

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ КОМПОНЕНТІВ ХРЯЩОВОГО ПОКРИТТЯ КОЛІННОГО СУГЛОБА НА МІКРОСТРУКТУРНОМУ ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНОМУ РІВНЯХ НАПРИКІНЦІ ДВОХТИЖНЕВОЇ ВІДМІНИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОПОЇДНОГО ВПЛИВУ

Войценко К. І., Пальтов Є. В., Фік В. Б., Кривко Ю. Я.,

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної анатомії, м. Львів, Україна.

DOI: https://doi.org/10.31435/rsglobal_ws/28022019/6354

ARTICLE INFO

Received: 09 December 2018
Accepted: 23 February 2019
Published: 28 February 2019

KEYWORDS

Withdrawal,
microstructure,
ultrastructure,
rat.

ABSTRACT

The work, presented below, compares pathomorphological changes of the articular cartilage in the distal epiphysis of the femur and proximal epiphyses of the tibia at the end of the 56th day in rats after two - week opioid withdrawal at the micro- and ultrastructural levels. The goal was achieved by micro- and ultrastructural visualization of the components of the articular cartilage. Specimen preparation for electron and light microscopy was done according to the generally accepted methods.

The results of this study will form the basis for developing a comprehensive therapeutical approach in management of lesions of structural components of the articular cartilage in opioid chondrodystrophy.

Citation: Войценко К. І., Пальтов Є. В., Фік В. Б., Кривко Ю. Я. (2019) Osoblyvosti Morfolohichnykh Komponentiv Khriashchovoho Pokryttia Kolinnoho Suhloba na Mikrostrukturnomu ta Ultrastrukturnomu Rivniakh Naprykintsii Dvokhtyzhnevoi Vidminy Eksperymentalnoho Opioidnoho Vplyvu. *World Science*. 2(42), Vol.2. doi: 10.31435/rsglobal_ws/28022019/6354

Copyright: © 2019 Войценко К. І., Пальтов Є. В., Фік В. Б., Кривко Ю. Я. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Результати статті відповідають плану наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і є частиною науково – дослідної теми кафедри нормальної анатомії «Структурна організація, ангіоархітектоніки та антропометричні особливості органів у внутрішньо та позаутробному періодах розвитку, за умов екзо- та ендопатогених факторів» (номер держреєстрації 0115U000041) впродовж 2015 – 2019 рр.

Вступ. Чисельна кількість факторів екзогенного та ендогенного походження сприяють виникненню остеоартрозів – хронічне прогресуюче захворювання синовіальних суглобів з ураженням насамперед гіалінового хряща та ділянки субхондральної кістки в результаті складного комплексу біомеханічних, біохімічних чи генетичних факторів [1]. Хондродистрофічні зміни, що лежать в основі виникнення остеоартрозів відносяться до категорії гетерогенної групи захворювань суглобів різної етіології зі схожими біологічними, морфологічними та клінічними ознаками [2]. Остеоартроз надзвичайно розповсюджене захворювання [3]. Захворювання являє собою соціальноекономічну проблему і є однією з ведучих підстав стійкої втрати з подальшим виникненням інвалідності та непрацездатності [4].

Вищезазначене визначило мету нашої роботи, що полягала у вивченні особливостей мікроструктурної організації та трофіки суглобового покриття колінного суглоба наприкінці двотижневої відміни на мікро – та ультраструктурному рівні.

Матеріали та методи дослідження. Матеріалом дослідження слугували статевозрілі, безпородні щури–самці в кількості 16-ти тварин, масою 140 г, віком 4,5 місяців. Тваринам після 42-ї доби експериментального опіоїдного впливу припиняли колоти опіоїдний анальгетик та наприкінці 56-ї доби виводили з експерименту. Усі тварини знаходились в умовах віварію і робота, що стосувалася питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” [Стразбург, 1985], “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001]. Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01.11.2000 року (протокол № 10 від 26.12.2011 року). Перед проведенням забору біопсійного матеріалу тварину присипляли дибутиловим ефіром. Як матеріал для мікроструктурного та ультраструктурного дослідження використали хрящі дистального епіфізу стегнової та проксимального епіфізу великогомілкової кісток колінного суглоба щурів. Мікроструктурні та ультраструктурні препарати готували за загальноприйнятою методикою [5 - 8].

Результати дослідження. В результаті проведеного забору експериментального матеріалу наприкінці **56-ої доби** у щурів, що знаходилися впродовж двотижневої **відміни опію** на мікроструктурному рівні нами було виявлено, що не відбувалося прогресування дистрофічно-дегенеративних змін, також не відзначили вираженої репаративної регенерації хрящової тканини. Суглобова поверхня хрящового покриття колінного суглоба була нерівна, звивиста. Безклітинна пластинка була потовщена як це видно на рис. 1, 2.

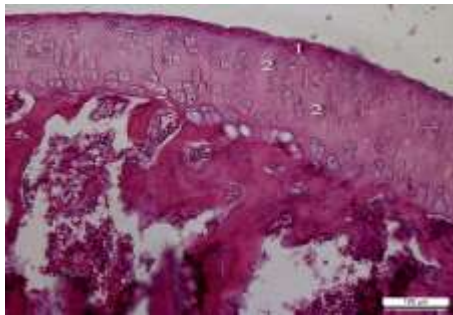


Рис. 1. Покриття в ділянці епіфізарного хряща проксимального кінця великогомілкової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіоїдного впливу. Забарвлення Гематоксиліном та еозином. Мікрофотографія. Зб. x 200. 1 – потовщення безклітинної пластинки; 2 – збільшення об’єму міжклітинного матриксу в усіх зонах суглобового хряща.

Кислі глікозаміноглікани у основній речовині безклітинної пластинки розташовувались неоднорідно. Вираженої узуризації суглобової поверхні та чіткої архітекtonіки зон суглобового хряща не спостерігали. Візуалізувався фіброзний паннус. Відзначали збільшення об’єму безклітинного матриксу, неоднорідне нагромадження у ньому кислих глікозаміногліканів. Не спостерігали розпаду колагенових волокон. Виражених дистрофічних та некротичних змін хондроцитів не виявили. Лакуни без хондроцитів зустрічались рідко.

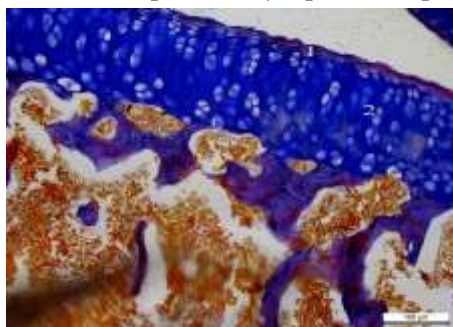


Рис. 2. Покриття в ділянці епіфізарного хряща дистального кінця стегнової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіоїдного впливу. Забарвлення Азаном. Мікрофотографія. Зб. x 200. 1 – потовщення безклітинної пластинки; 2 – збільшення кількості та потовщення колагенових волокон.

Кісткові балки субхондральних ділянок були незначно потовщені. У матриксі перехідної зони дещо збільшувалась кількість кислих глікозаміногліканів. У епіфізарному хрящі виражених альтеративних змін не виявляли. У зоні проліферації візуалізувались чітко сформовані стовпчики з хондроцитів. Були присутні ділянки де відзначали збільшення основної речовини матриксу епіфізарного хряща як це показано на рис. 3.

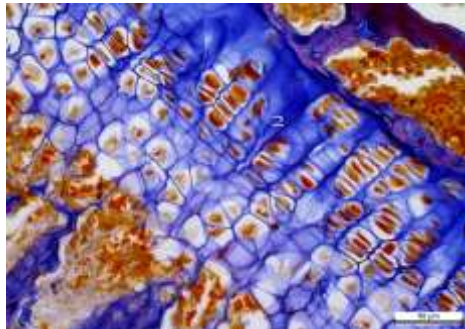


Рис. 3. Покриття в ділянці епіфізарного хряща дистального кінця стегнової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіоїдного впливу. Забарвлення Азаном. Мікрофотографія. Зб. х 400. 1 – сформовані стовбчики з хондроцитів; 2 – збільшення об'єму міжклітинного матриксу.

Також у матриксі епіфізарного хряща зростала кількість кислих глікозаміногліканів як це видно на рис. 4. Окремі колагенові волокна були дещо потовщені. Поодинокі хондроцити зазнавали дистрофічних та некротичних змін. Місцями зустрічались ділянки де візуалізувались невеликі порожнини, що утворювались у місцях руйнування хондроцитів. У синовіальній оболонці відзначали незначну інфільтрацію лімфоцитами, макрофагами, плазматичними клітинами та тканинними базофілами. Кількість фіброblastів та колагенових волокон була помірною.



Рис. 4. Покриття в ділянці епіфізарного хряща проксимального кінця великогомілкової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіоїдного впливу. Забарвлення Азур. Мікрофотографія. Зб. х 400. 1 – неоднорідне збільшення вмісту кислих глікозаміногліканів у основній речовині міжклітинного матриксу.

В результаті проведеного забору експериментального матеріалу наприкінці **56-ої доби** у щурів, що знаходилися впродовж двотижневої **відміни опію**ду на ультраструктурному рівні нами було виявлено, що прогресування дегенеративних змін не спостерігали. Суглобова поверхня була нерівною, містила заглибини. У поверхневій зоні збільшувалась кількість матриксу, фібрили колагенових волокон розташовувались неупорядковано, хондроцити локалізувались нецільно. Матрикс поверхневої зони місцями ставав інтенсивноосміофільним, колагенові волокна у зазначених зонах набували паралельного розташування до поверхні суглоба. У деяких хондроцитах поверхневої зони реєстрували дегенеративні зміни, що супроводжувались розширенням цистерн гладкої ендоплазматичної сітки, та зустрічались ділянки з деструкцією її мембран. Також траплялись хондроцити із збереженими цитоплазматичними органелами та помірно осміофільною цитоплазмою як це показано на рис. 5.



Рис. 5. Хондроцит поверхневої зони епіфізарного хряща проксимального кінця великогомілкової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіюючого впливу. Мікрофотографія. Зб. х 6000.

1 – збережене ядро; 2 – помірно осміофільна цитоплазма.

Об'єм міжтериторіального матриксу перехідної зони також був збільшеним. Поряд з ділянками просвітлення матриксу зустрічались зони із інтенсивно осміофільним матриксом. Деструктивно змінені (у стані дегенерації, некрозу та апоптозу) хондроцити у проміжній та базальній зонах зустрічались рідше ніж у тварин, яким безперервно вводили налбуфін. У перехідній зоні подекуди траплялись хондроцити цитоплазматичні органели в яких були переважно збережені як це видно на рис рис. 6. У ядрі збільшувався об'єм ділянок, що були заповнені еухроматином як це показано на рис рис. 7, та гетерохроматином, що зосереджувався переважно біля внутрішньої поверхні каріолеми. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки збережених хондроцитів містили значну кількість рибосом як це видно на рис рис. 8, 9, помірну або значну кількість секреторних міхурців. У цитоплазмі також візуалізувались вільні рибосоми та полісоми. Профілі гладкої ендоплазматичної сітки місцями були розширені. У збережених хондроцитах чітко візуалізувались невисокі цитоплазматичні ніжки, що контактували з територіальним матриксом, у якому розташовувалась значна кількість тонких новоутворених фібрил колагенових волокон.



Рис. 6. Хондроцит перехідної зони епіфізарного хряща проксимального кінця великогомілкової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіюючого впливу. Мікрофотографія. Зб. х 8000.

1 – збережений хондроцит.

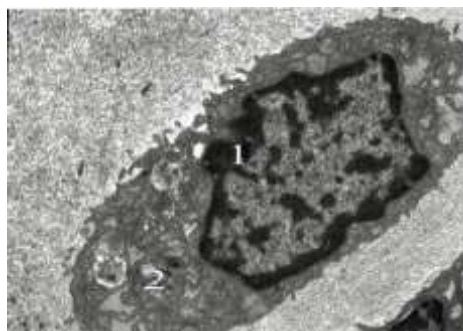


Рис. 7. Хондроцит перехідної зони епіфізарного хряща проксимального кінця великогомілкової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіюючого впливу. Мікрофотографія. Зб. х 6000.

1 – збільшення об'єму еухроматинових ділянок у ядрі; 2 – розширення цистерн гладкої ендоплазматичної сітки



Рис. 8. Хондроцит перехідної зони епіфізарного хряща проксимального кінця великогомілкової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. Зб. х 8000.
1 – значна кількість рибосом на мембранах гранулярної ендоплазматичної сітки.

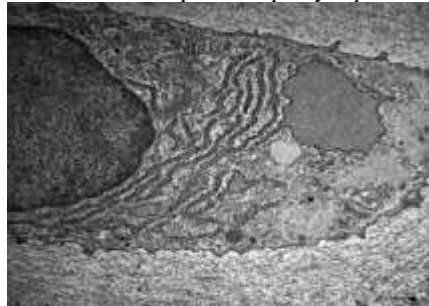


Рис. 9. Хондроцит перехідної зони епіфізарного хряща проксимального кінця великогомілкової кістки щура наприкінці 56-ої доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. Зб. х 8000.
1 – розширення профілів гладкої ендоплазматичної сітки.

У базальній зоні локалізувались збільшені в об'ємі хондроцити в лакунах. В деяких хондроцитах цитоплазма була виразно вакуолізована, просвітлена, кількість зерен глікогену в цитоплазмі була помірна. Поряд з посиленням функціональної активності окремих хондроцитів відзначали помірну нормалізацію у хрящовому матриксі. Зокрема зони просвітлення хрящового матриксу зустрічались рідше. Частіше візуалізувались ділянки інтенсивноосіофільного матриксу із збереженими колагеновими волокнами. Товсті фібрили колагенових волокон базальної зони набували радіального розташування. Посилення осифікації у субхондральних ділянках не спостерігали.

Висновки. 1. Наприкінці **56-ої доби** у щурів, що знаходилися впродовж двотижневої відміни опіюду на мікроструктурному рівні нами було виявлено, що не відбувалося прогресування дистрофічно-дегенеративних змін, також не відзначили вираженої репаративної регенерації хрящової тканини. Лакуни без хондроцитів зустрічались рідко.

2. На ультраструктурному рівні деструктивно змінені (у стані дегенерації, некрозу та апоптозу) хондроцити у проміжній та базальній зонах зустрічались рідше ніж у тварин, яким безперервно вводили налбуфін. У перехідній зоні місцями траплялись хондроцити цитоплазматичні органели в яких були переважно збережені. У збережених хондроцитах чітко візуалізувались невисокі цитоплазматичні ніжки, що контактували з територіальним матриксом, у якому розташовувалась значна кількість тонких новоутворених фібрил колагенових волокон.

ЛІТЕРАТУРА

1. Badokin, V. V. (2014). The role of inflammation in the development and course of osteoarthritis. *Cnsilium medicum*, 1 (9), 91-95.
2. Brandt, K. D. (2000). *Diagnosis and nonsurgical management of osteoarthritis*. Oklahoma: Professional communications.
3. Arden, N., & Nevitt, M. C. (2006). Osteoarthrosis: epidemiology. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 20 (1), 3-25.
4. Jordan, K. M., Arden, N. K., Doherty, M., Bannwarth, B., Bijlsma, J.W., ..., & Dougados, M. (2003). EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for international Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*, 62 (12), 1145-1155.
5. Romais, B. (1953). *Microscopic technique*. (p. 71-72). Moscow: Medicine.
6. Glauert, A. M. (1975). Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. In: Glauert A. M. (Ed.), *Practical methods in electron microscopy*. North-Holland: American Elsevier.
7. Stempak J.G., & Ward R.T. (1964). An improved staining method for electron microscopy. *J Cell Biol*, 22 (3), 697-701.
8. Reynolds E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*, 17, 208-212