

Морфометричні зміни показників епіфізарного хряща щурів старечого віку за умов експериментальної гіперглікемії

Понирко А.О.* , Бумейстер В.І.

Медичний інститут СумДУ, Україна

*E-mail: ponyrkoalina123@gmail.com

Ключові слова:

- щурі
- цукровий діабет
- епіфізарний хрящ

Анотація

У статті наведені дані морфометричного аналізу змін хрящової тканини в умовах експериментального цукрового діабету. Дослідження проведено на 140 нелінійних білих щурах-самцях, розділених на дві групи експериментальну та контрольну. Тварин виводили з експерименту на 30, 60, 90, 120, 150 та 180 добу. Тривалість експерименту 180 дб. Для експериментального моделювання гіперглікемії, використовували розчин дигідрату аллоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла на 0,9 % розчині хлориду натрію який вводили після 10-годинного голодування. Гістологічні зрізи фарбували гематоксилином Вейгерта та еозином. У старечих щурів в умовах тривалої неконтрольованої гіперглікемії спостерігається пригнічення росту хрящової тканини, поступове зниження загальної кількості хондроцитів в усіх зонах епіфізарного хряща довгих трубчастик кісток протягом всього експерименту.

Вступ

На сучасному етапі захворюваність на ендокринну патологію, зокрема цукровий діабет в Україні демонструє стійку тенденцію до зростання. За офіційними даними, в останні 10 років кількість хворих з таким діагнозом збільшилася в півтора рази. В Україні цукровий діабет є досить поширеним захворюванням і займає за розповсюдженістю 3 місце після серцево-судинних і онкологічних хвороб. За даними ВОЗ хвороба збільшує смертність в 2-3 рази і суттєво скорочує тривалість життя.

Незважаючи на значні досягнення превентивної медицини та покращення рівня діагностики, цукровий діабет продовжує залишатися хронічним довічним захворюванням. У осіб з цукровим діабетом тривала декомпенсація стану вуглеводного обміну неминуче відбивається на стані інших органів і систем організму [1]. Патологічні зміни кісток і суглобів при цукровому діабеті зустрічаються у 55-68% [2, 3]. Паталогії розвитку епіфізарного хряща призводять до розладів росту кісток [4, 5].

Метою дослідження було проведення комплексного аналізу показників епіфізарного хряща щурів старечого віку за умов експериментальної гіперглікемії.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження проведено на 120 статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей масою 220-229 г (віварій медичного інституту Сумського державного університету). Піддослідні тварини були поділені на дві групи: експериментальну (n=60) та контрольну (n=60). Щурів експериментальної групи після 10-годинного голодування вводили у стан хронічної гіперглікемії за допомогою одноразової інтраперитонеальної ін'єкції розчину дигідрату аллоксану в дозі 150 мг/кг маси тіла на 0,9 % розчині хлориду

натрію. Стан вуглеводного обміну оцінювали за допомогою наступних показників: концентрація глюкози в крові та сечі, концентрація глікозильованого гемоглобіну в цільній крові, починаючи з 2 доби експерименту. Щурів виводили з експерименту на кожну 30 добу шляхом декапітації під легким наркозом. Для дослідження вилучали стегнові та плечові кістки. Тривалість експерименту 180 діб.

Вилучені кістки щурів очищували від м'яких тканин та фіксували у 10 % забуференому фосфатним буфером формаліні протягом доби. Декальцинували у 10 % розчині мурашиної кислоти. Після цього дегідрували у серії етилових спиртів зростаючої концентрації (70°, I – 96°, II – 96°), просочували у ізопропілових спиртах та у трьох серіях парафіну, отриманий матеріал заливали у парафін. Гістологічні зрізи висушували на предметних скельцях, депарафінували, дегідрували, забарвлювали гематоксиліном Вейгерта та еозином, заключали в полістерол.

Результати та обговорення

На 2 добу експерименту у тварин експериментальної групи спостерігалась типова картина гіперглікемії, а саме: полідипсія та поліурія, середній показник концентрації глюкози в сироватці крові складав 22,7 ммоль/л, середній показник концентрації HbA1c становив 6,5%. У цілому, показники вуглеводного обміну у щурів експериментальної групи свідчили про наявність стійкої неконтрольованої гіперглікемії.

Гістологічний аналіз епіфізарного хряща щурів на 30 добу експерименту показав часткову відсутність поверхневої зони, що вказує на пригнічення ростових процесів, пов'язане з відсутністю структур, що є джерелом клітин для проміжної зони. Клітини цієї зони розміщувалися переважно у стовпчиках паралельно центральній вісі кістки, проте, на певних ділянках утворювали скупчення, що нагадували великі ізогенні групи, характерні для проміжної зони суглобового хряща. Матрикс на таких ділянках мав еозинофільне забарвлення, що також є притаманним суглобовому хрящу, а не епіфізарному. Подекуди стовпчики були повністю відсутні або складалися з гіпертрофованих клітин. Загалом відбувалося зниження загальної кількості хондроцитів в усіх зонах, за винятком шару деструкції, який характеризується наявністю значної кількості зруйнованих клітин. Ширина епіфізарного хряща (ШЕХ) стегнової кістки знизилась у середньому на 5,3 % у порівнянні з нормою. Глибина проникнення хрящових трабекул у кістковомозкову порожнину зменшилась на 3,2% у порівнянні з нормою.

Ширина епіфізарного хряща плечової кістки у порівнянні з нормою знизилась на 5,6 %. Глибина проникнення хрящових трабекул у кістковомозкову порожнину зменшилась на 4,1%. На 120 добу експерименту гістологічний аналіз епіфізарного хряща старечих щурів показав, що у поверхневій зоні розміщувалися сплюснені хондроцити з базофільним ядром та слабкобазофільною цитоплазмою, їх розмір збільшувався з наближенням до зони гіпертрофії. Зона проліферації була незначною за висотою та виконана стовпчиками з хондроцитів орієнтованих паралельно центральній вісі кістки. У зоні гіпертрофії клітини мали вакуолізовану цитоплазму, ядро було базофільним, але втрачало чіткі контури. У переважній більшості ШЕХ стегнової кістки знизилась у середньому на 20 %. Глибина проникнення хрящових трабекул у кістковомозкову порожнину зменшилась на 11%.

ШЕХ плечової кістки знизилась на 22 %. Глибина проникнення хрящових трабекул у кістковомозкову порожнину зменшилась на 14% у порівнянні з нормою.

На 180 добу експерименту гістологічний аналіз епіфізарного хряща щурів старечого віку було встановлено появу ділянок, що вказують на зникнення хряща та припинення росту кістки - було зафіксовано загибель хондроцитів у проліферативних колонках. Спостерігалось значне порушення будови епіфізарного хряща. Кількість сполучної речовини значно зростає та порушує стовпчасту будову хряща по всій довжині. Характерним є значне зменшення ШЕХ стегнової кістки майже на 22,5%, який представлений майже повністю сполучною речовиною з незначною кількістю клітин. Глибина проникнення хрящових трабекул у кістковомозкову порожнину зменшується на 18,1%. У поверхневій зоні розміщувались нечисельні конгломерати хондроцитів, які оточені сполучною речовиною. Кількість патологічно змінених клітин перевищує відсоток нормальних, що свідчить про значне порушення обміну ростової пластинки.

ШЕХ плечової кістки знизилась в цілому на 30,1%. При цьому зону деструкції майже неможливо ідентифікувати.

Висновки

Отже через 180 днів спостереження було виявлено пригнічення росту кісткової тканини, про що свідчило значне скорочення чисельності кісткових трабекул під епіфізарним хрящем. Це відбувалося ймовірно внаслідок пригнічення процесу гіпертрофії хондроцитів, що спричиняє припинення мінералізації епіфізарного хряща, затримує проростання судин та порушує формування первинних кісткових трабекул. Також встановлено зникнення зони гіпертрофованого хряща на певних ділянках у епіфізарному хрящі довгих кісток щурів старечого віку протягом всього експерименту. Це, ймовірно, пов'язано не лише з пригніченням гіпертрофії хондроцитів та мінералізації у зоні кальцифікації епіфізарного хряща, але і реакції остеобластів на зниження рівня інсуліну.

Література

- [1] Gooch HL, Hale JE, Fujioka H et al. Alterations of cartilage and collagen expression during fracture healing in experimental diabetes. *Connective tissue research*. 2000; 41 (2): 81-91. DOI: <https://doi.org/10.3109/03008200009067660> [PMid:10992154]
- [2] Iwata K, Asawa Y, Fujihara Y et al. The effects of rapid-or intermediate-acting insulin on the proliferation and differentiation of cultured chondrocytes. *Current aging science*. 2010; 3 (1): 26-33. DOI: <https://doi.org/10.2174/1874609811003010026> [PMid:20298167]
- [3] Raisingani M, Preneet B, Kohn B et al. Skeletal growth and bone mineral acquisition in type 1 diabetic children; abnormalities of the GH/IGF-1 axis. *Growth Hormone & IGF Research*. 2017; 34: 13-21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2017.04.003> [PMid:28482269 PMCID:PMC5516798]
- [4] Rubin MR. Bone cells and bone turnover in diabetes mellitus. *Current osteoporosis reports*. 2015; 13 (3): 186-191. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11914-015-0265-0> [PMid:25740570]
- [5] Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and its effect on bone and fracture healing. *Current osteoporosis reports*. 2015; 13 (5): 327-335. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11914-015-0286-8> [PMid:26254939 PMCID:PMC4692363]