

УДК 616.728.3-018.3-07-092.9:004.942](045)

## Морфологія суглобового хряща колінного суглоба щурів за умов позасуглобової деформації стегнової кістки

К. К. Романенко <sup>1</sup>, Н. О. Ашукіна <sup>2</sup>, І. О. Батура <sup>2</sup>, Д. В. Прозоровський <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України

<sup>2</sup> ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», Харків

*Objective: to assess the structural and functional state of the rat knee after modeling posttraumatic extraarticular deformation of the femur. Methods: experiment was performed in 39 white mature (6 months old) male rats. To model the deformation of varus (test group, 15 rats) after transverse osteotomy of the femur, a bent angled rod was introduced into the medullary canal, the control animal (15) was straight. The comparison group was intact rats (9) of the corresponding age and sex. After 1, 3 and 6 months. After the operation, histological examination was performed. Results: In 1 month after modeling the deformation in the articular cartilage of the knee joint, destructive changes of 1–2 degree according to OARSI were noted. In contralateral extremity, AC had a structure characteristic of the age norm. After 3 months a decrease in the width of articular cartilage (in comparison with intact group by 1.21 times,  $p < 0.01$ ), loss of glycosaminoglycans, a violation of the structure and ordering of collagen fibers, accumulation of type I collagen was established. After 6 months the most pronounced disorders were found in the cerebral cortex on the medial condyle of the deformed femur — a 1.63 fold decrease in its width compared with the intact group ( $p < 0.001$ ), in places the replacement with fibrous cartilage. Conclusions: in animals with simulated extraarticular deformation of the femur in the knee joint of the injured limb after 1 month revealed destructive changes that progressed with time. After 1 month the maximum manifestation of disorders was noted in the area of the femur surface under the patella, and after 3 and 6 months he medial condyle. In the articular cartilage of the knee joint of the contralateral limb, destructive changes were recorded 3 months after the reproduction of the deformation, but the severity of the manifestations was less. Key words: posttraumatic deformation of the femur, knee joint, rats, osteoarthritis, histological changes.*

*Цель: оценить структурно-функциональное состояние коленного сустава крыс после моделирования посттравматической внесуставной деформации бедренной кости. Методы: эксперименты выполнены на 39 белых половозрелых (возраст 6 мес.) крысах-самцах. Для моделирования деформации varus (опытная группа, 15 крыс) после поперечной остеотомии бедренной кости в костномозговой канал вводили изогнутый под углом 35° стержень, контрольным животным (15) — прямой. Группой сравнения были интактные крысы (9) соответствующего возраста и пола. Через 1, 3 и 6 мес. после операции выполнено гистологическое исследование. Результаты: через 1 мес. после моделирования деформации в суставном хряще (СХ) коленного сустава отмечены деструктивные изменения 1–2 степени по OARSI. В контралатеральной конечности СХ имел характерное для возрастной нормы строение. Через 3 мес. установлено уменьшение ширины СХ (по сравнению с интактной группой в 1,21 раза,  $p < 0,01$ ), потерю гликозаминогликанов, нарушение структуры и упорядоченности коллагеновых волокон, накопление коллагена I типа. Через 6 мес. наиболее выраженные нарушения выявлены в СХ на медиальном мыщелке деформированной бедренной кости — уменьшение его ширины по сравнению с интактной группой в 1,63 раза ( $p < 0,001$ ), местами замещение волокнистым хрящом. Выводы: у животных с моделированной внесуставной деформацией бедренной кости в СХ коленного сустава травмированной конечности через 1 мес. выявлены деструктивные изменения, которые прогрессировали со временем. Через 1 мес. максимальное проявление нарушений отмечено в зоне поверхности бедренной кости под надколенником, а через 3 и 6 мес. — медиального мыщелка. В СХ коленного сустава контралатеральной конечности деструктивные изменения зафиксированы через 3 мес. после воспроизведения деформации, однако выраженность проявлений была меньше. Ключевые слова: посттравматическая деформация бедренной кости, коленный сустав, крысы, остеоартроз, гистологические изменения.*

**Ключові слова:** післятравматична деформація стегнової кістки, колінний суглоб, щури, остеоартроз, гістологічні зміни

## Вступ

Лікування пацієнтів із післятравматичними деформаціями залишається актуальною проблемою в ортопедії і травматології, що пов'язано з її великою соціальною значущістю. Незважаючи на пильну увагу науковців та клініцистів до біології зрощення переломів, накопичений значний обсяг знань із цього питання, створення різноманітних фіксувальних пристроїв для інтрамедулярного, накісткового та позаосередкового остеосинтезу, частота ускладнень після ізольованих діафізарних переломів довгих кісток кінцівок (незрощення, уповільнена консолидація) становить від 4 до 26 % [1, 2]. Приблизно в третині випадків за наявності псевдоартрозу формуються значні ригідні діафізарні деформації.

У пацієнтів із післятравматичними позасуглобовими деформаціями на рівні стегна та гомілки відмічають порушення анатомічної осі кінцівки, вкорочення ушкодженого сегмента, зміну ходи, зменшення обсягу рухів у суглобах [3, 4]. За допомогою методу математичного моделювання встановлено, що деформація стегнової кістки на рівні середини діафіза призводить до значного підвищення рівня напружень на медіальному боці опорних поверхонь колінного суглоба та латеральних сторонах суглобових поверхонь надп'яtkово-гомількового та піднадп'яtkового суглобів [5]. У свою чергу надмірне навантаження спричинює деструктивні порушення в суглобовому хрящі [6, 7]. Практичні травматологи повідомляють про взаємозв'язок між існуванням стійких післятравматичних деформацій довгих кісток кінцівок та виникненням остеоартрозу [4, 8–11], концентруючи увагу на методах хірургічного лікування. Зазначено, що хірургічна корекція (остеотомія та інтрамедулярна фіксація) осі великогомілкової кістки сприяє покращенню функції суглобів [3]. Проте залишаються недостатньо вивченими терміни виникнення деструктивних порушень у суглобах та їх вираженість у зв'язку з величиною деформації.

*Мета роботи:* оцінити структурно-функціональний стан колінного суглоба щурів після моделювання посттравматичної деформації стегнової кістки порівняно з інтактною кінцівкою.

## Матеріал та методи

Експерименти виконано на 39 білих статевозрілих (віком 6 міс.) лабораторних щурах-самцях популяції експериментально-біологічної клініки ДУ «ПХС ім. проф. М. І. Ситенка НАМН». Проведення експериментів на тваринах схвалено ло-

кальним комітетом із біоетики (протокол № 117 від 22.04.2013) відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» та Закону України про захист тварин від жорстокого поводження» [12].

*Хірургічні втручання* виконували в асептичних умовах під загальним знеболюванням (аміназин — 10 мг/кг, кетамін — 50 мг/кг). Для моделювання деформації *varus* (дослідна група, 15 щурів) після поперечної остеотомії стегнової кістки на рівні середньої третини діафіза в кістковомозковий канал вводили фрагмент спиці Кіршнера, який відповідав розмірам каналу та довжині кістки і був вигнутий під кутом 35°, що обґрунтовано за допомогою математичного моделювання [13, 14]. Контрольним тваринам (15) після моделювання перелому в кістковомозковий канал вводили пряму спицю. Кісткові фрагменти зводили до досягнення контакту. Рану обробляли розчином антибіотика та пошарово зашивали. Евтаназію тварин здійснювали шляхом передозування ефіру через 1, 3 та 6 міс. після операції. Групою порівняння були інтактні щури (9) відповідного віку та статі.

*Рентгенологічне дослідження* виконували всім тваринам безпосередньо після хірургічного втручання, через 1, 3 та 6 міс. після нього.

Для *гістологічного дослідження* виділяли колінні суглоби обох задніх кінцівок щурів дослідної (із деформацією стегнової кістки), контрольної (із введеним прямим фіксатором) та інтактної груп. Матеріал обробляли за стандартними методиками та заливали в целюлін [15]. Виготовлені аксіальні гістологічні зрізи суглобів (по 5 із кожної тварини) забарвлювали гематоксилином Вейгерта та еозином, пікрофуксином за Ван-Гізеном. Стан сумарних глікозаміногліканів (ГАГ) у суглобовому хрящі оцінювали після реакції з толуїдиновим синім, а вміст колагенових волокон — після забарвлення піросиріусом червоним [16]. Аналізували матеріал під світловими мікроскопами «Olympus BX63» та «Olympus BX53» (у поляризованому світлі).

Зміни в структурі клітин та міжклітинної речовини в суглобовому хрящі оцінювали відповідно до загальних рекомендацій щодо визначення ступенів ураження хряща, розроблених Міжнародним товариством із дослідження остеоартрозу (Osteoarthritis Research Society International — OARSI) [17], та їх модифікації для щурів (табл. 1) [18].

*Морфометричні дослідження* суглобового хряща на рівні наколінкової поверхні та виростків

стегнової кістки виконували за допомогою програмного забезпечення «CellSens Dimension 1.8.1» для мікроскопу «Olympus BX63». Вимірювали загальну висоту суглобового хряща, висоту поверхневої, проміжної та зони кальцифікованого хряща. Проміжною (або середньою — mid) зоною вважали шар суглобового хряща від поверхневої зони до базофільної лінії (tidemark) згідно з рекомендаціями N. Gerwin і співавт. [18] щодо аналізу стану суглобового хряща у щурів, оскільки на відміну від суглобового хряща людини глибока зона в цих тварин не диференціюється.

**Статистичні дослідження.** Результати морфометричного дослідження опрацьовані за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel та подані у вигляді  $M \pm m$ . Порівняння середніх значень виконано з використанням t-критерію Стьюдента. Вірогідними відмінностями показників вважали за  $p < 0,05$ .

## Результати та їх обговорення

### 1 місяць

У кінцівці, де моделювали *деформацію*, під час гістологічного дослідження на суглобовій поверхні стегнової кістки розташовувався суглобовий хрящ, у якому чітко простежували зональність. Поверхнева зона вміщувала два шари витягнутих клітин із великими овальними гіперхромними ядрами, оточеними вузьким обідком цитоплазми. Клітини були орієнтовані довгою віссю паралельно суглобовій поверхні. Поряд із цим спостерігали помірні порушення структурної організації поверхневої зони, які проявлялися її нерівністю, різко еозинофільним забарвленням матриксу, явищами набряку, появою територій без клітин. Найбільш вираженими структурні зміни в поверхневій та проміжній зонах були на ділянці наколінкової поверхні стегнової кістки (рис. 1, а).

У проміжній зоні зафіксовано нерівномірне забарвлення матриксу, а також порушення розташування хондроцитів — ділянки з клітинами-тінями або без клітин, ізогенні групи (до 8 хондроцитів), які містилися на межі двох зон — середньої та кальцифікованого хряща, перетинаючи базофільну лінію. Вона була нечіткою, на деяких ділянках не простежувалася. У зоні кальцифікованого хряща хондроцити розташовувалися як окремо, так і в ізогенних групах від 2 до 6 клітин, поодинокі містилися в розширених капсулах, мали пікнотичні ядра та слабо забарвлену цитоплазму з дрібнозернистим вмістом (рис. 1, а). Описані структурні особливості характерні для 1–2 ступеня

уразення суглобового хряща за шкалою OARSI [17, 18].

У процесі морфометричного дослідження суглобового хряща, розташованого на наколінковій ділянці стегнової кістки з модельованою деформацією, виявлено вірогідне зниження його загальної висоти порівняно з контрольною групою тварин (прямий фіксатор) у 1,32 разу ( $p < 0,001$ ) та в 1,54 разу ( $p < 0,001$ ) порівняно з інтактною кінцівкою. Це відбувалося переважно через звуження середньої зони — в 1,47 та 1,88 разу ( $p < 0,001$ ) відповідно (табл. 2), що ймовірно пов'язано з порушенням біосинтетичної активності хондроцитів. За повідомленням дослідників [19], як надлишкове, так і недостатнє навантаження спричинює порушення метаболічної активності хондроцитів, що було доведено в тривимірних культурах хондрогенних клітин.

У суглобовому хрящі, який покривав медіальний виросток стегнової кістки, не виявлено деструктивних порушень, за винятком потовщення поверхневої зони. Проте його загальна ширина була меншою в 1,21 разу порівняно з контралатеральною кінцівкою, в 1,19 — із кінцівкою, де встановлено прямий фіксатор, в 1,24 — з інтактною ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

У *контралатеральній кінцівці* поверхнева зона суглобової поверхні була рівномірною по всій довжині та мала характерну для норми будову. Хондроцити середньої зони містилися в лакунах, у суміжних із поверхневою зоною шарах утворювали ізогенні групи (до 4 клітин). Ядра в хондроцитах середньої зони були круглими, розташовувалися в центрі цитоплазми, містили поодинокі ядерця. У помірно еозинофільній цитоплазмі відмічали вакуолі. Базофільна лінія визначалася уздовж усієї суглобової поверхні, але була слабо вираженою. Кальцифікований хрящ мав нерівномірну товщину, проте характерну будову (рис. 1, б). Аналогічні структурні зміни виявлено в суглобовому хрящі на виростках стегнової кістки.

У тварин *контрольної групи*, яким після остеотомії стегнову кістку стабілізували прямим інтрамедулярним фіксатором, як і в *інтактних*, суглобові поверхні зберігали конгруентність. Усі зони суглобового хряща на стегновій кістці чітко візуалізували.

У поверхневій зоні суглобового хряща прооперованої стегнової кістки щурів *контрольної* групи відмічено помірний набряк, насичено еозинофільне забарвлення матриксу, хондроцити розташовувалися в один шар, що за шкалою OARSI [17, 18] належить до 1 ступеня ураження суглобового хряща (табл. 1).

**Таблиця 1**  
**Шкала OARSI для оцінювання дегенеративних змін у суглобовому хрящі**

| Ступінь ураження суглобового хряща | Характеристика дегенеративних змін                 |
|------------------------------------|--|
| 0                                  | Немає  |
| 1                                  | Мінімальні: втрата 5–10 % матриксу або хондроцитів |
| 2                                  | Помірні: 11–25 %                                   |
| 3                                  | Середні: 26–50 %                                   |
| 4                                  | Виражені: 51–75 %                                  |
| 5                                  | Тяжкі: понад 75 %                                  |

Решта досліджуваних зон (середня та кальцифікованого хряща) мали аналогічну інтактним щурам структуру.

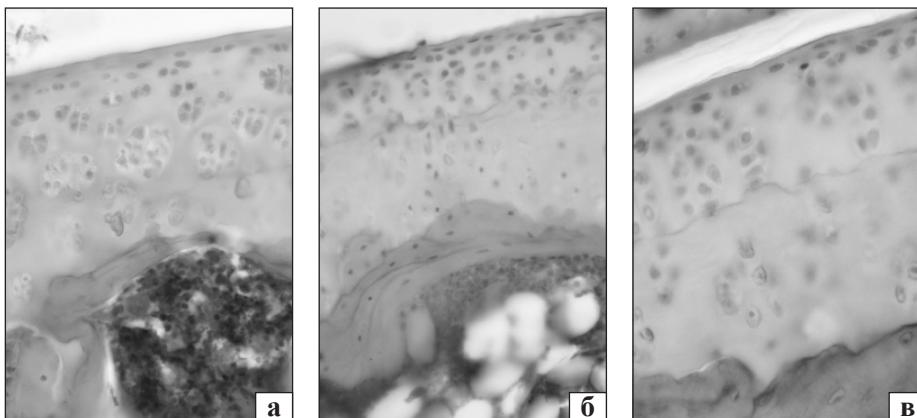
*Інтактні тварини.* У поверхневій зоні витягнуті клітини розташовувалися у 2–3 шари, довгою віссю вздовж суглобової поверхні, містили великі овальні гіперхромні ядра з тонким обідком цитоплазми. Міжклітинний матрикс характеризувався рівномірним слабко еозинофільним забарвленням. У середній зоні поблизу поверхневої відмічено формування ізогенних груп хондроцитів — від 2 до 4. У глибших шарах клітини розташовувалися в колонках. Базофільна лінія візуалізувалася на всій довжині суглобової поверхні. Зона кальцифікованого хряща містила хондроцити в розширених капсулах, розташовані на відстані один від одного. Такі клітини мали гіперхромні ядра, які оточувала пузирчаста цитоплазма. Ближче до фронту мінералізації хондроцити мали пікнотичні ядра із слабко контурованою цитоплазмою. Місцями спостерігали кровоносні судини, які проникали в кальцифікований хрящ із субхондральної кістки (рис. 1, в). Описані структурні особливості суглобового хряща можна розцінювати характерними для вікової норми щурів (7 міс.).

### 3 місяці

У суглобовому хрящі наколінкової поверхні стегнової кістки з *модельованою деформацією* спостерігали подальше прогресування дегенеративних змін. Матрикс розширеної поверхневої зони був забарвлений еозинофільно, клітини в ньому розташовувалися рідко, переважно на межі з середньою зоною, мали пікнотичні ядра. У середній зоні гістоархітекtonіка була порушеною — зону колонок майже не простежували, а ізогенні групи хондроцитів розташовувалися хаотично. Деякі капсули були пустими або містили клітинний детрит.

Після реакції з пікросиріусом червоним у поляризованому світлі в поверхневій та проміжній зонах спостерігали збільшення червоного світіння, що свідчить про накопичення колагену I типу та редукцію колагену II типу. Рефракція колагенових волокон виявилася нерівномірною — від яскравої до повної відсутності на деяких територіях у звуженій середній зоні, що відображує порушення молекулярної структури колагенових волокон та їх упорядкованості, притаманній суглобовому хрящу (рис. 2, а). Після забарвлення толуїдиновим синім відмічали нерівномірне зниження метахромазії, що відповідає зниженню вмісту ГАГ. Аналогічні результати одержані L. Wei і співавт. [20], які моделювали різке підвищення навантаження на колінний суглоб морських свинок шляхом ампутації нижче коліна контралатеральної кінцівки. Автори зафіксували зменшення вмісту колагену та ГАГ у суглобовому хрящі на виростках великогомілкової кістки.

Базофільна лінія на всій території суглобового хряща була нерівномірною — на ділянках переривчастою, подекуди подвійною або потрійною. У зоні кальцифікованого хряща відмічали території без хондроцитів, нерівномірне забарвлення та розтріскування матриксу.



**Рис. 1.** Мікрофото. Суглобовий хрящ наколінкової поверхні стегнової кістки щура через 1 міс. після операції: а) кінцівка з деформацією. Набряк у поверхневій зоні, утворення ізогенних груп у середній, нечітка базофільна лінія, нерівномірне забарвлення матриксу; б) контралатеральна кінцівка. Слабка еозинофілія поверхневої зони; в) кінцівка інтактної тварини. Гематоксилін та еозин. Зб. 400

Зафіксовані зміни в структурній організації суглобового хряща можна розцінювати як 2–3 ступінь ураження за шкалою OARSI [17, 18].

Суглобовий хрящ наколінкової поверхні контра-латеральної кінцівки також набув змін, проте вони були менш вираженими порівняно з деформованою кінцівкою. У поверхневій зоні клітини розташовувалися у 2 шари. У середній зоні майже на всій території спостерігали збереження колонкової структури разом із появою території без клітин та великих ізогенних груп хондроцитів. Під час дослідження колагенових волокон у поляризованому світлі після забарвлення пікосиріусом червоним виявляли нерівномірну рефракцію колагену I типу в поверхневій зоні, у середній зоні переважним був колаген II типу, проте відмічали території з колагеном I типу (звичай, навколо капсул хондроцитів) (рис. 2, б). Аналогічні порушення організації хрящового матриксу спостерігали Zhou Q. і співавт. [21] у контралатеральному колінному суглобі кролів через 4 та 8 тижнів після моделювання остеоартрозу шляхом іммобілізації кінцівки. Автори відзначили, що остеоартрозні зміни прогресували зі збільшенням терміну іммобілізації в колінних суглобах обох кінцівок.

Незважаючи на чітку візуалізацію зон суглобового хряща наколінкової поверхні в обох кінцівках, на відміну від контрольної та інтактної груп, виявлено порушення їх співвідношення: ширина середньої зони була меншою порівняно із зоною кальцифікованого хряща з боку моделювання деформації у 2,29 разу ( $p < 0,001$ ), із контралатерального — у 2,04 разу ( $p < 0,001$ ). Загальна ширина суглобового хряща в цій ділянці з боку деформації була зменшеною в 1,21 разу ( $p < 0,01$ ) порівняно з інтактною групою, в 1,13 разу — порівняно з контрольною ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Суглобовий хрящ на виростках стегнової кістки кінцівки з деформацією мав структуру, аналогічну описаній у відповідній наколінковій поверхні. Проте слід зазначити, що більш виражені деструктивні порушення виявлені на медіальному виростку, що проявлялося його потоншенням, порушенням гістоархітектоніки та заміщенням колагену II типу, про що свідчить підсилення червоного світіння в поляризованому світлі після забарвлення пікосиріусом червоним.

Описані зміни в структурі суглобового хряща можна віднести до 1–2 ступеня ураження за шкалою OARSI [17, 18].

У тварин *контрольної групи*, яким після остеотомії встановлювали прямий фіксатор, суглобові

поверхні зберігали конгруентність. У суглобовому хрящі, який покривав стегнову кістку, чітко простежувалася зональність. У поверхневій зоні суглобового хряща відмічено ознаки набряку. Клітини розташовувалися нерівномірно та містили пікнотичні ядра. У середній зоні виявлено порушення гістоархітектоніки, а саме: візуалізували хаотичні поодинокі хондроцити або в ізогенних групах від 2 до 6 клітин, щільність їх була неоднаковою по території хряща; матрикс забарвлювався нерівномірно — від базофільного (переважно перицелюлярного) до різко еозинофільного. Подекуди спостерігали пусті капсули та невеличкі території слабко базофільного матриксу без клітин. Базофільна лінія була переривчастою, на ділянках — подвійною. Зона кальцифікованого хряща мала характерну будову.

Під час аналізу колагенових волокон у поляризованому світлі після забарвлення пікосиріусом червоним виявлено зниження їх рефракції у поверхневій зоні та нерівномірність — у середній. Переважним типом колагену виявився II, проте відмічено появу колагену I типу. Аналіз суглобового хряща після реакції з толуїдиновим синім виявив нерівномірне метахроматичне забарвлення.

Описані зміни в структурі суглобового хряща можна віднести до 1–2 ступеня ураження за шкалою OARSI [17, 18].

У поверхневій зоні суглобового хряща *інтактної кінцівки* на цей термін експерименту також спостерігали редукцію клітин — вони розташовувалися одним шаром на значній відстані одна від одної. У середній зоні щільність хондроцитів була рівномірною, вони утворювали капсули. Відмічено збереження зони ізогенних груп (2–4 клітин) та колонок. Базофільна лінія візуалізувалася на всій довжині суглобової поверхні, місцями була потовщеною. Зона кальцифікованого хряща мала структуру, аналогічну до описаної на попередньому терміні дослідження.

У процесі аналізу колагенових волокон у поляризованому світлі встановлено яскраву рефракцію в поверхневій зоні, а в середній — нерівномірну. На межі середньої та поверхневої зон інтенсивність рефракції колагенових волокон була зниженою. На більшій території екстрацелюлярного матриксу та в капсулах хондроцитів виявлено колаген II типу. Подекуди в перицелюлярному матриксі відмічали тонкі колагенові волокна, на що вказував зеленкуватий колір світіння.

Таблиця 2

## Ширина (мкм) зон суглобового хряща дистального відділу стегнової кістки в різних групах тварин

| Зона суглобового хряща | Термін, міс. | Група тварин                   |                              |                           |                |
|------------------------|--------------|--------------------------------|------------------------------|---------------------------|----------------|
|                        |              | Дослідна кінцівка              |                              | контрольна                | інтактна       |
|                        |              | деформована                    | контралатеральна             |                           |                |
|                        |              | Наколінкова поверхня           |                              |                           |                |
| Поверхнева             | 1            | 16,30 ± 0,93                   | 12,59 ± 0,93                 | 20,15 ± 1,03              | 14,93 ± 0,48   |
| Середня                |              | 92,54 ± 4,98 <sup>1,2</sup>    | 99,77 ± 4,93 <sup>1,2</sup>  | 136,52 ± 3,39             | 174,63 ± 10,12 |
| Кальцифікованого       |              | 72,12 ± 4,20                   | 84,64 ± 7,25                 | 82,06 ± 4,27              | 88,20 ± 4,92   |
| Загальна               |              | 180,96 ± 6,98 <sup>1,2,3</sup> | 196,98 ± 8,41 <sup>1,2</sup> | 238,73 ± 5,08             | 278,56 ± 11,69 |
|                        |              | Медіальний виросток            |                              |                           |                |
| Поверхнева             | 1            | 15,23 ± 1,74                   | 15,23 ± 0,82 <sup>1,2</sup>  | 11,98 ± 0,81              | 12,42 ± 0,35   |
| Середня                |              | 69,84 ± 7,62 <sup>1,3</sup>    | 95,92 ± 5,12                 | 83,81 ± 6,60              | 92,46 ± 3,34   |
| Кальцифікованого       |              | 56,16 ± 2,46 <sup>1,2</sup>    | 54,32 ± 3,77 <sup>1,2</sup>  | 67,91 ± 4,08              | 64,94 ± 1,70   |
| Загальна               |              | 136,98 ± 9,56 <sup>1,2,3</sup> | 165,47 ± 7,99                | 162,93 ± 9,12             | 169,82 ± 3,82  |
|                        |              | Наколінкова поверхня           |                              |                           |                |
| Поверхнева             | 3            | 10,53 ± 0,38 <sup>1,2,3</sup>  | 12,89 ± 0,54                 | 12,58 ± 0,85              | 12,95 ± 0,57   |
| Середня                |              | 44,15 ± 1,82 <sup>1,2,3</sup>  | 51,81 ± 2,38 <sup>1,2</sup>  | 91,24 ± 5,95 <sup>1</sup> | 124,02 ± 8,57  |
| Кальцифікованого       |              | 101,20 ± 3,5 <sup>1,2</sup>    | 105,55 ± 5,73 <sup>1,2</sup> | 73,16 ± 2,95 <sup>1</sup> | 51,43 ± 2,70   |
| Загальна               |              | 155,87 ± 4,41 <sup>1,2</sup>   | 170,25 ± 6,15                | 176,98 ± 6,57             | 188,39 ± 8,14  |
|                        |              | Медіальний виросток            |                              |                           |                |
| Поверхнева             | 3            | 8,15 ± 0,33 <sup>1,2,3</sup>   | 12,64 ± 0,45 <sup>2</sup>    | 10,37 ± 0,40 <sup>1</sup> | 12,57 ± 0,43   |
| Середня                |              | 43,69 ± 2,99 <sup>1,2</sup>    | 47,46 ± 4,23 <sup>1,2</sup>  | 77,68 ± 3,09 <sup>1</sup> | 96,52 ± 3,49   |
| Кальцифікованого       |              | 88,72 ± 5,75 <sup>1,2</sup>    | 86,88 ± 10,09 <sup>1,2</sup> | 56,84 ± 3,769             | 59,12 ± 1,89   |
| Загальна               |              | 140,56 ± 7,03 <sup>1</sup>     | 146,98 ± 13,30               | 144,89 ± 5,08             | 168,21 ± 3,14  |
|                        |              | Наколінкова поверхня           |                              |                           |                |
| Поверхнева             | 6            | 9,05 ± 0,34 <sup>1,2,3</sup>   | 11,24 ± 0,26                 | 12,60 ± 0,84              | 11,44 ± 0,46   |
| Середня                |              | 61,22 ± 3,75 <sup>1,2</sup>    | 61,87 ± 2,44 <sup>1,2</sup>  | 77,97 ± 3,45              | 95,50 ± 8,16   |
| Кальцифікованого       |              | 81,12 ± 3,48                   | 92,24 ± 2,56                 | 66,36 ± 3,13              | 73,04 ± 2,96   |
| Загальна               |              | 151,39 ± 3,37 <sup>1,3</sup>   | 165,35 ± 2,48                | 156,93 ± 6,31             | 179,98 ± 10,81 |
|                        |              | Медіальний виросток            |                              |                           |                |
| Поверхнева             | 6            | 5,89 ± 0,34 <sup>1,2,3</sup>   | 11,62 ± 0,49                 | 10,83 ± 0,47              | 10,65 ± 0,30   |
| Середня                |              | 41,95 ± 3,74 <sup>1,2,3</sup>  | 60,21 ± 3,60 <sup>1,2</sup>  | 76,97 ± 6,45 <sup>1</sup> | 99,03 ± 3,94   |
| Кальцифікованого       |              | 55,63 ± 3,07 <sup>2,3</sup>    | 78,15 ± 3,73 <sup>1,2</sup>  | 65,42 ± 3,55              | 59,33 ± 2,14   |
| Загальна               |              | 103,47 ± 6,71 <sup>1,2,3</sup> | 149,98 ± 6,45 <sup>1</sup>   | 153,21 ± 8,03             | 169,02 ± 5,37  |

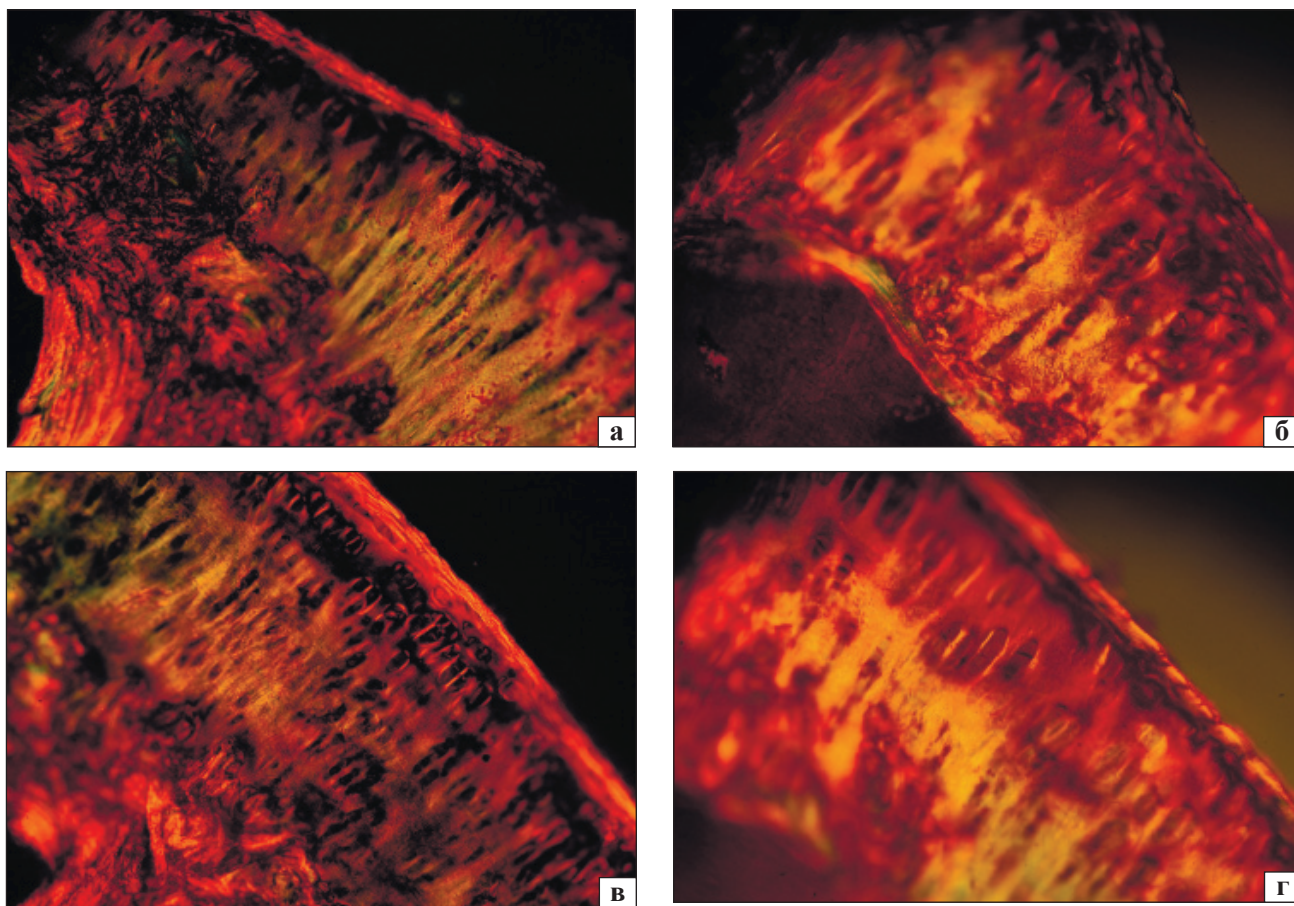
Примітки: <sup>1</sup> — вірогідні відмінності порівняно з інтактною групою; <sup>2</sup> — із контрольною; <sup>3</sup> — із контралатеральною кінцівкою.

Описані структурні особливості суглобового хряща можна віднести до 0–1 ступеня ураження за шкалою OARSI [17, 18], проте, імовірно, вони є характерними для вікової норми щурів (9 міс.).

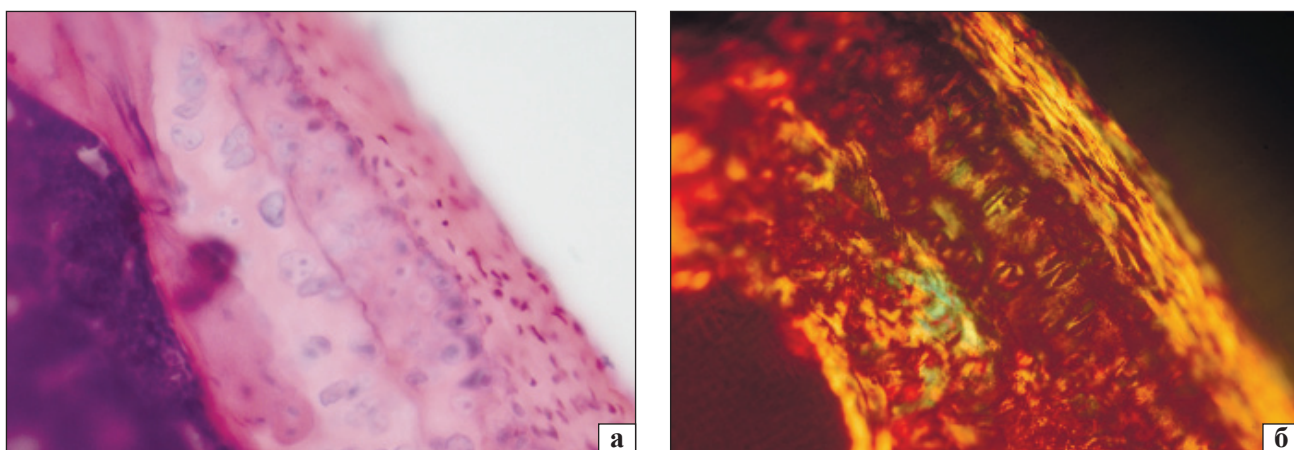
#### 6 місяців

Виявлено подальше посилення деструктивних змін суглобового хряща, який вкривав дистальний кінець стегнової кістки з *модельованою деформацією*. Найбільш виражені порушення визначено в суглобовому покритті медіального

виростка. Вони проявлялися формуванням широкого шару волокнистого хряща, представленого пучками колагенових волокон та клітинами фібробластичного диферону, на місці поверхневої зони й частково — середньої (рис. 3, а). Колагенові волокна виявляли яскраву рефракцію в поляризованому світлі, були представлені переважно колагеном III типу. У глибших шарах суглобового хряща рефракція колагенових волокон була зниженою, іноді — відсутньою, що свідчить



**Рис. 2.** Мікрофото суглобового хряща наколінкової поверхні стегнової кістки щура через 3 міс. після операції: а) моделювання деформації, нерівномірна рефракція колагенових волокон; б) контралатеральна кінцівка, збільшення вмісту колагену І типу; в) контроль, зниження рефракції в поверхневій зоні, нерівномірність — у середній; г) інтакт, яскрава рефракція поверхневої зони. Пікосириус червоний, поляризоване світло. Зб. 400



**Рис. 3.** Мікрофото суглобового хряща медіального виростка стегнової кістки щура через 6 міс. після моделювання деформації: а) волокнистий хрящ, гематоксилін та еозин; б) яскрава рефракція колагенових волокон у волокнистому хрящі, знижена — у глибших шарах, пікосириус червоний, поляризоване світло. Зб. 400

про порушення структури та упорядкованості колагенових волокон (рис. 3, б).

Загальна ширина суглобового хряща на медіальному виростку була зменшена порівняно з відповідною ділянкою контралатеральної кінцівки

в 1,45 разу ( $p < 0,001$ ), кінцівки з прямим фіксатором — в 1,48 разу ( $p < 0,001$ ), інтактних тварин — в 1,63 разу ( $p < 0,001$ ). Зафіксовані структурні порушення суглобового хряща можна класифікувати як 3–4 ступінь ураження за шкалою OARSI [17, 18].

Таким чином, у результаті гістологічного аналізу встановлено, що внаслідок моделювання позасуглобової деформації стегнової кістки в суглобовому хрящі колінного суглоба вже через 1 міс. виникають деструктивні зміни, які проявляються набуханням поверхневої зони, зменшенням кількості клітин, порушенням цитоархітекtonіки середньої зони. У контралатеральній кінцівці суглобовий хрящ зберігав характерну для вікової норми будову.

Через 3 міс. деструктивні порушення в суглобовому хрящі колінного суглоба кінцівки з модельованою деформацією прогресували, що відображувалося зменшенням його ширини, втратою ГАГ та порушенням упорядкованості колагенових волокон, накопиченням колагену III типу. Виявлені порушення були виражені по-різному, залежно від відділів суглобової поверхні: через 1 міс. максимальний прояв порушень відмічено в зоні наколінкової поверхні стегнової кістки, а через 3 міс. — на медіальному виростку. Деструктивні зміни спостерігали й у суглобовому хрящі контралатеральної кінцівки.

У інтактних тварин за період спостереження також зафіксовані порушення структурної організації суглобового хряща, пов'язані з віком.

Через 6 міс. після моделювання деформації внаслідок подальшого розвитку деструктивних порушень у суглобовому хрящі зафіксовано його заміщення волокнистим хрящем на медіальному виростку стегнової кістки.

## Висновки

У тварин із модельованою позасуглобовою деформацією стегнової кістки в суглобовому хрящі колінного суглоба ушкоджені кінцівки вже через 1 міс. виникають деструктивні зміни (розшарування поверхневої зони, зменшення кількості клітин, порушення гістоархітекtonіки), які прогресують із перебігом часу. Через 3 міс. встановлено зменшення ширини, а також втрату глікозаміногліканів, порушення структури й упорядкованості колагенових волокон, накопичення колагену I типу в суглобовому хрящі колінного суглоба. Через 1 міс. максимальний прояв порушень відмічено в зоні наколінкової поверхні стегнової кістки, а через 3 та 6 міс. — медіального виростка.

Встановлено, що модельована позасуглобова деформація стегнової кістки щурів негативно впливає на стан суглобового хряща колінного суглоба контралатеральної кінцівки, деструктивні зміни в якому зафіксовані через 3 міс. після від-

творення деформації, проте вираженість проявів була меншою.

**Конфлікт інтересів.** Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

## Список літератури

1. The role stem cells in fracture healing and nonunion / C. Y. Fayaz, C. V. Giannoudis, M. S. Vrahas [et al.] // *Int. Orthop.* — 2011. — Vol. 35. — P. 1586–1597. — DOI: 10.1007/s00264-011-1338-z.
2. Попсуйшапка А. К. Частота несращения и замедленного сращения отломков при изолированных диафизарных переломах длинных костей конечностей / А. К. Попсуйшапка, О. Е. Ужегова, В. А. Литвишко // *Ортопедия, травматология и протезирование.* — 2013. — № 1. — С. 39–43. — DOI: 10.15674/0030-59872013139-43.
3. Improved function and joint kinematics after correction of tibial malalignment / J. Engsborg, S. Leduc, W. Ricci, J. Borrelli Jr. // *Am. J. Orthop.* — 2014. — Vol. 43 (12). — P. E313–E318.
4. Marti R. K. Osteotomies for posttraumatic deformities / R. K. Marti, R. J. van Heerwaarden. — Georg Thieme Verlag, 2008. — 704 p.
5. Математичне моделювання впливу деформації стегнової кістки на навантаження суглобів нижньої кінцівки / М. О. Корж, К. К. Романенко, М. Ю. Карпінський [та ін.] // *Ортопедия, травматология и протезирование.* — 2015. — № 4. — С. 25–30. — DOI: 10.15674/0030-59872015425-30.
6. Bader D. L. Biomechanical influence of cartilage homeostasis in health and disease / D. L. Bader, D. M. Salter, T. T. Chowdhury // *Arthritis.* — 2011. — Vol. 2011. — Article 979032. — DOI: 10.1155/2011/979032.
7. Buckwalter J. A. Perspectives on chondrocyte mechanobiology and osteoarthritis / J. A. Buckwalter, J. A. Martin, T. D. Brown // *Biorheology.* — 2006. — Vol. 43. — P. 603–609.
8. Fan C. H. One-stage femoral osteotomy and computer-assisted navigation total knee arthroplasty for osteoarthritis in a patient with femoral subtrochanteric fracture malunion / C. H. Jason Fan // *Case Rep. Orthop.* — 2014. — Vol. 2014. — Article 645927. — DOI: 10.1155/2014/645927.
9. Lonner J. H. Simultaneous femoral osteotomy and total knee arthroplasty for treatment of osteoarthritis associated with severe extra-articular deformity / J. H. Lonner, J. M. Siliski, P. A. Lotke // *J. Bone Joint Surg. Am.* — 2000. — Vol. 82 (3). — P. 342–348.
10. Total knee arthroplasty for osteoarthritis secondary to extra-articular malunions / G. Deschamps, F. Khiami, Y. Catonne [et al.] // *Orthop. Traumatol. Surg. Res.* — 2010. — Vol. 96 (8). — P. 849–855. — DOI: 10.1016/j.otsr.2010.06.010.
11. Xiao-Gang Z. One-stage total knee arthroplasty for patients with osteoarthritis of the knee and extra-articular deformity / Z. Xiao-Gang, K. Shahzad, C. Li // *Int. Orthop.* — 2012. — Vol. 36 (12). — P. 2457–2463. — DOI: 10.1007/s00264-012-1695-2.
12. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Страсбург, 18 березня 1986 року: офіційний переклад [Електронний ресурс] / Верховна Рада України. — Офіц. веб-сайт. — (Міжнародний документ Ради Європи). — Режим доступу до документа: [http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994\\_137](http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137).
13. Способи моделювання діафізарних деформацій стегнової кістки щурів / М. О. Корж, К. К. Романенко, Н. О. Ашукіна [та ін.] // *Ортопедия, травматология и протезирование.* — 2010. — № 1. — С. 76–79. — DOI: 10.15674/0030-59872010176-79.
14. Математичне моделювання діафізарних деформацій довгих кісток / О. А. Тяжелов, Н. Ю. Полетаєва, К. К. Романенко [та ін.] // *Ортопедия, травматология и протезирование.* — 2010. — № 3. — С. 61–63.



15. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. — М. : Медицина, 1996. — 542 с.
16. Принципы поляризационно-оптического анализа в изучении соединительной ткани / М. Керн, Л. Модис, Н. В. Дедух [и др.] // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1985. — Т. 88, № 6. — С. 5–12.
17. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging / K. P. H. Pritzker, S. Gay, S. A. Jimenez [et al.] // Osteoarthritis and Cartilage. — 2006. — Vol. 14. — P. 13–29. — DOI: 10.1016/j.joca.2005.07.014.
18. The OARSI histopathology initiative — recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat / N. Gerwin, A. M. Bendele, S. Glasson, C. S. Carlson // Osteoarthritis and Cartilage. — 2010. — Suppl. 3. — P. S24–S34. — DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.030.
19. Biomechanical thresholds regulate inflammation through the NF-kappaB pathway: experiments and modeling / J. Nam, B. D. Aguda, B. Rath, S. Agarwal // PLoS One. — 2009. — Vol. 4 (4). — Article e5262. — DOI: 10.1371/journal.pone.0005262.
20. Effect of load on articular cartilage matrix and the development of guinea-pig osteoarthritis / L. Wei, A. Hjerpe, B. H. Brismar, O. Svensson // Osteoarthritis Cartilage. — 2001. — Vol. 9. — P. 447–453.
21. Cartilage matrix changes in contralateral mobile knees in a rabbit model of osteoarthritis induced by immobilization / Q. Zhou, B. Wei, S. Liu [et al.] // BMC Musculoskeletal Disorders. — 2015. — Vol. 16. — Article 224. — DOI: 10.1186/s12891-015-0679-y.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872017163-71>

Стаття надійшла до редакції 16.02.2017

## MORPHOLOGY OF THE ARTICULAR CARTILAGE OF THE KNEE JOINT IN RATS WITH EXTRAARTICULAR FEMORAL BONE DEFORMITY

K. K. Romanenko<sup>1</sup>, N. O. Ashukina<sup>2</sup>, I. O. Batura<sup>2</sup>, D. V. Prozorovsky<sup>2</sup><sup>1</sup> Kharkiv Medical Academy for Postgraduate Education of the Ministry of Health of Ukraine<sup>2</sup> Sytenko Institute of Spine and Joint Pathology, Kharkiv, Ukraine✉ Nataliya Ashukina, Candidate in Biol. Sci., PhD: [n\\_ashukina@mail.ru](mailto:n_ashukina@mail.ru)

### ВНИМАНИЮ АВТОРОВ

В связи с тем, что журнал внесен в Перечень научных специализированных изданий, в которых могут публиковаться результаты диссертационных работ, обращаем ваше внимание на необходимость указывать на титульном листе статьи на трех языках (рус., укр., англ.) следующие сведения: 1) фамилию, имя, отчество; 2) название статьи; 3) официальное название учреждения и отдела (кафедры, лаборатории), в котором выполнена работа. Фамилия автора и учреждение, в котором он(она) работает, должны сопровождаться одним цифровым индексом.

Кроме того, на отдельном листе просим предоставить сведения о каждом из авторов: 1) фамилию, имя и отчество; 2) должность; 3) полный почтовый служебный адрес и e-mail; 4) номер служебного телефона и факса. Необходимо указать контактное лицо.

При подготовке статьи следует соблюдать правила для авторов, публикуемые в журнале и на сайте [otp-journal.com.ua](http://otp-journal.com.ua).