

УДК 616.72-007.17-08-036.838:615.83

МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ С ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИМ ОСТЕОАРТРОЗОМ КРУПНЫХ СУСТАВОВ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Ударцев Е.Ю.

Санаторий «Altai-WEST», Белокураха, e-mail: info@altai-west.ru

Представлены данные морфогистохимического исследования структурных компонентов коленного и тазобедренного суставов у 78 пациентов с посттравматическим остеоартрозом тазобедренного и коленного суставов I-III стадии. Установлено, что на I стадии заболевания происходит активизация репаративных процессов в синовиальной среде поврежденного сустава, на II стадии их интенсивность незначительно снижается. В этих условиях становится возможной индукция реакций, направленных на стимуляцию регенерации суставного хряща, улучшения вязко-эластических свойств синовиальной жидкости и нормализации гомеостаза поврежденного сустава. На III стадии в хрящевой ткани резко повышается содержание низкомолекулярных протеогликанов и гликозаминогликанов, а в синовиальной жидкости – низкополимерных молекул ПГ/ГАГ, полимерность гиалуроновой кислоты снижается, отсутствует комплекс гиалуроновая кислота/протеогликан, невозможным становится развитие продуктивных репаративных реакций.

Ключевые слова: посттравматический остеоартроз, синовиальная среда сустава, морфогистохимические исследования, регенерация

MORPHOHISTOCHEMICAL ASPECTS OF THE CONSERVATIVE TREATMENT OF PATIENTS WITH POSTTRAUMATIC OSTEOARTHRITIS OF MAJOR JOINTS OF LOWER LIMBS

Udartsev E.U.

Spa resort «Altai-West», Belokutikha, e-mail: info@altai-west.ru

The data of morphohistochemical research of structural components of knee and thigh joints among 78 patients with posttraumatic osteoarthritis of knee and thigh joints I-III stages was submitted. It is established that in the I stage of illness the activating of reparative processes in the synovial medium of the injured joint appears, in the II stage their intensity slightly decreases. Under the circumstances the induction of evocations directed to the regeneration stimulation of articular cartilage becomes possible as well as the mucilaginous elastance of synovial fluid and homeostasis annealing of the injured joint. In the III stage in cartilaginous tissue the content of low-molecular proteoglycans and glycosaminoglycans increases sharply and in synovial fluid – low-polymeric molecules PG/GAG, polymery of hyaluronic acid decreases, hyaluronic acid/proteoglycans complex is absent, the developing of efficient reparative reactions becomes impossible

Keywords: posttraumatic osteoarthritis, synovial medium of the joint, morphohistochemical research, regeneration process

Согласно современным представлениям, целью лечения посттравматического остеоартроза (ПТОА) является стабилизация дегенеративно-дистрофического процесса в суставе [7, 9, 10], На сегодняшний день при консервативном лечении ПТОА наиболее часто применяются лечебные физические факторы и средства базисной медикаментозной терапии [1, 4, 8], основная задача которых в оказании стимулирующего влияния на репаративные процессы в синовиальной среде поврежденного сустава. Успешное решение этой задачи зависит от морфологических и биохимических особенностей хряща, синовиальной жидкости и синовиальной оболочки, которые могут быть различны в зависимости от стадии заболевания [2, 3]. При этом неоднозначной становится и вероятность развития продуктивных репаративных реакций в структурных компонентах сустава [5, 6], что затрудняет как обоснование и планирование

лечебных мероприятий, так и прогнозирование результатов лечения.

Цель исследования – изучить морфогистохимические особенности структурных компонентов сустава в зависимости от стадии суставного процесса для обоснования возможностей консервативной терапии больных посттравматическим остеоартрозом крупных суставов нижних конечностей.

Материал и методы исследования

Материалом для исследования явились 78 человек в возрасте от 20 до 45 лет с посттравматическим остеоартрозом I–II–III стадии по классификации (J. Kellgren & J. Lawrence, 1957) тазобедренного (ТБС) и коленного (КС) суставов. Все хирургические вмешательства выполнены на базе отдела эндопротезирования и артроскопической хирургии суставов Новосибирского НИИТО Росмедтехнологий (зав. отделом – д.м.н, проф. В.М. Прохоренко). У 29 (37,2%) больных с ПТОА КС I-II-II стадии предоперационно производили пункционный забор 3–6 мл синовиальной жидкости. У 49 (62,8%) больных с ПТОА КС и

ТБС I-II-III стадии интраоперационно производили забор хрящевой ткани в объеме 2–5 мм³ вне нагружаемой зоны. Полученные материалы в стерильной упаковке направляли для биохимического и морфологического исследования.

Морфогистохимические исследования структурных компонентов сустава выполнены в лабораторно-экспериментальном отделе Новосибирского НИИ-ТО (руководитель – Засл. деятель науки, д.м.н., проф. А.М. Зайдман). У больных предоперационно производили пункционный забор 3–6 мл синовиальной жидкости. При выполнении артроскопических вмешательств тяжесть повреждений оценивали по классификации Outerbridge (1999) Интраоперационно производили забор хрящевой ткани в объеме 2–5 мм³ вне нагружаемой зоны. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а так же методом Ван-Гизон. Тучные клетки выявляли окраской по Гимза. Проводили гистохимические реакции на гликоген и гликопротеиды – ШИК-реакцию с обработкой контрольных срезов амилазой; гликозаминогликаны – с окраской толуидиновым синим при разных значениях pH; окраской альциановым синим по Стилдену. На криостатных срезах исследовали активность окислительно-восстановительных ферментов и кислотной фосфатазы (метод азосочетания с использованием AS-нафтолов).

Биохимически выделяли гликозаминогликаны (ГАГ) из синовиальной жидкости. Был использован универсальный метод разрушения избытка белков папаином (Шараев П.Н. и др., 1987). Присутствие гиалуроновой кислоты (ГК) определяли после добавления спирта к синовиальной жидкости, предварительно

обработанной папаином. Количество ГК определяли по присутствию гексуроновых кислот. Гексуроновые кислоты определяли карбазоловым методом (Bitter T., Muir H.M., 1962). Сульфатированные ГАГ определяли методом, предложенным Йонгом в 1989 году. Для определения содержания галактозы использовали метод Roe J.H. Присутствие ГАГ/протеогликаны (ПГ) в синовиальной жидкости визуализировали методом горизонтального электрофореза в 1% геле агарозы в 0,1 M трис-ацетатном буфере pH 7,3 (Bjornsson S., 1993).

Обработку полученных результатов исследования проводили с использованием программы SPSS.13 for Windows, с помощью которой вычисляли средние значения M , стандартное отклонение δ , стандартные ошибки средних m . Для проверки вида распределения изучаемых показателей использовали одновыборочный тест Колмогорова-Смирнова. Для проверки достоверности различий между исследуемыми группами, в которых данные были распределены по нормальному закону, использовали t -критерий Стьюдента. В случае отличия вида распределения изучаемых переменных от нормального гауссового распределения достоверность различий проверяли при помощи непараметрических критериев: U -критерия Манна-Уитни. Для всех показателей была отвергнута нулевая гипотеза на уровне значимости 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты биохимического исследования хрящевой ткани и синовиальной жидкости у исследуемых пациентов представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Биохимический анализ гликозаминогликанов хрящевой ткани на начальных стадиях посттравматического остеоартроза ($M \pm m$)

Показатель	Значение		
	I стадия	II стадия	Норма
Уроновые кислоты, мкг/мг	-	19,35 ± 2,54	22,82 ± 3,57
Галактоза, мкг/мг	-	49,40 ± 5,03*	31,00 ± 3,72
Сульфатированные ГАГ, мкг/мг	-	20,65 ± 2,55*	51,21 ± 7,45
Соотношение ХС/КС	-	1,0:1,7	1:1
Соотношение Sгаг и суммы ХС+КС, в %	-	13,0 ± 1,0*	41,5 ± 4,2

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с нормальными величинами.

Таблица 2

Биохимический анализ гликозаминогликанов синовиальной жидкости на различных стадиях посттравматического остеоартроза ($M \pm m$)

Показатель	Значение		
	I стадия	II стадия	Норма
Уроновые кислоты, мг/мл	0,64 ± 0,08*/**	0,25 ± 0,05*	1,20 ± 0,15
Галактоза, мг/мл	1,36 ± 0,12*/**	1,04 ± 0,15*	0,81 ± 0,07
Сульфатированные ГАГ, мг/мл	0,27 ± 0,032*/**	0,06 ± 0,01*	0,24 ± 0,02
Соотношение ХС/КС	1,0:1,4	1,0:2,6	1,0:0,5

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с нормальными величинами; ** – $p < 0,05$ по сравнению с величинами при II стадии ПТОА.

При проведении электрофореза протеогликанов хряща и синовиальной жидкости было установлено, что:

- количество уроновых кислот в хряще на II стадии посттравматического артроза на 15,2% ниже нормальных величин и составляет $19,35 \pm 2,54$ мкг/мг;

- в синовиальной жидкости на II стадии заболевания количество уроновых кислот уменьшено более чем на 80% относительно нормальных значений ($p < 0,01$), на фоне одновременного уменьшения размеров молекул;

- происходит уменьшение концентрации комплексов гиалуроновой кислоты и протеогликанов в синовиальной жидкости;

- количество галактозы в хрящевой ткани на II стадии достоверно возрастает в 1,6 раза, что свидетельствует о развитии стойких дегенеративных изменений в суставе хряще;

- изменении количества галактозы в синовиальной жидкости характеризуется ее увеличением в 1,7 раза на I стадии и в 1,3 раза на II стадии ($p < 0,01$), тем самым отражая активизацию анаболических реакций в тканях сустава на I стадии за счет поступления ГАГов из тканей в СЖ, и наоборот, снижение интенсивности этих процессов – на II стадии;

- общее количество гликозаминогликанов в хрящевой ткани и синовиальной жид-

кости на I стадии заболевания может оставаться в пределах нормальных величин, тогда как на II стадии их количество значительно ниже нормальных значений;

Таким образом, выявленные особенности свидетельствовали, что у этих больных сохранены репаративные потенции синовиальной среды сустава, что обосновывает проведение консервативной терапии путем индукции процессов регенерации.

Иная картина наблюдалась у больных с ПТОА III стадии. При микроскопическом исследовании было отмечено, что хрящ сохранен на всем протяжении, но имеет неодинаковую толщину: сужен в центральной области и утолщен по краям.

В центрально-латеральной области отмечены резкое истончение и деформация хряща, поверхностные и глубокие очаги разволокнения матрикса хряща. Единичные узур проникали на две трети толщины хряща. По краю узур располагались изогенные группы, содержащие по 4-6 клеток (рис. 1).

Хондроциты с мелкими округлыми базофильно окрашенными ядрами и β -метахромазией цитоплазмы, располагались в матриксе неравномерно, преимущественно по одиночке, встречаются единичные изогенные группы, содержащие по 3-5 клеток в одной лакуне (рис. 2).

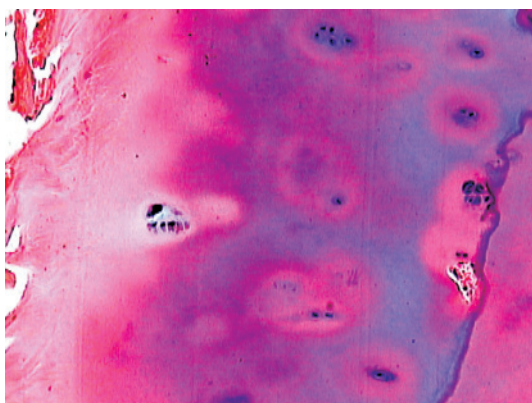


Рис. 1. Дистрофические изменения суставного хряща с очагами разволокнения и нарушением клеточной архитектоники. Окр. гематоксилином и эозином $\times 100$

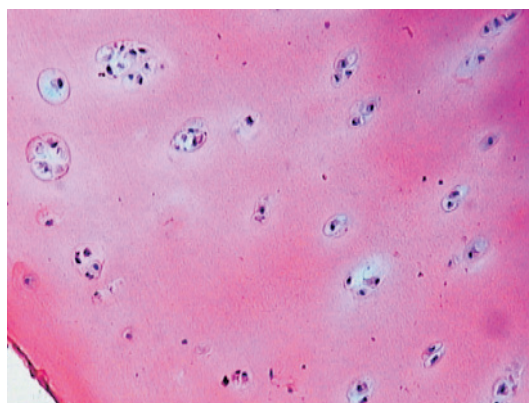


Рис. 2. Снижение клеточной популяции с выраженными дистрофическими изменениями в хондроцитах суставного хряща. Окр. гематоксилином и эозином $\times 100$

Переходная зона была сохранена, имела различную толщину, построена из хондроцитов, расположенных в матриксе по одиночке. Единичные лакуны содержали два хондроцита. В глубоких зонах архитектоника была нарушена. Хондроциты располагались беспорядочно в матриксе, как по одиночке, так и мелкими изогенными группа-

ми, содержащими по 2-4 клетки. Наблюдаются единичные колонковые структуры, местами располагающиеся косо к поверхности хряща. В этих зонах клетки имеют в основном мелкие, часто пикнотически сморщенные ядра и скудную цитоплазму. Во всех отделах матрикс бледный, с очагами слабой базофилии (рис. 3).

В синовиальной оболочке наблюдалась выраженная гиперплазия, ее толщина составила $459,53 \pm 0,94$ мкм (рис. 4). На поверхности синовиоциты располагались в 1–4 ряда, наблюдались мелкие очаги пролиферации

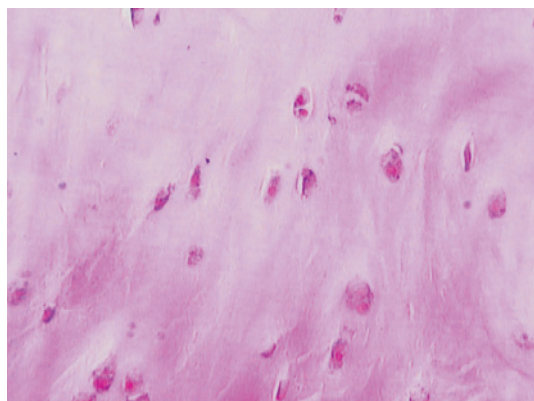


Рис. 3. На фоне разволокнения матрикса хряща хондроциты с пикнотичными ядрами и сморщенной цитоплазмой. ШИК-реакция $\times 200$

до 6–8 рядов, толщиной $42,29 \pm 0,47$ мкм. В основном веществе покровного слоя отмечалась от умеренной до выраженной диффузная пролиферация синовиоцитов с периваскулярным их расположением.

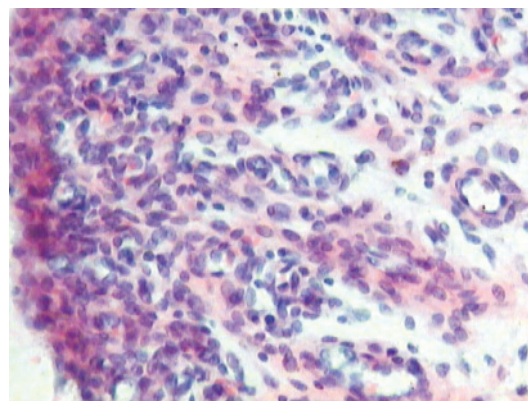


Рис. 4. Выраженная гиперплазия синовиальной оболочки, в основном веществе пролиферация синовиоцитов. Окр. гематоксилином и эозином $\times 100$

В собственном веществе покровного слоя наблюдалась пролиферация фибробластов и фиброцитов, уплотнение стромы. Сосуды микроциркуляторного русла были извитыми, их просвет расширен, часть подошла вплотную к поверхности синовиальной оболочки, образуя т.н. «люки». В части капилляров стенки были утолщены, просвет частично облитерирован. Наблюдалась умеренная гиперплазия ворсин., единичная очаговая пролиферация синовиоцитов на поверхности (до 6–8 рядов) и диффузная выраженная пролиферация синовиоцитов в основном веществе ворсин (рис. 5).

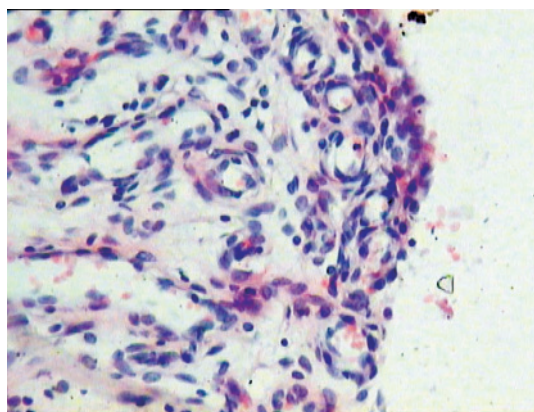


Рис. 5. Расширенные кровеносные капилляры в основном веществе синовиальной оболочки, «люки» на поверхности. Окр. гематоксилином и эозином $\times 100$

При исследовании путей гемо- и лимфо-микроциркуляции синовиальной мембраны выявлено расширение всех разновидностей капилляров поверхностной кровеносной сети (капилляры, формирующие ячеистые сети и петли; синусоидные капилляры, находящиеся под синовиальными клетками; капилляры синовиальных ворсинок). Параллельно с преобразованиями кровеносных капилляров поверхностной сосудистой сети наблюдалось незначительное расширение просвета посткапилляров и венул, лимфатических капилляров и посткапилляров. Также наблюдались преимущественно умеренная очаговая периваскулярная лимфоплазмочитарная инфильтрация, в строме и на поверхности покровного слоя встречались мелкие скопления гемосидерофагов и мелкие кальцификаты, около кровеносных капилляров обнаруживалось умеренное количество тучных клеток. Коллагеново-эластические слои характеризовались умеренным утолщением волокон, склеротическими изменениями, гипертрофией стенок сосудов гипертрофированы с лимфоплазмочитарной инфильтрацией.

Биохимические характеристики хрящевой ткани и синовиальной жидкости на III стадии ПТОА также имели свою специфику (табл. 3 и 4).

Из табл. 3 и 4 видно, что в хрящевой ткани содержание протеогликанов и гликозаминогликанов низкое, среди них большое количество низкополимерных молекул. В синовиальной жидкости преобладают

низкополимерные молекулы ПГ/ГАГ, полимерность гиалуроновой кислоты низкая, комплекса гиалуроновая кислота/протеогликанов нет.

Таблица 3

Биохимический анализ гликозаминогликанов хрящевой ткани на III стадии посттравматического остеоартроза

Показатель	Значение	
	III стадия	Норма
Уроновые кислоты, мкг/мг	14,58 ± 1,36*8*	22,82 ± 3,57
Галактоза, мкг/мг	27,64 ± 2,54	31,00 ± 3,72
Сульфатированные ГАГ, мкг/мг	31,00 ± 3,19*	51,21 ± 7,45
Соотношение ХС/КС	1,0:1,9*	1:1
Соотношение Sгаг и суммы ХС+КС, в %	47,6 ± 6,4	41,5 ± 4,2

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с нормальными величинами.

Таблица 4

Биохимический анализ гликозаминогликанов синовиальной жидкости на III стадии посттравматического остеоартроза (в мг/мл)

Показатель	Значение	
	III стадия	Норма
Уроновые кислоты, мг/мл	0,84 ± 0,07*	1,20 ± 0,15
Галактоза, мг/мл	1,90 ± 0,17*	0,81 ± 0,07
Сульфатированные ГАГ, мг/мл	0,09 ± 0,06*	0,24 ± 0,02
Соотношение ХС/КС	1,0:1,5*	1,0:0,5

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению нормальными величинами.

Проведение электрофореза протеогликанов хряща и синовиальной жидкости позволило сделать следующие заключения:

- на III стадии количество уроновых кислот в хрящевой ткани было увеличено до 70%, при этом комплекс гиалуроновой кислоты и протеогликанов в синовиальной жидкости резко снижен;

- в хряще больных с III стадией посттравматического остеоартроза количество галактозы было незначительно ниже контрольных значений (89,2%);

- в синовиальной жидкости на III стадии количество галактозы увеличено до 235%;

общее количество гликозаминогликанов на III стадии заболевания было значительно снижено;

- в синовиальной жидкости и в хрящевой ткани заболевания отмечается преобладание кератансульфата, что характеризует развитие посттравматического артроза как остротекущий процесс, на который ткани сустава реагируют интенсивным развитием процесса фиброза.

Таким образом, на III стадии посттравматического остеоартроза характерны

ми изменениями были параллельно протекающие деструктивные и неполноценные репаративно-регенераторные процессы в хряще, сопровождающиеся выраженным субхондральным склерозом и появлением в подлежащей костной ткани очагов остеопороза, изменением формы сустава, разволокнением и деструкцией хряща в нагружаемых зонах, появлением обширных бесклеточных участков. Изменения синовиальной оболочки характеризовались хроническим гиперпластическим синовитом с нарушением транскапиллярного и транссиновиального обмена. В хрящевой ткани содержание протеогликанов и гликозаминогликанов было низким, среди них большое количество низкополимерных молекул. В синовиальной жидкости преобладали низкополимерные молекулы ПГ/ГАГ, полимерность гиалуроновой кислоты была низкой, комплекс гиалуроновая кислота/протеогликанов отсутствовал.

Выводы

Полученные в ходе выполнения настоящей работы результаты морфогистохимиче-

ского исследования показали, что на I стадии заболевания происходит активизация репаративных процессов в синовиальной среде поврежденного сустава, на II стадии их интенсивность незначительно снижается. Следовательно, на начальных стадиях ПТОА в структурных компонентах поврежденного сустава существует возможность индукции продуктивных репаративных реакций в суставе, направленных на стимуляцию регенерации суставного хряща, улучшение вязко-эластических свойств синовиальной жидкости и нормализацию гомеостаза поврежденного сустава.

На III стадии заболевания параллельно протекают деструктивные и неполноценные репаративно-регенераторные процессы в хряще, которые сопровождаются выраженным субхондральным склерозом и появлением в подлежащей костной ткани очагов остеопороза, изменением формы сустава, разволокнением и деструкцией хряща в нагружаемых зонах, хроническим гиперпластическим синовитом с нарушением транскапиллярного и транссиновиального обмена, резким повышением содержания в хрящевой ткани низкомолекулярных протеогликанов и гликозаминогликанов, появлением в синовиальной жидкости низкополимерных молекул ПП/ГАГ, снижением полимерности гиалуроновой кислоты, отсутствием комплекса гиалуронової кислоты/ протеогликаны. В этих условиях развитие продуктивных репаративных реакций невозможно, а консервативная терапия в отношении стабилизации дегенеративно-дистрофического процесса в поврежденном суставе не эффективна.

Список литературы

1. Алексеева Л.И. Перспективы хондропротективной терапии остеоартроза // Научно-практическая ревматология. – 2003. – № 4. – С. 83–86.
2. Байтов В.С. Современные возможности диагностики и консервативного лечения остеоартроза коленного и тазобедренного суставов: дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2007. – С. 79–93.
3. Виноградова Е.В. Механизмы деструкции и регенерации хряща коленного сустава при остеоартрозе // Ортопед. травматол. – 2000. – № 2. – С. 97–98.
4. Григорьева, В.Д. Медицинская реабилитация больных остеоартрозом / В.Д. Григорьева, Г.О. Шавианидзе // Вопр. курортол. – 2007. – №6. – С. 46–50.
5. Дедух Н.В., Жигун А.И., Ролик А.В. Регенерация суставного хряща: достижения и перспективы // Ортопед. травматод. – 1997. – №3. – С. 25–29.
6. Дубровин Г.М. Система комплексного лечения и реабилитации больных с деформирующим остеоартрозом коленного сустава: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Курск, 2003. – 40 с.
7. Корнилов Н.Н., Новоселов К.А., Корнилов Н.В. Современные взгляды на этиопатогенез, принципы диагностики и консервативную терапию дегенеративно-дистрофических заболеваний коленного сустава // Травматология и ортопедия России. – 2002. – №2. – С. 47–59.
8. Поворозник В.В. Глюкозамин и хондроитин в лечении остеоартроза: данные литературы и результаты собственных исследований // РМЖ. – 2006. – Т.14, №4. – С. 1–5.
9. Jordan K.M., Arder N.K., Doherty M. et al. EULAR recommendation 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: report of task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT) // Ann Rheum Dis. – 2003. – №62. – P. №1145–1155.
10. Kotobuki N., Hirose M., Takakura Y., Ohgushi H. Cultured autologous human cells for hard tissue regeneration: preparation and characterization of mesenchymal stem cells from bone marrow // Artificial Organs. – 2004. – №28(1). – P. 33–39.

Рецензенты:

Кулишова Т.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой восстановительной медицины, ФПК И ППС ГОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет Росздрава», г. Барнаул;
Андросов В.Н., к.м.н., зав. отделением санатория «Белокуриха» ЗАО «Курорт Белокуриха», г. Белокуриха.