

СПОСОБ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ОСТЕОАРТРОЗА

© Третьяков А.А., Николаев В.И., Зиновкин Д.А.

УО «Гомельский государственный медицинский университет», г. Гомель, Республика Беларусь

Цель. Усовершенствовать и разработать экспериментальную биологическую модель остеоартрита для доклинического исследования его лечения применимую в дальнейших исследованиях внутрисуставного лечения.

Материалы и методы. 30 крыс линии Вистар (15 самцов и 15 самок) возрастом 9 недель, весом $274 \pm 16,4$ г были включены в исследование. Животные для адаптации были помещены в виварий за неделю до начала эксперимента. Крысы содержались по 2-3 в клетках, расположенных в чистых проветриваемых помещениях, с контролируемой температурой и влажностью и 12 часовым день-ночь циклом. Пища и вода для лабораторных животных были ad libitum. Моделирование остеоартрита коленных суставов у крыс включало рассечение кожи и фасции коленного сустава крысы под ингаляционным наркозом в асептических условиях, после чего в полость сустава вводят стерильную инъекционную иглу и механически наносят травму хрящевым структурам наружных мышечков бедренных и большеберцовых костей режущей частью среза иглы, при этом диаметр иглы соответствует суммарной толщине хрящевого слоя суставных поверхностей, на рассеченные ткани накладывают швы. Начиная со 2 дня послеоперационного периода крысы начинают заставлять ходить в колесе, что создает дополнительную нагрузку на травмированные суставы и нестабильность при движении, это воспроизводит основные патогенетические механизмы развития остеоартрита. При моделировании остеоартрита на одном из коленных суставов (экспериментальный сустав), на противоположном производилось рассечение капсулы наложение шва на рану (контрольный сустав). Животные гуманно выводились из эксперимента в количестве 15 штук на 14 и 21 сутки эксперимента с использованием ингаляционного наркоза. В дальнейшем, сразу после гибели животного производилось выделение сустава и помещение в декальцинирующую жидкость на 48-72 ч. После чего сустав разрезали в сагитальном направлении, все кусочки тканей фиксировали в 10% нейтральном забуференном по Лилли формалине в течении 24-48 часов. Гистологическая проводка производилась по методике, представленной в таблице 1, в гистопроцессоре. Из парафиновых блоков на микротоме готовили серии срезов толщиной 4 мкм. После депарафинирования окрашивание гематоксилином и эозином. При морфометрическом анализе суставов оценивались толщина суставного хряща, толщина суставной капсулы и изменения субхондральной кости. Для оценки толщины суставного хряща и синовиальной оболочки производились 10 кратные измерения данных параметров в 3 неперекрывающихся полях зрения, после чего высчитывали среднее значения для каждого животного. Оценку изменений субхондральной кости проводили с использованием системы грейдов предложенной Aho O.M. et al. (2017). Для оценки толщины суставного хряща и суставной капсулы использовался критерий Манна-Уитни, изменения субхондральной кости оценивались с использованием метода Колмогорова-Смирнова. Для внутригрупповых сравнений параметров использовался метод ANOVA с поправкой Гейсера-Гринхауса. Статистически значимыми были различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. При морфометрическом исследовании толщины суставного хряща на 14 сутки после начала эксперимента в экспериментальных суставах данный показатель составил $342,6 (321,2; 365,6)$ мкм, в контрольных – $422,4 (415,5; 431,2)$ мкм. На данном сроке эксперимента выявлялись статистически значимые различия в толщине суставного хряща ($p < 0,0001$). При анализе толщины суставной капсулы определялись статистически значимые различия ($p = 0,0002$). Данный показатель в экспериментальных коленных суставах составлял – $94,5 (86,2; 100,1)$, в контрольных – $74,1 (72,5; 77,9)$. При анализе изменений субхондральной кости, в экспериментальных суставах субхондральные изменения кости оценивались в 2 (2;2) балла, в контрольных – 0 (0;1). Определялись статистически значимые различия ($p = 0,033$).

На 21 сутки при микроскопическом исследовании суставов с моделированным остеоартритом отмечалось истончение, деструкция и в ряде случаев замещение участков суставного хряща соединительной тканью. Определялись обширные участки разрастания субхондральной кости, выявлялись участки склероза кости. Суставная капсула имела участки разрастания зрелой васкулизированной соединительной ткани. При микроскопии контрольных суставов отмечался хрящ нормального гистологического строения. Субхондральная кость состояла из костных балок, окруженных костным мозгом. Суставная капсула имела участок незрелой соединительной ткани со слабой лимфоидной инфильтрацией соединительной ткани в месте хирургической раны. При морфометрическом исследовании толщины суставного хряща на 21 сутки после начала эксперимента в экспериментальных суставах данный показатель составил $322,5 (311,9; 354,6)$ мкм, в контрольных – $433,4 (424,6; 435,2)$ мкм. На данном сроке эксперимента выявлялись статистически значимые различия в толщине суставного хряща ($p < 0,0001$). При анализе толщины суставной капсулы определялись статистически значимые различия ($p < 0,001$). Данный показатель в экспериментальных коленных суставах составлял – $149,9 (133,4; 165,6)$, в контрольных – $73,5 (73,5; 80,8)$. При анализе изменений субхондральной кости, в экспериментальных суставах субхондральные изменения кости оценивались в 2,5 (2;3) балла, в контрольных – 0 (0;0). Определялись статистически значимые различия ($p < 0,001$).

Выводы.

1. Разработанная оригинальная экспериментальная модель остеоартрита у крыс воспроизводит основные патогенетические этапы данного заболевания;
2. Динамическая гистологическая оценка развития экспериментального остеоартрита позволила определить, что 14-е сутки от начала эксперимента являются оптимальным сроком для внутрисуставной терапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Остеоартроз; экспериментальное моделирование; внутрисуставное лечение.

METHOD FOR EXPERIMENTAL MODELING OF OSTEOARTHRITIS

© Tretyakov A.A., Nikolaev V.I., Zinovkin D.A.

Gomel state medical University, Gomel, Republic of Belarus

KEYWORDS: Osteoarthritis; experimental modeling; intraarticular treatment.