

**ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СУДИННОЇ ВІДПОВІДІ СИНОВІАЛЬНОЇ ТА КІСТКОВОЇ
ТКАНИНИ КОЛІННОГО СУГЛОБУ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
НЕСПЕЦИФІЧНОМУ АРТРИТІ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ**

Полтавський державний медичний університет (м. Полтава)

ovpelypenko@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Експериментально-морфологічне вивчення дії кріоконсервованих препаратів кордової крові та ембріофетоплацентарного комплексу (ЕФПК), дифереліну, етанолу та 1% ефіру метакрислової кислоти на морфофункціональний стан р яду внутрішніх органів», № державної реєстрації 0119U2925.

Вступ. Суглоб – це багатокомпонентна анатомічна структура, до складу якої входять різноманітні за ембріональним походженням, морфологічною будовою та функціональним навантаженням складові. Тим не менш, комплексна взаємодія вказаних складових забезпечує надійне виконання необхідної організму функції – рухової активності. Як одна з головних систем, що дозволяє синхронізувати складні фізіологічні інтраартикулярні процеси розглядається система кровопостачання. Зважаючи на відсутність наявності судин у хрящовій тканині, особливо актуальною стає дослідження гемоциркуляторних процесів в субхондральній кістці та синовіальній оболонці в нормі та в умовах виникнення патологічного стану.

Одна з сучасних гіпотез патогенезу остеоартриту безпосередньо стосується порушення кровообігу у суглобоутворюючих тканинах з подальшим розвитком дистрофічно-дегенеративних змін, як правило, незворотного характеру. Зазначений стан організму є найбільш поширеною причиною захворюваності та інвалідності в структурі патологічних станів опорно-рухового апарату населення світу [1, 2].

Дослідженню судин в умовах розвитку остеоартриту присвячена значна кількість наукових робіт як клініцистів, так і вчених-морфологів. Ще в 2001 році Felson D.T. та співавтори за допомогою MPT продемонстрували зміни в субхондральній кістці, які були інтерпретовані як початкова стадія остеоартриту [3]. В наступному неодноразово доведено, що первинне ремоделювання кісткової тканини опосередковано приводить до ураження суглобового хрящу [4, 5, 6]. Ключова роль розвитку патологічних змін при цьому відводилась порушенням стану мікроциркуляторного русла у вигляді ішемії, оклюзії чи спазму судин [7, 8].

Слід зазначити, що дані клінічних досліджень ознак та можливостей прогнозування розвитку остеоартриту не завжди мають гістологічне підтвердження, особливо на ранніх стадіях захворювання. Переважно це пов'язано з етичними складнощами отримання матеріалу за відсутності показань до оперативних втручань, таких як ендопротезування або артроскопія [9].

Розуміння ролі кісткової судинної сітки в метаболізмі скелету значно розширилося в останні роки після дослідження внутрішньокісткової кровоносної

системи, так званих «транскортикальних судин», та її безпосереднього значення для остеогенезу [10, 11].

Паралельно досить активно проводились дослідження синовіальної оболонки, в тому числі стану судинного компоненту. Система мікроциркуляції даного анатомічного компоненту суглобу представляє собою особу структуру кровоносних та лімфатичних судин, пристосованих для транссудації та резорбції синовіальної рідини [12, 13]. Використання сучасних методик дослідження дозволили встановити наявність так званих «люків» – локальних потоншень мембрани оточених сіткою капілярів з поляризацією ендотеліоцитів орієнтовно до розширених міжклітинних проміжків синовіальних клітин. Активні міжклеточні контакти підтверджуються наявністю мікропіноцитозних везикул, що за рахунок злиття свідчать про тенденцію до утворення трансцелюлярних каналів.

Вираженою особливістю системи кровообігу синовіальної оболонки є архітектоніка капілярної сітки синовіальних ворсин, яка представлена судинними петлями або клубочками, що значно збільшує їх функціональну роль в процесах транссиновіального обміну [14].

Формування поверхневої та глибокої сітки кровоносних мікросудин свідчить про їх різнопланове функціональне значення: поверхнева сітка пристосована для транссудації та резорбції синовіальної рідини, в той час як глибока сітка відіграє активну участь у механізмах регуляції гемодинаміки та змін ємкості посткапілярного та венозного компоненту. Фіброзний відділ синовіальної мембрани у зв'язку із його каркасною та захисною функцією забезпечений судинами значно менше.

Тим не менш, робіт, які присвячені морфологічним змінам системам мікроциркуляції кісткової та синовіальної тканин в умовах асептичного запалення не так багато [15, 16]. Виникають також складності інтерпретації в клінічну практику корелятивних даних в залежності від виду обраних об'єктів експерименту.

Ще менше робіт, що демонструють комплексну тканинну відповідь мікроциркуляторного русла на генералізований патологічний процес. Переважно вказані праці присвячені дослідженню перебігу ревматоїдного артрити [17, 18].

Метою дослідження була порівняльна оцінка стану мікроциркуляції субхондральної кістки та синовіальної оболонки колінних суглобів щурів в нормі, в умовах експериментального артрити та після впливу препаратів кріоконсервованої плаценти.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилось на 115 білих амбулаторних ссавцях щурів лінії «Вістар» віком 12 тижнів, масою 130-150 г відповідно до «Правил використання лабораторних експеримен-

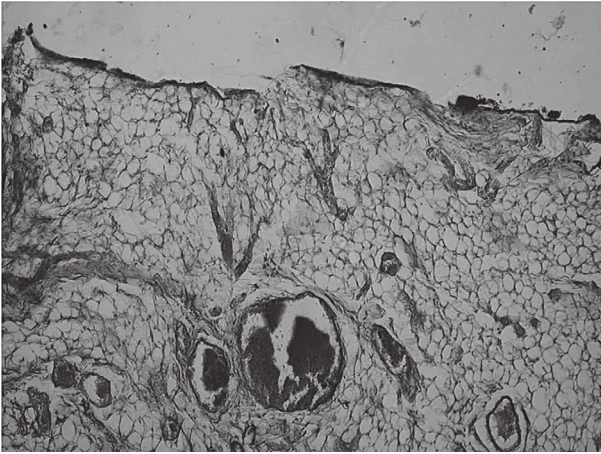


Рисунок 1 – Тромбоз судин при асептичному запаленні. 1 доба. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: об. 40, ок. 10.

тальних тварин», 1984 та Гельсінської декларації про гуманне відношення до тварин.

З інтактною групою (10 тварин) порівнювались Зконтрольні групи.

I група – шляхом внутрішньоочеревинного введення 5 мг λ -карагінену розчиненого в 1 мл ізотонічного розчину хлориду натрію моделювалось асептичне запалення колінних суглобів (35 тварин);

II група – в умовах операційної з дотриманням правил асептики та антисептики виконувалась підшкірна імплантація кріоконсервованої плаценти (35 тварин);

III група – підшкірна імплантація фрагменту плаценти проводилась на фоні асептичного запалення колінного суглобу (35 тварин).

Шляхом передозування наркозу тварини виводились з експерименту відповідно термінів дослідження (1 – 21 доба).

Для проведення гістологічного дослідження використовували фрагменти дистальних метаепіфізів стегнових та проксимальних метаепіфізів великогомілкових кісток, які фіксувались 10% нейтральним формаліном, після декальцинації кісткової тканини зневоднювались у спиртах концентрації, що зростали та занурювались у парафін. Отримані на мікромомі зрізи забарвлювали за Ван Гізоном та гематоксилін-еозином з наступним вивченням матеріалу за допомогою мікроскопу Biorex-3 BM-500T з цифровою мікрофотонасадкою DCM 900 за адаптованими для даних досліджень програмами.

Результати досліджень та їх обговорення.

На відміну від контрольної групи судинна реакція синовіальної оболонки щурів, яким вводився λ -карагінан, спостерігалась вже на першу добу експерименту. На фоні масивного набряку апікальних відділів відмічався периваскулярний набряк, потовщення судинної стінки. Значне наповнення судин тромбами, що розташовувались переважно пристінково, свідчило про наявність гострого запального процесу (**рис. 1**).

Повнокров'я судин зберігалось на 5 добу, з утворенням зон лізису периваскулярних тканин. Зберігався активний стан системи коагуляції з наявністю пристіночних тромбів.

В картині 7 доби спостерігається явища вираженої ішемії (судини пусті) на фоні генералізованої деструкції кісткових балок.

На 10 добу наявність дифузної лімфоцитарної інфільтрації дозволяло зробити висновок про підвищене проникнення елементів крові через стінки судин. Як і на попередньому етапі дослідження, кров в просвіті судин була практично відсутня.

Морфологічна картина 14 доби характеризувалась переважанням в мікроциркуляторному руслі венозного компоненту, потовщенням судинної стінки артеріол, явищами периваскулярної лакунарності.

Через 3 тижні в морфологічній картині відмічались ознаки гіперактивності судин апікальних відділів ворсин, окремі судинні порушення більш глибоких шарів полягали у помірному потовщенні стінок артеріол.

Реакція судинного компоненту кісткової складової суглобу після створення моделі неспецифічного запального процесу мала певні особливості. В перші три доби експерименту відмічалось повнокров'я судинного русла з тенденцією до тромбоутворення. В подальшому, з п'ятої доби, вказаний стан змінювався картиною спустошення судин. На окремих препаратах визначались ознаки венозного застою. Сьома доба характеризувалась наявністю ішемізованих судин на фоні загального руйнування кісткових балок.

Вивчення якісних та кількісних характеристик мікроциркуляторного русла кісткової тканини в другий тиждень експерименту значно ускладнювався масивним руйнуванням кісткових балок.

Реакція судинного компоненту на введення кріоконсервованої плаценти також відрізнялось певними характерними змінами. Значне наповнення судин визначалось з першої до п'ятої доби з розповсюдженою агрегацією еритроцитів. Зазначений слагдж – феномен розглядався як процес підвищення ефективності переносу формених елементів, що забезпечувало оксигенацію тканин даної ділянки. Переважне центральне розташування еритроцитів свідчило про високу функціональну активність системи мікроциркуляції.

На 7 добу дослідження, при зберіганні венозного наповнення, знижувалась наповненість артеріального компоненту, стінки артеріол потовщувались.

На 14 добу експерименту активність ангиогенезу підтверджувалась поліморфізмом окремих ворсин, що можна пояснити різним функціональним навантаженням окремих відділів синовіальної оболонки.

Судини синовіальної оболонки на 21 добу наповнені, в поодиноких випадках містять тромби (**рис. 2**).

Наповнення судин кісткової тканини при введенні ККП відмічалось протягом всього періоду спостереження. Для ранніх етапів (3-5 доба) нерідко було характерно присутність слагдж – феномену, з 10 доби частіше відмічали явища тромбозу. Через три тижні констатується поява нових судин, як компоненту загального остеогенезу.

Введення кріоконсервованої плаценти в умовах експериментального асептичного запалення нівелювало деякі негативні прояви остеоартриту. Як і в попередніх групах, в перші дні дослідження відмічалось наповнення судин. Дана картина зберігалась до 10 доби, після чого до 14 доби спостерігалось тимчасове переважання венозного компоненту. На 21 добу дослідження морфологічна картина більшості препаратів синовіальної оболонки відповідала параметрам тканини в нормі.

Мікроциркуляторні процеси кісткової тканини даної групи за схожим порядком. Як і в синовіальній

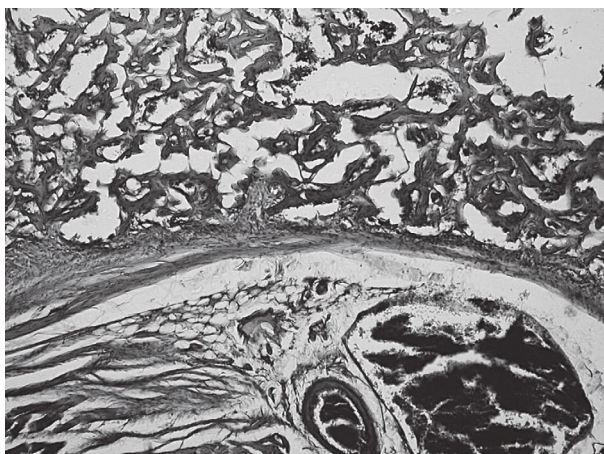


Рисунок 2 – Наповненість судин після введення кріоконсервованої плаценти. 21 доба. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: об. 40, ок. 10.

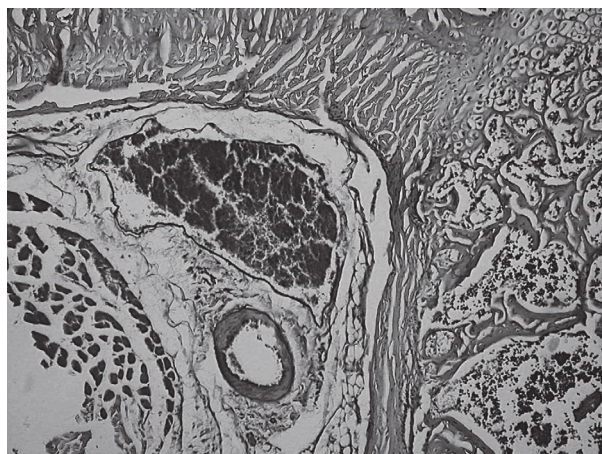


Рисунок 3 – Венозний стаз після введення кріоконсервованої плаценти при асептичному запаленні. 14 доба. Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб.: об. 40, ок. 10.

оболонці практично відсутньою була стадія ішемізації, помірне наповнення судинного русла забезпечувало зменшення ризику тромботичних явищ, що свідчило про оптимальну швидкість кровотоку. Периваскулярний набряк, що визначався на 7 добу, до 14 доби експерименту майже зникав. Через 3 тижні після початку експерименту суглобові тканини практично не відрізнялись від інтактної групи (**рис. 3**).

Наповнення судин кісткової і, особливо, синовіальної тканин характерно було для перших трьох діб експерименту в усіх групах дослідження. Реакція мікроциркуляторного русла у групі, де моделювалось асептичне запалення, відрізнялась зміною вказаного стану стадією ішемізації тканин. В групі тварин, яким вводилась кріоконсервована плацента, навпаки тривалий час відмічалась наявність сладж – феномену, що свідчило про фізіологічність та зворотність процесу.

Введення кріоконсервованої плаценти на фоні асептичного запалення нівелювало ішемічні явища, активізувало процеси ангіо- та остеогенезу.

Висновки. Проведене дослідження показало, що мікроциркуляторна система синовіального та кісткового компонентів суглобу синхронізована при відповіді на вплив патологічних чинників. Синовіальна оболонка, як більш чутлива, раніше включається в метаболічні трансформації. Кісткова складова відрізняється відносною стабільністю – пізніше потерпає деструктивних змін та раніше реорганізується.

Введення кріоконсервованої плаценти дозволяє значно зменшити негативний вплив запального процесу при експериментальному остеоартриті.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується вивчення можливостей використання кріоконсервованої плаценти в клінічній практиці.

Література

- Alekseeva LI, Taskina EA, Kashevarova NG. Osteoarthritis: epidemiology, classification, factory risk and progression, clinical, diagnosis, treatment. *Sovremennaya revmatologiya*. 2019;13(2):9-21. [in Russian].
- Gayko GV, Haluzynskiy OA, Nyzalov TV, Kozak RA, Zaets VB, Cherniak PS. Vyznachennia zalezhnosti formy proghresuvannia koksartrozu vid variant vertykalnoi postavu khvorykh iz kulshovo-poperekovym syndromom. *Visnyk ortopedii, travmatologii ta protezuvannia*. 2020;1:48-54. [in Ukrainian].
- Felson DT, McLaughlin S, Goggins J, LaValley MP, Gale ME, Totterman S, et al. Bone marrow edema and its relation to progression of knee osteoarthritis. *Ann Intern Med*. 2003 Sep 2;139(5.1):330-6.
- Kabalyk MA. Rol sosudistykh faktorov v patogeneze osteoartrita. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017;2:50. [in Russian].
- Yakovenchuk NN, Dedukh NV. Morfolohiia suhlobovoho khriashcha ta subkhondralnoi kistky pislia modeliuвання osteoporozu. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. 2017;4.3(141):324-7. [in Ukrainian].
- Chen M, Li Y, Huang X, Gu Y, Li S, Yin P, et al. Skeleton-vasculature chain reaction: a novel insight into the mystery of homeostasis. *Bone Res*. 2021;9:21. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41413-021-00138-0>.
- Ramasamy SK, Kusumbe AP, Schiller M, Zeuschner D, Bixel MG, Milia C, et al. Blood flow controls bone vascular function and osteogenesis. *Nat Commun*. 2016;7:13601. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms13601>.
- Elkerton JS, Xu Y, Pickering JG, Ward AD. Differentiation of arterioles from venules in mouse histology images using machine learning. *J Med Imag*. 2017;4(2):021104. DOI: 10.1117/1.JMI.4.2.021104.
- Plakhov AI, Kolesnikova LI, Korytov LI, Vinogradov VG, Darenskaya MA. Izmeneniya pokazateley mikrotsirkulyatsii v ranniy posleoperatsionnyy period pri lechenii diafizarnykh perelomov kostey goleni s pomoshchyu plastiny s ogranichennym kontaktom. *Acta Biomedica Scientifica*. 2019;4(3):58-62. [in Russian].
- Grüneboom A, Hawwari I, Weidner D, Culemann S, Müller S, Henneberg S, et al. A network of trans-cortical capillaries as mainstay for blood circulation in long bones. *Nat Metab*. 2019;1:236-50.
- Zhao Y, Xie L. Unique bone marrow blood vessels couple angiogenesis and osteogenesis in bone homeostasis and diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2020;1474(1):5-14.
- Shepitko VI, Pelypenko AV. Suchasni pohliady na strukturnu orhanizatsiiu suhlobovykh tkanyh. *Svit medytsyny ta biolohii*. 2015;3(52):175-83. [in Ukrainian].
- Bailey KN, Furman BD, Zeitlin J, Kimmerling KA, Wu CL, Guilak F, et al. Intra-articular depletion of macrophages increases acute synovitis and alters macrophage polarity in the injured mouse knee. *Osteoarthritis and cartilage*. 2020;28(5):626-638.
- Vagapova VSh, Rybalko DYu, Gumerov AA, Minigazimov RS, Borzilova OKh, Imanova VR. Regeneratsiya sinovialnoy membrany kolennogo sustava posle chastichnoy kapsulektomii v usloviyakh alloplastiki vistseralnoy plevroy v eksperimente. *Prakticheskaya meditsyna*. 2019;1(17):103-7. [in Russian].
- Pelypenko AV, Shepitko VI, Pelypenko LB. Morfofunktsionalna kharakterystyka mikrotsyrkuliatornoho rusla subkhondralnoi kistky pry vvedenni kriokonservovanoi platsenty na tli aseptychnoho zapalennia suhlobu u shchuriv. *Svit medytsyny ta biolohii*. 2019;2(68):187-191. [in Ukrainian].

16. Tkachuk PV, Strafun SS, Savosko SI, Makarenko OM. Strukturni porushennia kolinnoho suhlobu pry modeliuvani osteoartrozu. *Travma*. 2019;20(1):73-8. [in Ukrainian].
17. Komarova EB, Kurinnyi AB. Morfostruktura synovialnoi obolochky pry revmatoydnom artryte. *Morfologiya*. 2013;7(3):65-9. [in Russian].
18. Buch MH, Eyre S, McGonagle D. Persistent inflammatory and non-inflammatory mechanisms in refractory rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2021;17(1):17-33.

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СУДИННОЇ ВІДПОВІДІ СІНОВІАЛЬНОЇ ТА КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ КОЛІННОГО СУГЛОБУ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ НЕСПЕЦИФІЧНОМУ АРТРИТІ ТА ПРИ ВВЕДЕННІ КРІОКОНСЕРВОВАНОЇ ПЛАЦЕНТИ

Пелипенко О. В.

Резюме. *Актуальність.* Одна з сучасних гіпотез патогенезу остеоартриту безпосередньо стосується порушення кровообігу у суглобоутворюючих тканинах з подальшим розвитком дистрофічно-дегенеративних змін. Зважаючи на відсутність наявності судин у хрящовій тканині, особливо актуальною стає дослідження гемодинамічних процесів в субхондральній кістці та синовіальній оболонці в нормі та в умовах виникнення патологічного стану. *Мета дослідження.* Порівняльна оцінка стану мікроциркуляції субхондральної кістки та синовіальної оболонки колінних суглобів щурів в нормі, в умовах експериментального артрити та після впливу препаратів кріоконсервованої плаценти.

Матеріал та методи. Експериментальне дослідження виконано на 115 білих щурах. З інтактною групою (10 тварин) порівнювались 3 контрольних групи по 35 тварин кожна, яким виконувалось: 1) моделювання каргінан-індукованого асептичного запалення колінного суглобу; 2) підшкірна імплантація фрагменту плаценти; 3) підшкірна імплантація фрагменту плаценти на фоні асептичного запалення колінного суглобу. Гістологічні препарати готували за загальними методиками з фарбуванням гематоксилін-еозином та за Ван Гізоном.

Результати. Наповнення судин кісткової і, особливо, синовіальної тканин характерно було для перших трьох днів експерименту в усіх групах дослідження. Реакція мікроциркуляторного русла у групі, де моделювалось асептичне запалення, відрізнялась зміною вказаного стану стадією ішемізації тканин. У групі тварин, яким вводилась кріоконсервована плацента, навпаки тривалий час відмічалась наявність сладж – феномену, що свідчило про фізіологічність та зворотність процесу. Введення кріоконсервованої плаценти на фоні асептичного запалення нівелювало ішемічні явища, активізувало процеси ангіо- та остеогенезу.

Висновки. Мікроциркуляторна система синовіального та кісткового компонентів суглобу синхронізована при відповіді на вплив патологічних чинників. Синовіальна оболонка, як більш чутлива, раніше включається в метаболічні трансформації. Кісткова складова відрізняється відносною стабільністю – пізніше потерпає деструктивних змін та раніше реорганізується. Введення кріоконсервованої плаценти дозволяє значно зменшити негативний вплив запального процесу при експериментальному остеоартриті.

Ключові слова: остеоартрит, кріоконсервована плацента, мікроциркуляція.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE VASCULAR RESPONSE OF SYNOVIAL AND BONE TISSUE OF THE KNEE JOINT OF RATS IN EXPERIMENTAL NON-SPECIFIC ARTHRITIS AND IN THE INTRODUCTION OF CRYOCONSERVED PLACENTA

Pelypenko O. V.

Abstract. *Introduction.* One of the modern hypotheses of the pathogenesis of osteoarthritis directly relates to circulatory disorders in joint-forming tissues with the subsequent development of dystrophic-degenerative changes. Due to the absence of vessels in cartilage tissue, the study of hemocirculatory processes in the subchondral bone and synovial membrane in normal and in conditions of pathological processes becomes especially relevant.

The aim of the research. Comparative assessment of the state of the subchondral bone and synovial membrane microcirculation in the knee joints of rats in normal, in the conditions of experimental arthritis and after exposure to cryopreserved placenta.

Material and methods. The experimental research was performed on 115 white rats. 3 control groups of 35 animals in each group were compared with the intact group (10 animals), which performed: 1) modeling of cararginan-induced aseptic inflammation of the knee joint; 2) subcutaneous implantation of a fragment of the placenta; 3) subcutaneous implantation of a fragment of the placenta on the background of aseptic inflammation of the knee joint. Histological specimens were prepared according to general methods with hematoxylin-eosin and Van Gizon staining.

Results. Filling of vessels of bone and, especially, synovial fabrics was characteristic of the first three days of experiment in all groups of research. The reaction of the microcirculatory bed in the group where aseptic inflammation was simulated differed in the change of this state by the stage of tissue ischemia. In the group of animals injected with cryopreserved placenta, on the contrary, for a long time there was the presence of sludge-phenomenon that indicated the physiology and reversibility of the process. The injection of cryopreserved placenta on the background of aseptic inflammation leveled ischemic phenomena, intensified the processes of angio- and osteogenesis.

Conclusions. The microcirculatory system of the synovial and skeletal components of the joint is synchronized in response to the influence of pathological factors. The synovial membrane, as more sensitive, is previously involved in metabolic transformations. The bone component is relatively stable – it later undergoes destructive changes and is reorganized earlier. The injection of cryopreserved placenta can significantly reduce the negative impact of the inflammatory process in experimental osteoarthritis.

Key words: osteoarthritis, cryopreserved placenta, microcirculation.

*Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 02.01.2021 року*