

DOI 10.31718/2077-1096.19.4.95

УДК 616.728.3-018.3:616.71-003.93:018.46

Ткачук П.В., Страфун С.С.

## МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА СТРУКТУРНИХ ЗМІН КОЛІННОГО СУГЛОБУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОСТЕОАРТРОЗІ ТА ЗАСТОСУВАННІ АУТОЛОГІЧНОГО АСПІРАТУ КІСТКОВОГО МОЗКУ

ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України", м. Київ

*Актуальність. Лікування остеоартрозу колінного суглобу є актуальною медико-соціальною проблемою. З огляду на недостатню ефективність консервативного лікування, пропонується застосування клітинних технологій у лікуванні прогресуючих дистрофічних змін колінного суглобу. Метою роботи було дослідження впливу аспірату кісткового мозку на розвиток структурних змін колінного суглобу при експериментальному остеоартрозі. Матеріали та методи дослідження. У експериментах кроликам моделювали остеоартроз, через 1 місяць вводили аутологічний аспірат кісткового мозку у порожнину колінного суглобу, а через 2,5 місяці після операції досліджували структурні зміни капсули, менісків, проксимального епіфіза великогомілкової кістки. Результати. Встановлено структурні зміни у капсулі суглобу: розшарування структурних елементів, зменшення щільності клітин капсули, некроз клітин внутрішньої поверхні капсули. Зона дефекту епіфізарного хряща була позбавлена хряща, а товщина перифокального хряща була зменшеною на 30,4% ( $p < 0,05$ ), щільність субхондральної кісткової тканини становила 55,9% від контролю. У групі з аспіратом кісткового мозку була збільшена щільність фібробластів у капсулі суглобу і частково збережена поверхня менісків, щільність субхондральної кісткової тканини була вірогідно більшою – 79,5% ( $p < 0,05$ ) від контролю. Структурні зміни при остеоартрозі є прогресуючими і призводять до дистрофічних змін суглобової поверхні, субхондральної кістки, меніска та капсули суглоба. Дані, отримані в результаті експериментальних досліджень, дозволяють стверджувати, що введення у колінний суглоб аутологічного аспірату кісткового мозку може пригнічувати пошкодження субхондральної кістки, менісків та капсули суглобу і супроводжуватись утворенням ретикулярної тканини і індукцією ангиогенезу. Надалі перспективними є дослідження морфологічних змін червоного кісткового мозку за умов прогресуючого остеоартрозу та його відновлення при місцевому застосуванні концентрату аспірату кісткового мозку.*

Ключові слова: остеоартроз, аспірат кісткового мозку, морфологія, морфометрія.

Дана робота є фрагментом НДР «Розробка системи хірургічного лікування та реабілітації хворих з ушкодженням ліктьового суглобу та їх наслідками» (№ державної реєстрації – 0119U001024).

### Вступ

Остеоартроз є важливою медико-соціальною проблемою населення. Патофізіологічні процеси, які виникають в суглобі, призводять до дегенерації хряща і часто призводять до інвалідності осіб працездатного віку і іноді вимагають хірургічного лікування. Ефективність лікування остеоартрозу та синовіїтів колінного суглобу залежить від впливу системних і місцевих факторів, зокрема стадії артрозу та вираженості запалення [1]. Аналіз підходів консервативного лікування не показав ефективності щодо пригнічення прогресуючих дегенеративних змін у суглобі. Динаміка товщини хрящової суглобової поверхні прогресивно знижувався при застосуванні нестероїдних протизапальних засобів, пероральних хондропротекторів, фізіотерапії, рентгенотерапії, а через 3 роки могла навіть погіршуватися, що є свідченням подальшого прогресування дегенеративного процесу і неефективності таких підходів лікування [2]. Не виправдалися надії і щодо малоінвазивних хірургічних втручань на колінному суглобі. Артроскопічні операції на менісках (часткова або повна менісектомія) і хрящі (дебрідмент) не зменшують частоту і терміни наступної артропластики [3].

Потенційно перспективним методом лікування остеоартрозу є клітинна терапія. Одним з ос-

новних принципів безпеки та ефективності такого лікування є визначення джерела для отримання клітинних технологій, тому найбільш поширеним і доступним є аутологічний кістковий мозок [4]. Підготовка та застосування концентрату аспірату кісткового мозку є однією з небагатьох форм доставки мезенхімальних стовбурових клітин для лікування остеоартрозу колінного суглобу [5].

### Метою роботи

Дослідження впливу концентрату аспірату кісткового мозку на розвиток структурних змін колінного суглобу при експериментальному остеоартрозі.

### Матеріали та методи

Експерименти проведено на кролях лінії Шиншила вагою 3-4 кг. Остеоартроз моделювали 10 тваринам шляхом механічного пошкодження суглобової поверхні великогомілкової кістки. Тварин у стані наркотичного сну (тіопентал натрію, 60 мг/кг, в/о) фіксували у положенні на спині, на рівні колінного суглобу голили шкіру і зрошували бетадином («Egis», Угорщина). Через медіальну поверхню здійснювали доступ до колінного суглобу і пересікали великогомілкову зв'язку. Шляхом циркулярних обертів модифікованою спицею Ілізарова пошкоджували центра-

льну ділянку суглобової поверхні великогомілкової кістки. Епіфізарну поверхню стегнової кістки залишали інтактною. Суглобову сумку зашивали шовним матеріалом 3/0. По поверхні суглобової сумки здійснювали термічну коагуляцію з метою створення регіонального ішемічного пошкодження. Шкіру на рівні доступу також зашивали матеріалом 3/0 і зрощували бетадином.

Через 1 місяць після операції у 5 тварин провели забір аутологічного кісткового мозку (група 1 – остеартроз; група 2 – остеартроз+аспірат кісткового мозку). Кістковим троакаром діаметром 10G та шприцом 5мл з проксимального відділу стегна виконували аспірацію кісткового мозку в об'ємі 2 мл. Аспірат кісткового мозку з цитратом декстрази (1:8) АЦД-А (Бакстер С.А., США/Бельгія) центрифугували 16 хвилин при 740g та здійснювали забір 1,0 мл надеритроцитарної фракції. Клітинний концентрат вводили у синовіальну порожнину колінного суглобу.

Через 2,5 місяці після моделювання артрозу тварин виводили з експерименту шляхом швидкої декапітації. Колінний суглоб було виділено для гістологічного дослідження. Матеріал фіксували у 10%-ому розчині нейтрального формаліну. Після фіксації виділяли епіфіз великогомілкової кістки. Після декальцинації у розчині OsteoFast 2 (BioGnost Ltd., Хорватія) зразки великогомілкової кістки, меніск і капсула суглобу були залиті у парафін (Leica Surgipath Paraplast Regular). Парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном з еозином, толуїдиновим синім та досліджували на мікроскопі Olympus BX 51. Морфометричні дослідження проводили за допомогою програмного забезпечення Carl Zeiss (AxioVision SE64 Rel.4.9.1). Статистичну оцінку проводили за непараметричним критерієм Крускала-Уоліса. Вибірки даних аналізували з використанням програмного забезпечення Origin Lab version 8.0. Результати вимірювань наведено у вигляді Медіани з меншим та більшим квартилем (M[Q1-Q3]). Різницю вважали статистично вірогідною при  $P < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Під час забору матеріалу для гістологічного дослідження макроскопічно дослідили стан колінного суглобу. У всіх тварин виявлено структурні порушення на рівні капсули (збільшення товщини капсули, зміна кольору), меніски (деформація і дистрофічні зміни, у більшій мірі внутрішньої поверхні), дефект суглобової поверхні великогомілкової кістки. У 1 зразку групи 1 в групі 2 встановлено повну деструкцію епіфізарної поверхні і запальний інфільтрат. Такі зразки досліджено тільки морфологічно, без проведення морфометрії.

На гістологічному рівні у капсулі колінного суглобу тварин групи 1 виявлено дистрофічні змі-

ни сполучної тканини (розшарування структурних елементів, зменшення щільності клітин капсули), некроз клітин внутрішньої поверхні (Рис. 1а). У групі 2 структурні зміни були виражені у меншій мірі, виявлено ділянки проліферації, а з внутрішньої поверхні осередки утвореної ретикулярної тканини з ознаками ангиогенезу (поява сітки новоутворених капілярів) (Рис. 1б). Ретикулярна тканини заповнювала простір між капсулою та меніском суглобу або фокально контактувала з останнім (Рис. 1в,г). Збільшення щільності фібробластів у капсулі і часткове збереження поверхні менісків суглобу свідчить про пригнічення розвитку дистрофічних змін у цих утвореннях після введення аспірату кісткового мозку.

При остеартрозі у групі 1 і 2 встановлено дистрофічні зміни епіфізарної поверхні великогомілкової кістки (у зразках з запальним інфільтратом також у стегнової кістки) та субхондральної кісткової тканини. Зона дефекту була позбавлена хряща, а товщина перифокального хряща була зменшеною. Зміни полягали у деструкції поверхневої зони хряща, дистрофії та редукції щільності хондроцитів у поверхневих та глибоких шарах хряща, зміні контуру між епіфізарним хрящем та кістковими пластинками (Рис. 2а-г). Це позначило на зміни товщини епіфізарного хряща: у групі 1 показник зменшився на 30,4% ( $p < 0,05$ ); у групі 2 на 35,1% ( $p < 0,05$ ). Статистично значущої різниці між групами 1 і 2 не виявлено, хоча відносна щільність субхондральної кісткової тканини була вірогідно більшою (табл. 1). Так, у групі 1 збереженою залишилась 55,9% субепіфізарної кістки, а у групі 2 – 79,5% ( $p < 0,05$ ).

Таблиця  
Морфометрія проксимального епіфіза великогомілкової кістки

Група	Товщини суглобового хряща, мкм	Щільність кісткової тканини, %
Контроль	1487,9[1305,5-1666,9]	66,1[53,3-69,4]
Група 1	1034,8[412,8-1565,4]*	37,0[34,5-45,5]*
Група 2	965,6[779,4-1178,6]*	52,6[39,8-58,4]*#

Примітка: \* - достовірно до контролю ( $p < 0,05$ );

# - достовірно до групи 1 ( $p < 0,05$ )

Таким чином, при аналізі структури хрящової і кісткової тканини великогомілкової кістки колінного суглобу через 2,5 місяці після моделювання остеартрозу було встановлено, що експериментальна модель характеризується прогресуючими дегенеративно-дистрофічними змінами суглобових поверхонь кісток, розвитком місцевого запалення та дистрофічними змінами меніска та капсули суглобу. У групі з аспіратом кісткового мозку були виявлені подібні структурні зміни у хрящі і кістковій тканині суглобу, але запобігало пошкодженню субепіфізарної кістки, меніска і капсули суглобу.

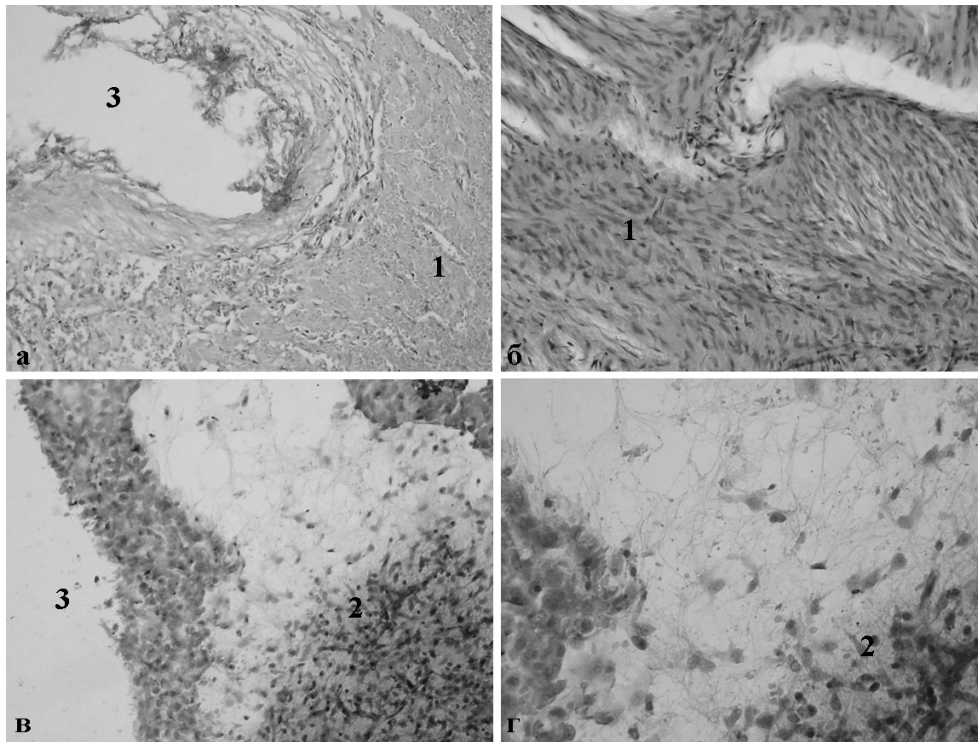


Рис. 1. Структурні зміни капсули колінного суглобу через 2,5 місяці після моделювання остеоартрозу: а – дистрофічні зміни внутрішньої поверхні капсули при остеоартрозі; б – структурно збережена капсула після внесення аспірату кісткового мозку; в-г – ділянка утворення ретикулярної тканини навколо меніску після внесення аспірату кісткового мозку; 1 – капсула; 2 – ретикулярна тканина; 3 – порожнина суглобу. Гематоксилін-еозин, а-в:  $\times 200$ , г:  $\times 400$ .

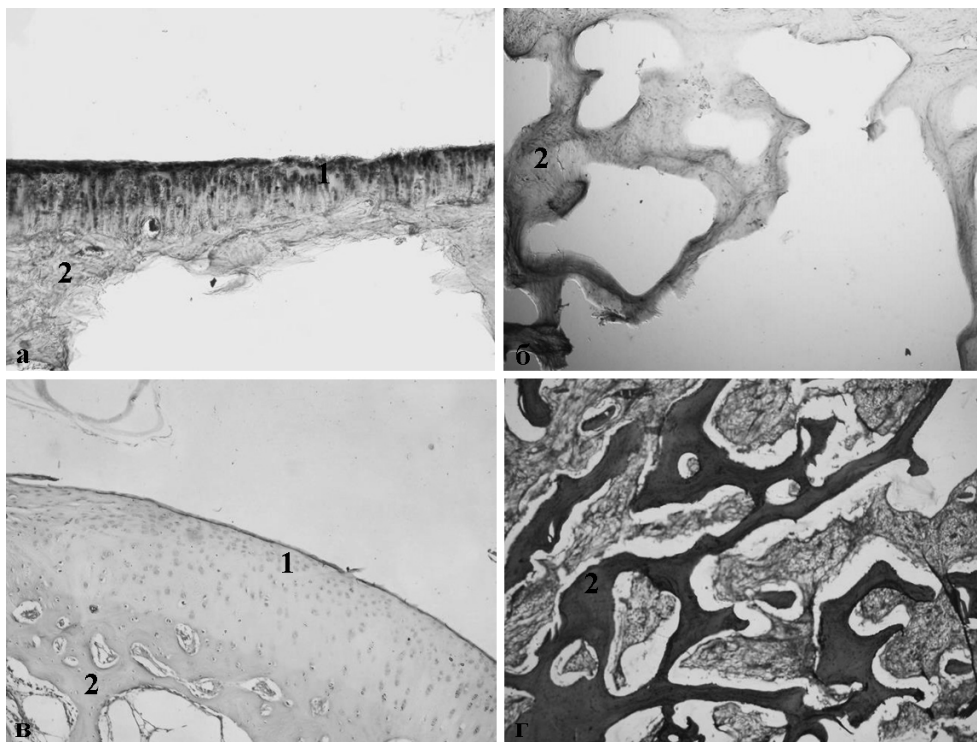


Рис. 2. Структурні зміни проксимального епіфіза великогомілкової кістки через 2,5 місяці після моделювання остеоартрозу: а,б – дистрофічні зміни перифокальної суглобової поверхні і зменшення щільності кісткової тканини при остеоартрозі; в,г – зменшення дистрофічних змін епіфізарної поверхні і субхондральної кісткової тканини після внесення аспірату кісткового мозку; 1 – епіфізарний хрящ; 2 – кісткова тканина. Толуїдиновий синій (а-б), гематоксилін-еозин (в-г), а, в:  $\times 100$ , б, г:  $\times 40$ .

### Висновки

1. Моделювання остеоартрозу шляхом відтворення дефекту епіфізарного хряща великогомілкової кістки і перетин великогомілкової зв'язки колінного суглобу призводить до прогресуючих дистрофічних змін суглобової поверхні, субхондральної кістки, мениска та капсули суглобу.

2. Внесення у колінний суглоб аспірату кісткового мозку через 1 місяць після моделювання остеоартрозу пригнічувала пошкодження субхондральної кістки та капсули суглобу.

3. Аспірат кісткового мозку через 1,5 місяці після введення у порожнину колінного суглобу частково зберігається з формування ретикулярної тканини і індукцією ангиогенезу.

lazernogo izlucheniya v lechenii degenerativno-distroficheskikh i vospalitel'nykh zabolevanij kostno-sustavnogo apparata [The combination of orthovoltic x-ray therapy and low-intensity laser radiation in the treatment of degenerative and inflammatory diseases of the osteoarticular system]. *Trudny patient*. 2017; 3:66-70. (Russian).

- Makarova MV, Valkov MY, Tretjakov DY. Trekhmernaya konformnaya rentgenoterapiya pri osteoartrite kolennogo sustava: radiobiologicheskie predposylki, analiz doznogo raspredeleniya [Three-dimensional conformal radiation therapy for the osteoarthritis of knee joint: the radiobiological background, dose distribution analysis]. *Research and Practical Medicine Journal*. 2018; 5(3):20-7. (Russian).
- Tankut V, Makolinets K. Konservativnoe lechenie bol'nykh s gonartrozom na rannikh stadiyakh (obzor literatury) [Conservative treatment of patients with gonarthrosis at early stages (review of literature)]. *Orthopaedics, traumatology and prosthetics*. 2013; 4:122-7. (Russian).
- Piuzzi NS, Khlopas A, Newman JM, Ng M, Roche M, Husni ME, Spindler KP, Mont MA, Muschler G. Bone marrow cellular therapies: novel therapy for knee osteoarthritis. *J Knee Surg*. 2018; 31(1):22-6.
- Chahla J, Alland JA, Verma NN. Bone marrow aspirate concentrate for orthopaedic use. *Orthop Nurs*. 2018;37(6):379-81.

### Література

- Parshin GA, Kandakova EYu, Ivashin AV, Izmailov TR. Sochetanie ortovol'noy rentgenoterapii i nizkointensivnogo

### Реферат

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОЛЕННОГО СУСТАВА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ И ПРИМЕНЕНИИ АУТОЛОГИЧНЫХ АСПИРАТОВ КОСТНОГО МОЗГА

Ткачук П.В., Страфун С.С.

Ключевые слова: остеоартроз, аспірат костного мозгу, морфологія, морфометрія.

Актуальность. Лечение остеоартроза коленного сустава является актуальной медико-социальной проблемой. Учитывая недостаточную эффективность консервативного лечения, предлагается применение клеточных технологий в лечении прогрессирующих дистрофических изменений коленного сустава. Целью работы было исследование влияния аспирата костного мозга на развития структурных изменений коленного сустава при экспериментальном остеоартрозе. Материалы и методы исследования. В экспериментах кроликам моделировали остеоартроз, через 1 месяц вводили аутологичный аспірат костного мозга в полость коленного сустава, а через 2,5 месяца после операции исследовали структурные изменения капсулы, менисков, проксимального эпифиза большеберцовой кости. Результаты. Установлены структурные изменения в капсуле сустава: расслоение структурных элементов, уменьшение плотности клеток капсулы, некроз клеток внутренней поверхности капсулы. Зона дефекта эпифизарного хряща была лишена хряща, а толщина перифокального хряща была уменьшена на 30,4% ( $p < 0,05$ ), плотность субхондральной костной ткани составляла 55,9% от контроля. В группе с аспіратом костного мозга была увеличена плотность фибробластов в капсуле сустава и частично сохранена поверхность менисков, плотность субхондральной костной ткани была достоверно больше – 79,5% ( $p < 0,05$ ) от контроля. Заключение. Структурные изменения при остеоартрозе являются прогрессирующими и приводят к дистрофическим изменениям суставной поверхности, субхондральной кости, мениска и капсулы сустава. Данные, полученные в результате экспериментальных исследований, позволяют утверждать, что введение в коленный сустав аутологичного аспірата костного мозга может снижать повреждение субхондральной кости, менисков и капсулы сустава и сопровождается образованием ретикулярной ткани и индукцией ангиогенеза. В дальнейшем перспективными являются исследования морфологических изменений красного костного мозга в условиях прогрессирующего остеоартроза и его восстановление при местном применении концентрата аспірата костного мозга.

### Summary

MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF STRUCTURAL CHANGES IN KNEE JOINT IN MODELED OSTEOARTHRITIS AND APPLICATION OF AUTOLOGICAL BONE MARROW ASPIRATE

Tkachuk P.V., Strafun S.S.

Key words: osteoarthritis, bone marrow aspirate, morphology, morphometry.

Background. Treatment of knee joint osteoarthritis is one of challenging medico-social issues. Sometimes the conservative treatment fails to produce therapeutic effect, therefore, the use of cellular technologies in the treatment for progressive degenerative changes of the knee joint has been proposed. The objective of this study was to investigate the effect of bone marrow aspirate on the structural changes in the knee joint in modelled osteoarthritis. Materials and methods. The experimental osteoarthritis was simulated in rabbits. Autologous bone marrow aspirate was injected into the knee cavity in 1 month after surgery, and then in 2, 5 months the structural changes of the capsule, meniscus, proximal epiphysis of the tibia were studied. Results. There were the following structural changes in the capsule of the knee joint: stratification of structural elements and reduction of the cell density of the capsule, cell necrosis of the inner surface of the capsule. The defect area of the epiphyseal cartilage was lacking in cartilage, and the peripheral cartilage thickness

was decreased by 30, 4% ( $p < 0,05$ ); subchondral bone density made up an average 55,9% compared with the control. In the group with bone marrow aspirate, the density of fibroblasts in the joint capsule increased and the surface of the meniscus was partially preserved; the density of subchondral bone tissue was significantly higher by 79,5% ( $p < 0,05$ ) compared with the control. Structural changes in osteoarthritis include progressive dystrophic changes of the joint surface, subchondral bone, meniscus, and joint capsule. The use of autologous bone marrow aspirate can prevent damage to the subchondral bone, meniscus and joint capsule and promote reticular tissue formation and induction of angiogenesis. The morphological changes of bone marrow through progressive osteoarthritis and its renovation after local application of autological bone marrow aspirate concentrate are promising approaches for the further studies.

DOI 10.31718/2077-1096.19.4.99

УДК:616-08-039.76:616.353.14:617.559

**Шавлюк Р.В., Коноплицький В.С.**

## **ВИЗНАЧЕННЯ БЕЗПЕЧНИХ АНАТОМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ПЕРИАНАЛЬНОЇ ДІЛЯНКИ ПРИ РАДИКАЛЬНИХ ОПЕРАТИВНИХ ВТРУЧАННЯХ З ПРИВОДУ ПІЛОНІДАЛЬНОЇ ХВОРОБИ У ДІТЕЙ**

Вінницький національний медичний університет, ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця

*Пілонідальна хвороба – поширена патологія, історія вивчення якої є досить довгою, що пояснює велику кількість теорій її виникнення й методів корекції. Однак наразі одним із оптимальних методів виконання радикального оперативного втручання при пілонідальній хворобі є операція, запропонована G.E. Karydakis у 1992 році. Однак відсутність чіткої анатомічної аргументації методики виконання даного оперативного втручання може призводити до пошкодження важливих анатомічних структур, що знаходяться у ділянці виконання оперативного втручання. Мета роботи: детально вивчити на мікроскопічному рівні будову м'язових тканин, що утворюють внутрішній та зовнішній сфінктери прямої кишки для можливості анатомічного обґрунтування вибору методу радикального оперативного втручання й визначити чіткі анатомічні орієнтири при виконанні хірургічного доступу. Матеріали і методи: у дослідженні виконано обстеження 10 трупів дітей, які прижиттєво не мали патології періанальної ділянки та малого тазу. Вік дітей складав від 12 до 17 років, серед яких було 5 дівчаток та 5 хлопчиків. Тканини, що досліджувались, були фіксовані в 10% розчині нейтрального формаліну протягом 24 – 48 годин, зневоднені. Гістологічні поперечні зрізи забарвлені гематоксиліном та еозином та за ван Гізоном. Результати дослідження та їх обговорення: при проведенні гістологічного обстеження видалених стовпчиків тканин, що розташовувались на 3, 6, 9 та 12 у положенні на спині, визначені основні морфометричні характеристики м'язових тканин періанальної ділянки з прицільним обстеженням зовнішнього сфінктеру заднього проходу. Встановлено, що площа поперечного перерізу м'язових пучків останнього може значно варіювати в залежності від віку та статусу дитини. Також чітко встановлено просторову структуру зовнішнього сфінктеру заднього проходу. Відповідно до морфометрії останній має форму еліпсу, витягнутого у передньо-задньому напрямку із центром, зміщеним у каудальному напрямку по відношенню до ануса. Висновок. 1) Анатомічна структура періанальної ділянки містить у товщі підшкірно-жирової клітковини волокна зовнішнього анального сфінктеру, що можуть бути пошкоджені при виконанні радикальних оперативних втручань з приводу пілонідальної хвороби у дітей. 2) Детальне вивчення анатомії періанальної ділянки дозволяє чітко визначити анатомічні орієнтири країв доступу при радикальних оперативних втручаннях з приводу пілонідальної хвороби у дітей. 3) Виконання радикальних оперативних втручань з приводу пілонідальної хвороби у дітей потребує більш детального вивчення, оскільки емпіричні рекомендації щодо їх виконання несуть у собі небезпеку порушення функціонування організму за рахунок пошкодження важливих анатомічних структур періанальної ділянки. 4) Дистальну межу розрізу при видаленні пілонідальної кісти варто змістити не на 2 см від краю анального кільця, а на 3 см, оскільки існує ризик пошкодження частини сфінктерного апарату відхідника.*

*Робота є фрагментом планової науково – дослідної роботи кафедри дитячої хірургії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова "Розробка та вдосконалення сучасних технологій діагностики, лікування, профілактики та реабілітації хірургічних захворювань у дітей" (№ державної реєстрації – 0118U003918).*

### **Вступ**

Незважаючи на сучасний рівень медичних знань, досі існує велика кількість варіантів трактування терміну «пілонідальна хвороба». Власне й досі немає однозначної думки серед медичної спільноти, яку назву має дана патологія, ґрунтуючись на поняттях етіопатогенезу, клініч-

них проявах та тих, що мають суто історичне значення. І саме тому вона має більше 40 варіантів назв, що призводить до труднощів у інтерпретації даної патології [1]. Вперше цій патології як самостійному захворюванню надав опис А. Anderson (1847) в листі до редакції "Бостонського медичного хірургічного журналу" під назвою