стан кісткової тканини апофізів тіл хребців і структури міжхребцевого диска – фіброзне кільце і драглисте ядро. Виявлено, що на ранні терміни дослідження в міжхребцевих дисках і прилеглої кісткової тканини тіл хребців розвиваються деструктивні зміни. У міжхребцевих дисках деструктивні зміни в матриксі і клітинах були практично ідентичні за показниками оцінки в балах (3,07 + 0,25) і (2,8 + 0,2). У матриксі кісткових трабекул деструктивні зміни були більш виражені в порівнянні з клітинами (4,67 + 0,23) і (3,67 + 0,21) балів ($P < 0,01$). У разі порівняння двох систем – кісткової тканини і міжхребцевого диска – деструктивні зміни в 1,4 рази були більш виражені в кістковій тканині.

Ключові слова: експеримент, щури, овариоектомія, міжхребцевий диск, кісткова тканина.

МОРФОЛОГІЯ МЕЖПОЗВОНКОВОГО ДИСКА И КОСТНОЙ ТКАНИ АПОФИЗОВ ТЕЛ ПОЗВОНКОВ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТЕОПОРОЗА

Костерин С. Б., Дедух Н. В., Мальцева В. Е.

Резюме. В статье представлены результаты исследования, проведенные на 10 крысах, на сроки 1 и 3 мес. после моделирования остеопороза путем овариоэктомии. С использованием гистологических методов и морфометрии изучали состояние костной ткани апофизов тел позвонков и структуры межпозвонкового диска – фиброзное кольцо и студенистое ядро. Виявлено, что на ранние сроки исследования в межпозвонковых дисках и прилегающей костной ткани тел позвонков развиваются деструктивные изменения. В межпозвонковых дисках деструктивные изменения в матриксе и клетках были практически идентичны по показателям оценки в баллах (3,07 + 0,25) и (2,8 + 0,2). В матриксе костных трабекул деструктивные изменения были более выражены по сравнению с клетками (4,67 + 0,23) и (3,67 + 0,21) баллов ($P < 0,01$). При сравнении двух систем: деструктивные изменения костной ткани в 1,4 раза превышали нарушения в межпозвонковых дисках.

Ключевые слова: эксперимент, крысы, овариоэктомия, межпозвонковый диск, костная ткань.

MORPHOLOGY OF THE INTERVERTEBRAL DISK AND BONE TISSUE OF APOPHIZES OF VERTEBRAL BODY AT MODELING OSTEOPOROSIS

Kosterin S. B., Dedukh N. V., Maltseva V. E.

Abstract. Osteochondrosis of the spine is one of the common chronic diseases in humans. However, histological studies regarding changes in the intervertebral disc, depending on the state of adjacent bone tissue, in particular bone tissue of apophysis is not found, however these structures are associated with metabolism.

The purpose of the study is to investigate the changes in the structure of the intervertebral disc in the correlation with the adjacent bone tissue of vertebrate bodies in the stages of the development of osteoporosis induced by ovariectomy in an animal experiment.

Object and methods. Osteoporosis was simulated on white laboratory rats by ovariectomy. Animals were killed after 1 and 3 months after surgery. For histological examination, 10 rats had their intervertebral discs isolated with adjacent vertebral bodies. A morphometric analysis was performed on the indicators of the state of the matrix and bone marrow cells and between the vertebral disk. In animals, unlike humans, the growth zone is located in the body of the vertebrae and separated from the intervertebral disk by a layer of bone tissue through which the nutrition of the disk passes. Therefore, in this study, the object was the bone layer between the growth zone and the intervertebral disc.

Results of research. In 1 month after ovariectomy the expressed destructive changes in the investigated structures were not revealed. The bone had signs of reactive reorganization with uneven layers on areas of newly formed bone tissue and unevenly stained matrix. The intertrabecular spaces were narrow and filled with red bone marrow. In the intervertebral disk the nucleus pulposus was slightly expanded with signs of destruction in the regional divisions. The cells formed syncytia, but isolated fibrous structures and single cells were present. The annulus fibrosis mainly retained the characteristic histological features: it was represented by plates from the beams of collagen fibers between which were located fibrochondrocytes.

By electron microscopic analysis of cells and cellular matrix of the annulus fibrosis, we have found dead cells with destruction of the plasma membrane, large lysosomes and decay products in the cytoplasm. Around these cells, violations of the location and structure of collagen fibers are detected.

In 3 months after ovariectomy, significant bone tissue impairment adjacent to the intervertebral disc was detected. A characteristic feature was the formation of extended intertrabecular spaces similar to cyst-shaped cavities. Some of them had uneven contours with fragments of the bone in the lumen. The territory occupied by the nucleus

has been expanded, cell density has been reduced, detritus foci have been discovered, which are accumulated in the regional areas.

The pronounced changes are also found in the annulus fibrosis. On the sections of the plate collagen fibers were stratified. Different shape of the crack, as well as uneven coloration were found. Some cells were diminished in size, had dense rounded nuclei that was not characteristic of cells of annulus fibrosis. Along with the change in the shape and structure of the nuclei of fibrochondrocytes, in some cells, the presence of edematous mitochondria with destroyed cristas was revealed, indicating a violation of energy cell metabolism. The pronounced changes are also observed in the intercellular substance of the annulus fibroses. On the basis of the morphometric analysis of the state of the intervertebral disk and the bone tissue adjacent to it, it was found that destructive changes are more pronounced in the bone tissue.

Conclusion. The study found that the structure of the intervertebral disc and adjacent bone tissue negatively changes in early stages of osteoporosis in animals after ovariectomy with a greater manifestation in bone tissue.

Key words: experiment, rat, ovariectomy, intervertebral disk, bone tissue.

Рецензент – проф. Білаш С. М.

Стаття надійшла 24.12.2017 року

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-1-142-291-297

УДК 611.127:576.311.347]-018.63:615.212.7

Покотило В. Ю., Логаш М. В.

МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ ЗМІН МІТОХОНДРІАЛЬНОГО АПАРАТА МІОКАРДА СЕРЦЯ БІЛОГО ЩУРА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВПЛИВУ НАЛБУФІНУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

sudmedvira@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і є частиною планової науково-дослідної роботи кафедри нормальної анатомії «Структурна організація ангіоархітекτονіки та антропометричні особливості органів у внутрішньо- та позаутробному періодах розвитку за умов екзо- та ендопатогенних факторів» (№ державної реєстрації 0115U000041).

Вступ. Згідно даних Міністерства охорони здоров'я України за рівнем поширеності зловживання наркотичними речовинами в Україні на 100 тис. населення припадає 141 наркозалежна особа [7]. Серед наркотичних речовин, що найчастіше споживають наркозалежні особи використовуються опійні алкалоїди та їх синтетичні аналоги [2]. Отож, значне поширення наркоманії зумовлює необхідність детального вивчення впливу опіоїдів на внутрішні органи людини. Згідно даних фахової літератури токсичний вплив наркоречовинами призводить до порушення провідності та скоротливої функції міокарду. Внаслідок наркотичної інтоксикації у серцево-судинній системі було виявлено ряд змін, а саме: наявність численних дрібновогнищевих ділянок кардіосклерозу, рабдоміолізу, жирової трансформації міоцитів, фіброз серцевого м'яза, який, в свою чергу, причетний до розвитку фібриляції. Окрім цього, виявлено фрагментацію пошкоджених кардіоміоцитів, парез мікроциркуляції, вогнища гострих крововиливів [1,4].

Також відмічається вплив опіоїдів на ультраструктурні компоненти кардіоміоцитів, зокрема на мітохондрії [5]. Пошкодження мітохондріального апарату на думку деяких вчених є одним із пускових механізмів розвитку серцево-судинної патології [8,9,10]. Так, безпосередньою причиною смерті при гострих інтоксикаціях наркотичними речовинами є ураження скоротливого апарату міокарду через появу різкої деструкції зовнішніх і внутрішніх мембран мітохондрій, внаслідок чого розвивається загибель мітохондрій [3]. Тому метою дослідження є проведення морфометричного аналізу кількісно-якісних змін мітохондріального апарату міокарда серця щура шляхом визначення співвідношення площі перерізу мітохондрій до площі цитоплазми під впливом налбуфіну в експерименті.

Мета дослідження. Провести морфометричний аналіз кількісно-якісних змін мітохондріального апарату міокарда щура під впливом налбуфіну в експерименті. За допомогою комплексу морфологічних та статистичних методів дослідження отримати нові дані про стан мітохондріального апарату міокарда серця щура та зміни відношення його площі перерізу до площі цитоплазми під дією опіоїду. Оцінити можливість застосовувати даний морфометричний аналіз для оцінки ступеню ушкодження мітохондріального апарату при патології. Дослідити зв'язок між глибиною структурних змін при ушкодженні міокарда і морфометричними показниками.

Об'єкт і методи дослідження. Матеріалом дослідження слугували серця 53 лабораторних статевозрілих щурів-самців масою 100-160 г. Всі тварини