

Шановні читачі! У рубриці „Методологія наукових досліджень” редакція продовжує публікацію матеріалів, що пов’язані з найважливішими аспектами наукової діяльності: організаційно-методичним забезпеченням наукових видань, загальними принципами статистичного, біометричного і математичного супроводження досліджень, а також оригінальними методичними підходами вітчизняних і зарубіжних морфологів.

С.О.Мостовой¹
О.В.Остапенко²

¹ ГУ Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского, г. Симферополь

² Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, г. Киев

Ключевые слова: метаэпифизарная пластинка, памиред, хондродистрофия.

Надійшла: 25.03.2013

Прийнята: 07.05.2013

УДК: 616.061-009.7:612.08:616.71-007.15:616.718.4:615.363

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ХОНДРОДИСТРОФИИ БОЛЬШИХ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ, ВЫЗВАННОЙ ПЕРЕДОЗИРОВКОЙ БИФОСФОНАТАМИ

Резюме. В статье представлены результаты воздействия высоких доз препарата аминобифосфонатной группы «Памиред» на состояние метаэпифизарной пластинки длинных трубчатых костей, с целью моделирования и изучения особенностей поражения морфоструктуры органа бифосфонатами. Исследование проведено на 48-ми 6-и месячных лабораторных белых крысах самцах массой тела 120-150 г. Производили забор плечевых, бедренных и большеберцовых костей, которые и послужили объектом изучения. Материал был изучен с помощью метода световой микроскопии. Качественную оценку степени поражения исследуемых тканей проводили на бинокулярном микроскопе с фотографической насадкой «Canon» с увеличением 100, 800. Описаны процессы кальцификации и дегидратации протекающие в хрящевом матриксе на фоне передозировки препарата, которые приводят к снижению пролиферативной способности хондроцитов, неравномерной ширине пластинки роста и утрате зональности. Показаны качественные признаки нарушения гистоархитектоники на микроскопическом уровне, которые могут быть использованы, как одна из моделей хондродистрофии.

Морфологія. – 2013. – Т. VII, № 2. – С. 98-101.

© С.О.Мостовой, О.В.Остапенко, 2013

Mostovoy S.O., Ostapenko O.V. Experimental model for chondrodystrophy of large bones caused by an overdose of bisphosphonates.

Summary. The results of the influence of high doses of aminobisphosphate "Pamired" on condition of metaepiphysate plates of long bones. The aim of investigation is to simulate and study the characteristics of lesions the morphostructure of organ with bisphosphonates. 48 laboratory rats at the age of 6 month were used during the investigation. The weight was about 120-150g. Femoral, humeral and tibial bones were studied with light microscopy. Degree of damage were studied with binocular microscope and photo nozzle "Canon" with enlargement 100, 800. Processes of calcification and dehydration of cartilage caused by overdosing of remedy are shown. It lead to decrease in capacity of proliferation of chondrocytes, non-uniform width of growth plate and loss of zones. Qualitative variations at the microscopic level, which can be used as one of the models chondrodystrophy are shown.

Key words: metaepiphysate plate, pamired, chondrodystrophy.

Введение

Экспериментальное моделирование патологических процессов играет большую роль в изучении механизмов развития различных заболеваний. Цель таких экспериментов – создать искусственную болезнь с последующим проведением на ней экспериментальных исследований

по влияния различных терапевтических методик и средств на течение болезни. Следует сказать, что любая экспериментальная модель патологии не исчерпывает всей сложности патогенетических связей, метаболических и функциональных нарушений, возникающих при этом заболевании.

Вместе с тем, экспериментальные модели имеют тройное значение: во-первых, экспериментальное воспроизведение патологии в модели позволяет говорить о существовании определенного патогенетического пути развития данной патологии; во-вторых, в условиях экспериментальной модели исследователь может, используя современные методы, изучать молекулярные, клеточные и системные изменения, что невозможно при клиническом исследовании пациента, и, наконец, в-третьих, экспериментальная модель патологического состояния является важным объектом для оценки терапевтических возможностей лекарственных препаратов при данном виде патологии. Все это доказывает важность и необходимость воспроизведения в экспериментальной модели столь распространенного заболевания, каким является остеопороз, а также побочных эффектов вызываемых препаратами для его лечения в частности, таких как бифосфонаты.

В настоящее время работ, посвященных проблеме создания моделей для изучения морфоструктурных изменений в зонах роста трубчатых костей при передозировке бифосфонатов (аминобифосфонатов), практически нет.

Поэтому целью нашей работы было изучить возможные морфологические изменения, возникающие в зонах роста трубчатых костей, у лабораторных белых крыс на фоне передозировки бифосфонатом (Памиред).

Материалы и методы

Исследование проведено на 48-ми 6-и месячных лабораторных белых крысах-самцах массой тела 120-150 г, которые были разделены на две группы животных по 24 в каждой:

I группа контрольная – животные, которые для создания равноценных условий опыта на протяжении 3-х месяцев производилось ежедневное внутрибрюшинное введение дистиллированной воды в количестве 1мл;

II экспериментальную группу составили животные, которые на протяжении всего экспериментального периода получали ежедневные внутрибрюшинные инъекции препарата «Памиред» в дозе 70 мг/кг.

Продолжительность опыта, суммарная доза препарата и само лекарственное вещество бифосфонатной группы выбраны эмпирически с учётом того, что в литературе отсутствуют достоверные данные о степени токсичности препарата, длительности его использования, и основаны на возникновении клинических симптомов и лабораторных анализах. Следует отметить, что инструкции по применению бифосфонатов, лишь незначительно отличаются для каждого из них (Мороз В.А., Ланько Л.Г., 2009). В тоже время прогнозы и терапевтический эффект воздействия бифосфонатов сильно варьируют (D'Agati V.D. et al.; 2004 Hauser P. et al., 2009).

Содержание и кормление животных осуществлялось в соответствии с научно-практическими рекомендациями по содержанию лабораторных животных (Кожем'якін Ю. М. та співавт., 2002). Животных выводили из эксперимента путём декапитации под эфирным наркозом.

Производили забор плечевых, бедренных и большеберцовых костей, которые и послужили объектом изучения. Материал был изучен с помощью метода световой микроскопии. С целью гистологического исследования выделяли фрагменты костей из участков дистальных эпифизов и середины диафиза. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Декальцинацию проводили в 5% растворе муравьиной кислоты, обезвоживание – в спиртах восходящей концентрации, макропрепараты пропитанные парафином прикреплялись к деревянным блокам. Приготавливали микропрепараты на санном микротоме МС-2 толщиной 8-10 мкм и помещали на предметные стёкла. Окрашивание производили гематоксилином и эозином. Качественную оценку степени поражения исследуемых тканей проводили на бинокулярном микроскопе с фотографической насадкой «Canon» с увеличением $\times 100, \times 800$.

Результаты и их обсуждение

В метаэпифизарных пластинках исследуемых образцов экспериментальной группы животных определяется выраженная базофилия, которая в отдельных интертерриториальных участках становится более базофильной (приобретает интенсивную темно-фиолетовую окраску), что в корне отличается от окраски метаэпифизарной пластинки контрольной группы животных, где участки умеренной базофилии отмечаются только в области изогенных групп клеток.

Это позволяет предположить выраженные процессы кальцификации и дегидратации хрящевого матрикса, что в свою очередь сказывается на снижении пролиферативной способности хондроцитов, неравномерной ширине пластинки роста и утрате зональности. Таким образом, классическое расположение зон, а именно: зоны индифферентного хряща, зоны пролиферации, зоны дефинитивного хряща, зоны деструкции, и зоны первичного остеогенеза (Ковешников В.Г. и соавт., 2000) характеризующие клеточный пул метаэпифизарной пластинки контрольной группы, у животных экспериментальной группы деструктурированы.

Нарушение гистоархитектоники проявляется в отсутствие или значительном сужении в отдельных участках зоны пролиферации и зоны дефинитивных хондроцитов, что приводит к тому, что зона индифферентных клеток практически сразу переходит в зону деструкции. Таким образом, клеточный хондробластический пул представлен в основном пузырьчатыми клетками. Отмечается значительное расширение зоны пер-

вичной спонгиозы, которая со стороны метафиза представлена кальцифицированными участками хряща, имеющего трабекулярную структуру, которая смещаясь ближе к диафизу подвержена интенсивной осификации с формированием примитивных оксифильных утолщённых трабекул. Следует отметить наличие остатков хрящевых элементов в зоне диафиза в области удаленной от метаэпифизарной пластинки (рис. 1, 2).

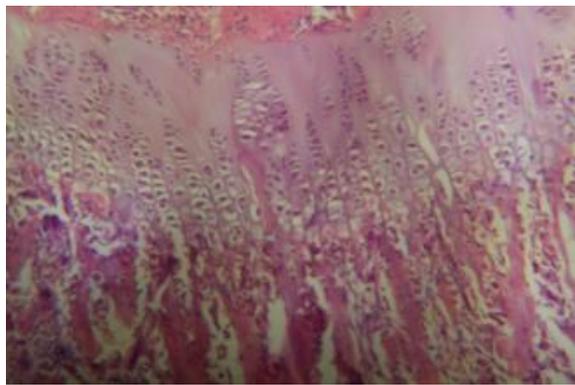


Рис. 1. Метаэпифизарная пластинка контрольной группы животных с правильной гистоархитектоникой (сохранением зональности). Окраска гематоксилином-эозином. $\times 100$.

Новообразованные трабекулы, соединяясь между собой, формируют крупно-петлистые пространства, заполненные малодифференцированными клеточными элементами, которые смещаясь ближе к диафизу, замешаются костным мозгом. Непосредственно в зоне деструкции, и участках кальцифицированного хряща, имеющего трабекулярную структуру, определяется по 5-7 в п/з крупных округлых многоядерных (8-12 ядер) клеток, со слабооксифильной цитоплазмой и базофильными ядрами, что говорит об их зрелости и низкой активности. Данные клетки дифференцируются нами, как неактивные хондрокласты, т.е. остеокласты, расположенные в зоне хряща (Ковешников В.Г. и соавт., 2000; Engsig M.T. at al., 2000) (рис. 3, 4).

Наблюдаемое состояние описанных клеточных элементов согласуется с литературными данными о способности бифосфонатов блокировать активность костнорезорбирующих клеток (Мороз В.А., Ланько Л.Г., 2009). Таким образом, на основании гистоморфологического исследования можно сделать заключение о нарушении процессов хондрогенеза в ростовой пластинке протекающих по дистрофическому типу, причиной которых является интенсивная кальцификация хряща.

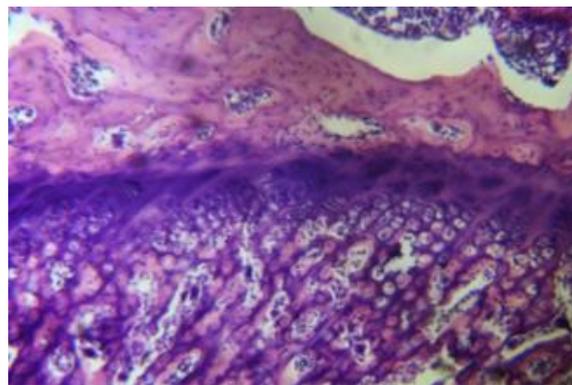


Рис. 2. Уменьшение ширины и деструктуризация зон метаэпифизарной пластинки у животных опытной группы. Окраска гематоксилином-эозином. $\times 100$.

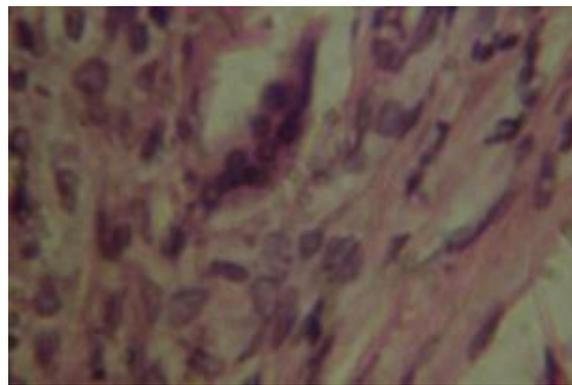


Рис. 3. Зрелый активный хондрокласт в области перестраивающихся трабекул первичной спонгиозы контрольной группы животных. Окраска гематоксилином-эозином. $\times 800$.

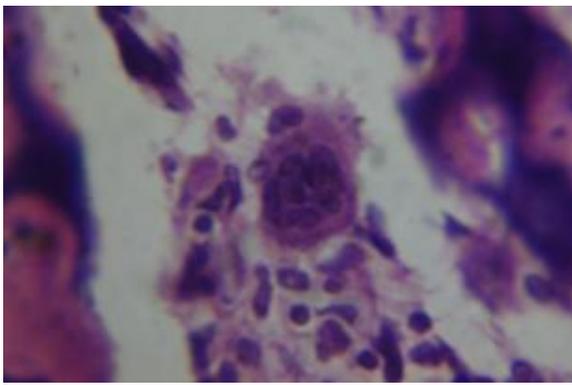


Рис. 4. Зрелый неактивный хондрокласт в области кальцифицированных участков хряща имеющих трабекулярную структуру. Окраска гематоксилином-эозином. $\times 800$.

Заключение

Передозировка бифосфонатами вызывает нарушение процессов хондрогенеза в зонах роста больших трубчатых костей в виде снижения пролиферации, деструктуризации зональной упорядоченности, напоминающей по гистоморфологической картине хондродистрофию (Ива-

новская Т.Е., Гусман Б.С., 1981), причиной которой является чрезмерная минерализация хряща.

Полученные данные о патологических изменениях морфофункционального состояния метаэпифизарной пластинки могут быть ис-

пользованы как одна из моделей экзогенной хондродистрофии.

Перспективы дальнейших разработок связаны с изучением морфологических изменений в различных экспериментальных моделях хондродистрофии.

Литературные источники

Ивановская Т. Е. Патологическая анатомия болезней плода и ребенка : [руководство] // Т. Е. Ивановская, Б. С. Гусман. - М. : Медицина, 1981. - Т. 2 -С. 56.

Ковешников В. Г. / Скелетные ткани: хрящевая ткань, костная ткань // В. Г. Ковешников, М. Х. Абакаров, В. И. Лузин. – Луганск, 2000. - С. 69-72.

Мороз В. А. Бисфосфонаты в современной клинической практике / В. А. Мороз, Л. Г. Ланько // Провизор. – 2009. – № 8. – С. 18-22.

Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоне-

нко [та ін.] ; під ред. А. І. Соловйова. - К. : Авіцена, 2002. - 155 с.

Hauser P. Nephron and endothelial injury/ P. Hauser, F. Collino, B. Bussolati // Curr. Opin. Nephron. Hypertens. - 2009. – Vol. 18. - P. 3-8.

Matrix Metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones / M. T. Engsig, Q-J. Chen, T. H. Vu [et al.] // J.Cell Biol. - 2000. - Vol. 151, № 4. - P. 879-889.

Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis: a working proposal/ V. D. D'Agati, A. B. Fogo, J. A. Bruijn [et al.] // Am. J. Kidney Dis. – 2004. – Vol. 43. – P. 368-382.

Мостовий С.О., Остапенко О.В. Експериментальна модель хондродистрофії довгих трубчастих кісток викликаної передозуванням біфосфонатами.

Резюме. У статті представлені результати дії високих доз препарату амінобіфосфонатної групи «Паміред» на стан метаепіфізарної пластинки довгих трубчастих кісток, з метою моделювання і вивчення особливостей ураження морфоструктури органу біфосфонатами. Дослідження проведене на 48-ми 6-ти місячних лабораторних білих щурах самцях масою тіла 120-150 г. Був проведений забір плечових, стегнових і великогомілкових кісток, які і послужили об'єктом дослідження. Матеріал було вивчений за допомогою методу світлової мікроскопії. Якісну оцінку ступеня ураження досліджуваних тканин проводили за допомогою бінокулярного мікроскопу з фотографічною насадкою «Canon» із збільшенням $\times 100$, $\times 800$. Описані процеси кальцифікації та дегідратації, що протікають в хрящовому проматриксі на тлі передозування препарату, призводять до зниження проліферативної здатності хондроцитів, нерівномірної ширини пластинки зростання та втрати зональності. Показані якісні ознаки порушення гістоархітекτονіки на мікроскопічному рівні, які можуть бути використані, як одна з моделей хондродистрофії.

Ключові слова: метаепіфізарна пластинка, паміред, хондродистрофія.