

ХАРКІВСЬКИЙ МЕДИЧНИЙ ІНСТИТУТ

На правах рукопису

БЕНГУС ЛЮДМИЛА МИХАЙЛІВНА

МОРФОЛОГІЯ КОМПОНЕНТІВ КОЛІННОГО СУТЛОБА
ТА ЕПІФІЗАРНОГО ХРЯЩА В УМОВАХ ІШЕМІЇ
КІНЦІВКИ І ДІЇ ПРОСТАГЛАНДИНУ F_{2α}

14.00.02 - анатомія людини

03.00.11 - ембріологія, гістологія

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків - 1993

AB 28. 198

Робота виконана в Харківському науково-дослідному інституті ортопедії і травматології ім. проф. М. І. Ситенка.

Наукові керівники:

Доктор біологічних наук Н. В. Дедук;

кандидат медичних наук І. В. Котульський

Офіційні опоненти:

Доктор медичних наук, професор Ю. П. Костиленко;

доктор медичних наук, професор Я. І. Федонка.

Ведуча організація : Кримський медичний інститут

Захист відбудеться ²⁴ "серпня" 1993 р. на засіданні спеціалізованої ради Д 088.23.03 Харківського медичного інституту (310 202, м. Харків, вул. Трінклера, 12).

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Харківського медичного інституту.

Автореферат розісланий ²⁴ "травня" 1993 р.

Вчений секретар
спеціалізованої ради

доцент

І. В. Сорокіна

ЛНБ ім. В. Стефаніка
АН України

ЛНБ України ім. В. Стефаніка



00802618 (P)

ДВ - 28. 198

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Гостра ішемія тканин кінцівки відноситься до тяжких форм патології, які нерідко трапляються як в мирних умовах, так і за військового часу.

Необхідно відмітити, що багато патологічних процесів, які протікають в організмі людей, супроводжуються ішемічним пошкодженням тканин і органів (атеросклероз, артеріосклероз, облітеруючий ендартеріт).

Тому, приймаючи до уваги високу частоту випадків ішемічного пошкодження тканин, за нашого часу велим актуальним є вивчення морфологічних змін, що протікають в ішемізованих тканинах кінцівки, а також пошук можливих шляхів їх корекції.

На сучасному етапі розвитку морфологічних наук патологічні процеси, що виникають в ішемізованих тканинах кінцівки, вивчені недостатньо. Мається ряд морфологічних досліджень, присвячених особливостям дії ішемії на м'язову (Бутенін А. М.; 1978; Істомін Н. П., Петухов Є. В., Мішньов О. Д. і др., 1979; Вєрста В. С., 1979) і кісткову (Умаров Р. У., 1970; Новиков Н. П., 1972; Дем'яненко Г. М., 1980) тканини.

Однак в науковій літературі присутні лише нечисленні дослідження, які стосуються дії гострої ішемії на хрящову тканину кінцівки (Сверов А. Х., 1962; 1963).

Приймаючи до уваги важливу роль хрящової тканини в системі тканин опорно-рухового апарату, зараз навіряд необхідність більш глибокого вивчення морфологічних змін, протікаючих в ішемізованій хрящовій тканині, а також пошук таких біологічно активних речовин, які можуть ліквідувати несприятливі наслідки, виникаючі в хрящі, внаслідок перенесеної ішемії.

На сучасному етапі розвитку біології і медицини широку увагу дослідників привертають простагландини (ПГ), як маловивчений вид біологічно активних речовин. Простагландини мають широкий спектр дії і, виступаючи як "тканинні гормони", являються внутрішньо-оклітинними регуляторами біохімічних процесів. ПГ синтевуються, практично, в усіх тканинах і органах людини і тварин, в тім числі і в хрящовій тканині (Malemud C. J. et al., 1981; Meats E. et al., 1980). Крім того, ПГ грають важливу роль в захисті організму

від стресорних та ішемічних пошкоджень (Меерсон Ф.З., 1984).

Одним з найменш вивчених по характеру дії на хрящову тканину являється ПГ F_{2a} . Дослідження по впливу ПГ на структурно-функціональні характеристики ішемізованих тканин кінцівки (Котульський І.В. і співавт., 1986) показали, що ПГ F_{2a} знижує деструкцію і резорбцію кістки, стимулює остеобластичний і фібробластичний компоненти окіста.

Однак в літературі, практично, відсутні відомості відносно специфіки впливу ПГ F_{2a} на інші сполучно-тканинні похідні, зокрема, гіалінову хрящову тканину. Це й послужило підставою для вивчення особливостей екзогенної дії ПГ F_{2a} на гіалінову хрящову тканину в нормі і в умовах ішемії.

Мета і задачі дослідження. Мета роботи - вивчити морфологію компонентів колінного суглоба та епіфізарного хряща в умовах ішемії кінцівки і на фоні дії ПГ F_{2a} для теоретичного обґрунтування і розробки шляхів корекції постішемічних змін гіалінової хрящової тканини.

Для реалізації цієї мети поставлені наступні задачі:

1. Вивчити морфологію компонентів колінного суглоба та епіфізарного хряща під дією гострої ішемії різної тривалості. Дати детальну характеристику дії компресійної ішемії на структуру гіалінової хрящової тканини дистального відділу стегнової кістки (на прикладі суглобового та епіфізарного хрящів).

2. Виявити морфологічні особливості дії ПГ F_{2a} на гіалінову хрящову тканину інтактних тварин.

3. Вивчити специфіку організації компонентів колінного суглоба та епіфізарного хряща (на прикладі гіалінової хрящової тканини дистального відділу стегнової кістки) в умовах ішемії кінцівки і на фоні дії рівних концентрацій ПГ F_{2a} .

Наукова новизна роботи. В результаті проведених досліджень одержано і обґрунтовано нові наукові дані.

Дія ішемії від 3-х до 5-ти годин приводить до розвитку в колінному суглобі асептичного запального процесу, про що свідчать наявність лімфо-гістіоцитарних інфільтратів в капсулі, гіперплазія клітин синовіальної оболонки і панус, який врісся в суглобовий хрящ. Виявлено, що суглобовий і епіфізарний хрящі характеризуються різною реактивністю до дії ішемії, причому біль-

ше реагує на ішемічну дію епіфіварний хрящ, дистрофічні зміни в якому виникають вже при дії 1-годинної ішемії. Найбільш яскраво виражені зміни в епіфіварній зоні росту виявляються після впливу 5-годинної ішемії (великі безклітинні території матриксу, деструктивні щілини).

Суглобовий хрящ менше підлягає дії компресійної ішемії. Нами доведено, що 1-годинна ішемія не відбивається на структурній організації суглобового хряща. Наступні режими ішемії (до 5 годин) призводять до виражених змін в капсулі суглоба і, в меншій мірі, в суглобовому хрящі, в якому (при дослідженні в світловому мікроскопі), спостерігались локальні поля дистрофії і деструкції.

Встановлено, що хондроцити мають високу чутливість до дії 5-годинної ішемії.

Виявлено, що $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ справляє слабковиражений вплив на протікання запалювального процесу в колінному суглобі. Відзначена незначна стимулююча дія $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ на репаративну регенерацію ішемізованого суглобового хряща. Виявлена хондропротекторна дія $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ на суглобовий хрящ. Встановлено, що характер змін ішемізованого суглобового хряща на фоні дії $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ залежить від використаних концентрацій ПГ .

Виявлена чітка залежність морфологічних перетворень епіфіварного хряща від використаної дози $\text{ПГ F}_{2\alpha}$. Доведено, що низькі концентрації $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ стимулюють процеси репаративної регенерації в зоні росту, а високі концентрації справляють деструктивний вплив на епіфіварний хрящ.

Практична значимість. Результати, які подані в роботі, являються експериментально підтвердженим теоретичним обґрунтуванням для розробки практичних рекомендацій по клінічному використанню $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ з метою корекції постішемічних змін гіалінової хрящової тканини. В перспективі можна було б рекомендувати вивчення можливостей застосування $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ для лікування дистрофічних змін суглобів. Враховуючи виявлену ефективність дії $\text{ПГ F}_{2\alpha}$ на патологічно змінені епіфіварні хрящі ішемізованої кінцівки, препарат логічно було б рекомендувати апробувати при лікуванні дистрофічних змін зони росту.

Основні положення, які вивнесені на захист. На основі отрима-

них даних, сформульовані і виносяться на захист наступні положення, що розкривають основні закономірності морфологічної організації, характеру та ступеня реактивності ішемізованої хрящової тканини на фоні дії ПГ F_{2a} :

1. Компоненти колінного суглоба та епіфізарний хрящ характеризуються помітною реактивністю до дії гострої ішемії. Суглобовий і епіфізарний хрящі мають різну ступінь реактивності до дії компресійної ішемії кінцівки. Вираженість постішемічних морфологічних змін епіфізарного хряща аначно вища, ніж суглобового. Найбільш яскраво морфологічні зміни в епіфізарному хрящі проявляються після тривалої (5-годинної) ішемії. Суглобовий хрящ в меншій мірі підлягає впливу ішемії.

2. ПГ F_{2a} (при місцевому введенні препарату) виявляє пригнічуючу дію на метаболізм суглобового хряща інтактних тварин, причому ступінь вираження деструктивних змін хондроцитів прямопропорційна концентрації ПГ F_{2a} .

3. Існує чітка залежність між проявом морфологічної перебудови ішемізованого епіфізарного хряща і використанням дозу ПГ F_{2a} (при внутрішньовенному введенні препарату): дози 2,4 і 12 мкг/кг маси тіла стимулюють репаративні процеси в хрящовій тканині; доза 60 мкг/кг ПГ F_{2a} справляє деструктивну дію на зону росту.

4. В широкому діапазоні доз ПГ F_{2a} виявляє слабковиражений стимулюючий вплив на процес регенерації суглобового хряща ішемізованої кінцівки. Ультраструктурні ж дослідження ішемізованого суглобового хряща показали хондропротекторну дію дози 12 мкг/кг ПГ F_{2a} (при внутрішньовенному введенні).

Структура роботи. Дисертація складається з 10 розділів, які включають загальну характеристику роботи, огляд літератури, характеристику експериментального матеріалу і методів дослідження, власних досліджень і аналіз результатів, де представлені найбільш суттєві положення дисертації і обговорені можливі аспекти її теоретичної і практичної реалізації.

Загальний об'єм роботи 133 сторінки машинописного тексту, 46 малюнків. Бібліографія містить 108 найменувань, в тому числі 52 вітчизняних і 56 зарубіжних джерел.

Апробація роботи і публікація результатів дослідження. Ре-

аульати досліджень докладені на республіканській науковій конференції молодих травматологів-ортопедів (Тбілісі, 1987), Всесоюзному симпозіумі "Молекулярні і функціональні механізми онтогенезу" (Харків, 1987), обласній конференції молодих вчених "Актуальні проблеми медицини і науково-технічний прогрес" (Харків, 1988), конференції по електронній мікроскопії (Звенигород, 1988), 8-й школі по біології опорно-рухового апарату "Адаптаційно-компенсаторні і відновні процеси в тканинах опорно-рухового апарату" (Київ, 1990). За матеріалами дисертації опубліковано 7 робіт і прийнято 2 раціоналізаторські пропозиції.

ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ

Матеріал і методи дослідження. Експерименти проведено на 120 білих лабораторних щурах лінії Вістар популяції інституту ім. Ситенка. Матеріалом для дослідження служили суглобовий і епіфізарний хрящі дистального відділу стегнової кістки правої задньої кінцівки.

Для досягнення ішемії кінцівки використовували туго накладання гумового джгута на середню частину стегна правої кінцівки. Контроль за станом кінцівки проводили термометрично (електротермометр ТТЕМ-1). Тривалість перебування джгута на кінцівці складала 1, 2, 3, 4 і 5 годин. Простагландин $E_{2\alpha}$ вводили на наступний день після 5-ти годинної ішемії в дозах 2,4; 12 і 60 мкг/кг маси тіла тварин на протязі 5 днів. Спосіб введення ПГ $E_{2\alpha}$ - внутрішньовенний (в хвостову вену). Естаназію тварин здійснювали на 14 і 30 добу після експериментальної ішемії шляхом передозування ефіру.

В експериментах по вивченню впливу ПГ $E_{2\alpha}$ на інтактний суглобовий хрящ 3-х і 12-ти місячних тварин препарат вводився в суглоб на протязі 10 днів в дозах 15 і 60 мкг/кг маси тварин.

Тварин виводили з дослідіу на 11 добу в початку введення ПГ $E_{2\alpha}$ шляхом передозування ефіру.

Експериментальний матеріал досліджували в допомігов гістологічних методів. Фіксація матеріалу проводилась в 10 % розчині нейтрального формаліну. Після обезводнення в спиртах висхідної концентрації, матеріал заливали в целоїдин. Зрізи виготовляли

товщиною 5-6 мкм на мікромомі "Reichert". Фарбування зрізів проводили гематоксилином Вейгера і еозином. Після цього матеріал був досліджений з допомогою світлового мікроскопа "МЕИ-6" і мікроскопа "Ratenov".

Для дослідження ультраструктурної організації хондроцитів суглобового хряща кусочки матеріалу розміром 1 мм³ фіксували в 4% розчині осмієвої кислоти, обезводнювали в ацетоні і помішали в епон-араалдіт. Виготовлення ультратонких зрізів (товщиною 20-30 нм) проводили на ультрамікромомі УМП-3М. Після контрастування ураніацетатом і цитратом свинцю по Reynolds матеріал був досліджений в електронному мікроскопі ЕМВ-100 БР. Потім була проведена морфометрична обробка одержаних електронограм методом Автанділова (1981). При цьому були введені такі умовні позначення:

ЕПС - об'ємна доля ендоплазматичної сітки в хондроцитах;

М - об'ємна доля мітохондрій;

КТ - об'ємна доля комплексу Гольджі;

Ліп - об'ємна доля ліпідів.

За окремими морфометричними показниками були побудовані варіаційні ряди. Для кожного ряду була визначена середня арифметична величина \bar{X} і помилка до середньої арифметичної величини - $S\bar{X}$. Потім було проведено порівняння варіаційних рядів і визначена достовірність t - по Ст'юденту (для кожного ряду і при порівнянні рядів). Для всіх порівнюваних варіантів визначена імовірність P (по таблиці Рокіцького). Результати вважались достовірними при $p < 0,05$.

Результати власних досліджень. В результаті експериментально-морфологічного дослідження було встановлено, що компоненти колінного суглоба та епіфізарний хрящ дистального відділу стегнової кістки характеризуються рівною реактивністю до дії експериментальної компресійної ішемії. При цьому дія 3-5 годинної ішемії сприяє розвитку синовіту в колінному суглобі. В порожнині суглоба формується панус (своєрідне розростання крайових відділів синовіальної оболонки, що виникає внаслідок запалювального процесу в суглобі), а також скупчення лімфо-гістіоцитарних клітинних інфільтратів в капсулі, гіперплавія клітин синовіального шару і ангиогенез судин в цій ділянці.

Необхідно відзначити, що в суглобовому хрящі дія 1-годинної

ішемії на 14 добу не викликала порушень структурної організації. Збільшення експозиції ішемічної дії приводило до появи безклітинних територій з розволокнулим матриксом, порушення цитоархітекτονіки на окремих ділянках і пікнову клітин в зонах. На 30 добу після ішемічної дії в суглобовому хрящі не спостерігалось прогресування деструктивних змін в порівнянні з 14 добою.

Подібні, але менш виражені зміни, спостерігались в менісках, цитоархітектоніка яких була порушена за рахунок зменшення щільності клітин на ділянках.

Електронно-мікроскопічне дослідження суглобового хряща (на 30 добу після дії 5-ти годинної ішемії) показало, що хондроцити мають високу чутливість до ішемічної дії. При цьому основна маса хондроцитів суглобового хряща знаходилась на різних стадіях деструкції: в клітинах були присутні пікнотичні ядра і електронощільна цитоплазма, не диференційована на мембранні органіди з великою кількістю ліпідних капель і осміофільних фігур. Часто зустрічались хондроцити на стадії некрозу.

Аналіз результатів, одержаних при дослідженні ішемізованого епіфіварного хряща, показав, що в зоні росту проходять більш яскраво виражені дистрофічні і деструктивні зміни.

Так, при дії 1-годинної ішемії на 14 добу були виявлені порушення організації клітин в колонках, порожні капсули, безклітинні ділянки матриксу. Існує чітка залежність між тривалістю ішемічної дії і ступенем вираженості дистрофічних змін епіфіварного хряща. При цьому найбільш широкі осередки деструкції виявлялись при дії 5-годинної ішемії: відзначено різке звуження зони проліферуючих хондроцитів, великі безклітинні території матриксу, деструктивні щілини, які проходять горизонтально через всю зону росту.

На 30 добу після ішемічної дії зафіксовано посилення дистрофічних і деструктивних змін епіфіварного хряща в порівнянні з 14 добою.

Відносно висока реактивність епіфіварного хряща до дії експериментальної ішемії кінцівки може бути пояснена тим, що епіфіварний хрящ являє собою хрящову тканину, трофіка якої здійснюється як за рахунок судин епіфізу, так і діафізу (Наш А., 1952). Трофіка ж суглобового хряща проходить, головним чином, завдяки процесам ди-

фузії поживних речовин в синовіальній рідині, заповнюючої порожнину суглоба, і, в меншій мірі, в боці артеріол епіфізу. Провідна роль синовіальної рідини, як джерела живлення суглобового хряща лежить в основі концепції В.Н. Павлової (1980) про синовіальне середовище суглобів. Звідси зрозуміло, що комплекс дистрофічних і деструктивних змін проявляється в епіфізарному хрящі раніше і ступінь проявлення цих змін набагато сильніший, ніж в суглобовому хрящі. Необхідно відмітити, що дистрофічні і деструктивні процеси, морфологічний аспект яких ми виявляємо в гіаліновій хрящовій тканині, є наслідком порушення як трофіки цих тканин внаслідок знекровлення, так, в однаковій мірі, і результатом дії накоплених в ішемізованій кінцівці низькомолекулярних токсичних речовин - "ішемічних токсинів", серед яких певне місце, очевидно, займають серотонинвміщуючі компоненти. Появу цих токсинів при ішемії зв'язують з процесом інтенсивного білкового розпаду (Оксман Т.М., Дамін Н.В., Кованов В.В., 1971). Після відновлення кровообігу в ішемізованому органі ці токсини поступають в кров, внаслідок чого розвивається картина травматичного шоку, яка нерідко приводить до гострої ниркової недостатності і, в кінці кінців, до летального результату в 1-2 або 3-4 добу на фоні уремії (Нігуляну В.І., Єльський В.Н., 1984).

В останній час переважачою є точка зору, згідно якої в основі формування патології при компресійних травмах лежить не стільки інтоксикація організму продуктами аутолізу деструктивних тканин, скільки його імунологічна перебудова, обумовлена сенсibiliзацією власними зміненими білками, основу якої складають алергічні реакції сповільненого типу (Насонкін О.С., Криворучко Б.І., 1991).

Перш ніж використати $\text{III E}_{2\alpha}$ для корекції патологічних змін гіалінової хрящової тканини, нас цікавило питання про морфологічні особливості дії $\text{III E}_{2\alpha}$ на гіалінову хрящову тканину інтактних тварин. З цією метою ми вивчали дію різних концентрацій $\text{III E}_{2\alpha}$ (15 і 60 мкг/кг маси тіла) на суглобовий хрящ 3-х і 12-ти місячних шурів-самців лінії Вістар. Дані вікові групи тварин відповідають їх молодому і зрілому вікові. Концентрація $\text{III E}_{2\alpha}$ 15 мкг/кг маси тіла використовувалась як терапевтична доза (Котульський І.Р., 1982), доза 60 мкг/кг $\text{III E}_{2\alpha}$ - як гіперконцентрація

III (перевищуюча терапевтичну в 4 рази).

При вивченні особливостей дії даних концентрацій III F_{2a} на структуру гіалінової хрящової тканини ми досліджували ультраструктурну організацію суглобового хряща в умовах екзогенного введення даного простагландину в порожнину колінного суглоба. В даному разі III F_{2a} виступав як біологічно активна речовина місцевої дії - "тканинний гормон". З літературних джерел відомо, що при випробуванні дії III A_1 , III B_1 , III E_1 , III E_2 , III F_{1a} , III F_{2a} в культурі хондроцитів суглобового хряща низькі концентрації вищевказаних III незначно, але в межах імовірності, стимулювали синтез ДНК (Malemud C., Sokoloff E., 1977), включення D^3H - глікозаміну, 3H - гліцину, 3H - цитидину в хрящову клітину, але не діяли на включення 3H - глікози і ^{14}C - ксилони (Morasco L., Amato G., Donati M.B., 1982). Високі концентрації III приводили до пригнічуючої дії на процеси метаболізму в хрящовій клітині, при цьому III A_1 відрізнявся найбільш вираженою цитотоксичною дією (Malemud C., Sokoloff E., 1977).

В результаті проведеної серії експериментів по впливу різних концентрацій III F_{2a} на ультраструктуру суглобового хряща виявлено, що в 3-х місячних тварин введення даного простагландину в дозі 15 мг/кг викликало пониження об'ємної долі мітохондрій в цитоплазмі хондроцитів - в 2 рази в порівнянні з контролем (3,0% - контроль до дії III - бідистильована вода і 1,4% - введення III F_{2a}). В цитоплазмі хондроцитів були виявлені також мітохондрії витягнутої форми, нетипові для інтактних клітин. В частині хондроцитів відмічена везикуляція цитоплазматичної сітки, що за даними А.П. Авцина і В.А. Шахламова (1979) свідчить про токсичну дію фактора. Необхідно відмітити, що у тварин, які одержували дози III F_{2a} 15 і 60 мг/кг маси тіла, об'ємні долі мітохондрій не відрізнялись одна від одної, але в суглобових хрящах тварин, що одержували більш високу дозу III F_{2a} , була збільшеною кількість хондроцитів з везикуляцією цитоплазматичної сітки, причому ступінь виявлення везикуляції був також вищим. На основі цього можна зробити висновок, що концентрація III F_{2a} 60 мг/кг маси тіла є більш токсична для хондроцитів суглобового хряща 3-х місячних тварин.

Той факт, що в 3-х місячних тварин, яким у вигляді контролю для дії III вводилась бідистильована вода, виявлена активізація

енергетичного обміну, можна трактувати таким чином: механічне подразнення тканини, викликане ін'єкціями, призводить до синтезу в суглобі і присуглобових тканинах різноманітних видів ПГ, в тому числі і ПГ E_{2d} (Бороян Р. Г., 1983). Очевидно утворений рівень ПГ справляє стимулюючу дію на хондроцити, активуючи процеси окислювального фосфорилування в мітохондріях, що проявляється в даному разі у збільшенні їх об'ємної долі в клітинах. При екзогенному ж введенні ПГ E_{2d} , його концентрація в хондроцитах зростає і досягає такого критичного рівня, на якому стимулююча дія припиняється і в цих умовах ПГ E_{2d} веде себе як інгібітор метаболізму суглобового хряща.

При вивченні ультраструктурної організації хондроцитів суглобового хряща 12-місячних тварин, що отримували 15 мкг/кг ПГ E_{2d} , було встановлено, що на відміну від 3-х місячних тварин, в результаті даного впливу в поверхневій зоні хряща з'являлися повністю зруйновані клітини. Об'ємна доля мітохондрій в хондроцитах була зменшена в порівнянні з контролем в 1,7 рази. В клітинах проміжної зони виявлялися нетипові мітохондрії витягнутої форми, зустрічались також мітохондрії менших розмірів в щільно упакованими кристами.

При дії 60 мкг/кг ПГ E_{2d} (внутрішньосуглобове введення препарату) ступінь проявлення деструктивних змін в хондроцитах суглобового хряща виростав. При цьому в поверхневій зоні хряща з'являлися клітини, характерні по своїй структурі для глибокої зони, з виявленими осередками деструкції. Об'ємна доля мітохондрій була достовірно знижена - в 1,3 рази в порівнянні з контролем (4,3% - контрольні тварини і 3,2% - після введення 60 мкг/кг маси ПГ E_{2d}), при цьому вони були менших розмірів, часто мали витягнуту форму в ущільненим матриксом.

Таким чином, доза ПГ E_{2d} 60 мкг/кг маси тіла більш токсична для хондроцитів суглобових хрящів обох вікових груп тварин.

В цілому аналізуючи результати, одержані при дії підвищених концентрацій ПГ E_{2d} на суглобовий хрящ, ми прийшли до висновку, що ПГ E_{2d} при місцевому введенні пригніблює метаболізм в хондроцитах, пригнічуючи реакції окислювального фосфорилування, які протікають в мітохондріях. ПГ E_{2d} , випробуваний в укаваних концентраціях (15 і 60 мкг/кг маси тіла) діє на ультраструктуру суглобового хряща

як цитотоксичний фактор.

Проведені раніше дослідження по вивченню дії екзогенних препаратів ПГ E_2 і $F_{2\alpha}$ на процеси репаративної регенерації кісткової тканини (Котульський І. В., Дем'яненко Г. М., 1989) показали їх неефективність при місцевому застосуванні цих біологічно активних речовин. При введенні цих простагландинів безпосередньо в кров'яне русло (хвостову вену) була відзначена стимуляція репаративних процесів кістки в результаті дії ПГ $F_{2\alpha}$ (Котульський І. В., 1986).

В зв'язку з цим в своїх дослідженнях по вивченню особливостей дії ПГ $F_{2\alpha}$ на морфологію компонентів колінного суглоба (на моделі постішемичного остеоартрозу) і епіфізарного хряща після тривалої (5-ти годинної) дії компресійної ішемії ми також застосували внутрішньовенний спосіб введення ПГ $F_{2\alpha}$.

За характером дії ПГ - перш за все локальні біорегулятори. Здійсненню їх віддаленої (за місцем утворення) дії на інші органи і системи перешкоджає могутня ПГ - метаболізуюча і активна трансмембранна система в легенях, печінці і в інших органах (Марков Х. М., 1978). При першому ж проходженні через легені ПГ серії Е і F. розкладаються (метаболізуються приблизно на 90%). Однак в разі значного утворення цих речовин, їх кількість в артеріальній крові може бути достатньою для здійснення генералізованих ефектів, в особливості у людини, де процент руйнування ПГ Е і F легенями, певне, є нижчим, ніж у тварин. Слід також рахуватися в доказанню в останні роки активністю деяких метаболітів, приймаючи до уваги їх більшу стабільність (Марков Х. М., 1978).

Крім того, відомо, що ПГ є важливою модулюючою системою, яка грає роль в обмеженні і попередженні стресорних та ішемічних пошкоджень. Один з механізмів дії цієї модулюючої системи полягає в тому, що зростання рівня катехоламінів (адреналіну і норадреналіну) в умовах стресу викликає активацію і вивільнення простагландинів групи Е, які в свою чергу, обмежують дію катехоламінів (Меерсон Ф. З., 1984). Останнім часом доказано, що в функціонуючому серці людини в умовах ішемії проходить активація синтезу простагландинів (Меерсон Ф. З., 1984).

G. Gordis і D. Das (1991) встановили, що після ішемії і реперфузії серцевого м'яза шурів секреція усіх видів простаноїдів,

крім $\text{III } E_{2a}$, виростає в кілька разів. Відносно високі концентрації $\text{III } E_{2a}$ стабілізують ритм серцевої діяльності при експериментальній аритмії (Лазарева С. А., Симиренко Л. Л., 1985; Forster W., Meat H. I., Mentz P., 1973).

В літературі також є дані щодо захисної дії $\text{III } E_{2a}$ на організм (Ворян Р. Г., 1983), згідно з якими $\text{III } E_{2a}$ різко підвищує тривалістність життя після перенесеного інфаркту міокарда, стабілізуючи клітини селезінки (так званий "фактор, пригнічуючий міокард").

Результати проведеного дослідження по вивченню дії різних концентрацій (2,4; 12 і 60 мкг/кг маси тіла) $\text{III } E_{2a}$ на дистрофічно змінені хрящі кінцівки (суглобовий і епіфізарний) показали, що в цих хрящах спостерігаються як загальні, так і специфічні особливості морфологічного прояву дії $\text{III } E_{2a}$.

Так, в колінному суглобі виявляється комплекс морфологічних змін, який свідчить про наявність в ньому синовіту. На це вказує присутність сформованого в умовах ішемії пануса в суглобовій порожнині, а також накопичення клітин лімфо-гістіоцитарного ряду в капсулі. Очевидно $\text{III } E_{2a}$ не справляє суттєвої дії на протікання запального процесу в суглобі.

Суглобовий хрящ менісків зберігав свою структурну організацію. Відзначені ділянки клітинної гіперплазії в суглобовому хрящі, імовірно, свідчать про активацію метаболічних процесів в хрящовій тканині під дією $\text{III } E_{2a}$. Необхідно відмітити, що при оцінці характеру змін суглобового хряща під впливом $\text{III } E_{2a}$ суттєвої різниці між дією використаних концентрацій (2,4; 12 і 60 мкг/кг маси тіла) не встановлено (при дослідженні в допомігов світлової мікроскопії). Вивчення ультраструктурної організації хондроцитів суглобового хряща ішемізованої кінцівки при дії дози $\text{III } E_{2a}$ 12 мкг/кг маси тіла (при внутрішньовенному введенні препарату) показало, що дана концентрація $\text{III } E_{2a}$ справляє хондропротекторну дію. При цьому основна маса хондроцитів мала будову, близьку до норми.

Необхідно відзначити, що частина хондроцитів мала ядра в периферично локалізації хроматину, що є характерною ознакою гіпоксичного пошкодження клітини (Шахдамов В. А., Сороковой В. І., 1983). Цитоплазма хондроцитів містила велику кількість вільних рибосом, полірибосом і скупчення глікогену.

Певно, $\text{III } E_{2a}$ в даній концентрації (12 мкг/кг) сприяє "пережи-

ванні" хондроцитів суглобового хряща після ішемічної дії. Тобто, завдяки захисній дії III F_{2a} , основна маса хондроцитів все ж "вижила", але ішемічне пошкодження відбулось на їх структурній організації, що виявилось в наявності збідненої мембранними органідами цитоплазми.

В тих випадках, коли внаслідок дії компресійної ішемії хондроцити все ж гинули, віддалена дія III F_{2a} (12 мкг/кг маси тіла) справляла слабковиражений стимулюючий вплив на процеси репаративної регенерації суглобового хряща, в якому спостерігалась гіперплазія клітин на окремих ділянках.

Вивчення ультраструктурної організації хондроцитів суглобового хряща в умовах внутрішньовенного введення III F_{2a} в дозі 60 мкг/кг маси тіла показало, що препарат справляє деструктивну дію на хрящову тканину ішемізованої кінцівки. При цьому в суглобовому хрящі переважали клітини на різних стадіях деструкції. Хондроцити, близькі до норми за ультраструктурною організацією, зустрічалися дуже рідко.

Аналіз результатів дії III F_{2a} на дистрофічно змінені епіфізарні хрящі кінцівки показав наявність чіткої залежності між проявом морфологічних змін хрящової тканини і концентрацією III F_{2a} . Так, дози III F_{2a} 2,4 і 12 мкг/кг маси тіла (внутрішньовенне введення) стимулювали репаративні процеси в епіфізарному хрящі, що проявлялося в проліферації хондроцитів (у вигляді ізогенних груп або колонок). Доза III F_{2a} 60 мкг/кг (внутрішньовенне введення) сприяла формуванню в осередках деструкції епіфізарного хряща пухкої сполучної тканини. Однак наявність ділянок деструкції зафіксована і на 30 добу після ішемічної дії.

Отже, показано, що в ішемізованій гіаліновій хрящовій тканині кінцівки внутрішньовенне введення III F_{2a} в дозах 2,4 і 12 мкг/кг маси тіла стимулює репаративні процеси і справляє хондропротекторну дію; більш висока концентрація III F_{2a} (60 мкг/кг маси тіла) справляє деструктивну дію. Репаративні процеси найбільш яскраво проявляються в епіфізарному хрящі.

Розглянемо кілька можливих механізмів дії III F_{2a} . Встановлено, що III F_{2a} мають вплив на важливі ендокринні залози тварин: гіпофіз, кору надниркових залоз, щитовидну залозу, яєчники. III F_{2a} і F_{2a} сприяють звільненню окситоцину, збільшують в крові рівень

пролактину і лактеїнізуючого гормону (Ажгіхін І. С., 1978).

Крім того, Н. В. Дедух (1988), вивчаючи прояви впливу пролактину на рівні системи суглобового хряща, показала, що пролактин стимулює проліферацію хондроцитів, анаболічні процеси в клітинах і матриксі хрящової тканини.

Можна припустити, що підвищення рівня пролактину, який є протейновим аденогіпофізарним гормоном з прямою тканинною дією (Шрейбер В., 1987), в кров'яному руслі ішемізованих тварин внаслідок дії ПГ $E_{2\alpha}$, в певній мірі (і певній концентрації ПГ $E_{2\alpha}$) стимулює репаративні процеси в гіаліновій хрящовій тканині, особливо в епіфізарному хрящі, який відзначається більш високою чутливістю до різноманітних екстремальних факторів внаслідок специфіки свого розташування і, відповідно, трофіки.

М. А. Махмудов і співавт. (1978), Г. В. Кудрявцева (1979) встановили, що механізм дії ПГ $E_{2\alpha}$ полягає в активації пентовофосфатного шляху метаболізму вуглеводів - основного джерела біологічно активних речовин. На етапах пентовофосфатного розщеплення рльковує проходять утворення відновленого НАДФ·Н (нікотинаміддинуклеотид фосфату), який надалі приймає безпосередню участь в процесах біосинтезу жирних кислот і кортикостероїдів (кортизон, кортизол, кортикостерон). Як відомо, кортикостероїди мають виражену протизапальну дію. В зв'язку з цим можливо припустити, що кортикостероїди, які синтезуються в корі надниркових залоз внаслідок дії ПГ $E_{2\alpha}$, можуть пригнічувати синовіт в колінному суглобі. Зниження запалювального процесу, безумовно, справляє хондропротекторну дію на суглобовий хрящ.

В нашому дослідженні ПГ $E_{2\alpha}$ слід розглядати як біологічно активну речовину, яка справляє вагальну дію на організм, певно, змінюючи його ендокринний статус, можливо, активізуючи імунну систему, і впливаючи не прямо, а опосередковано, через стимуляцію дії деяких гормонів і ферментних систем і на патологічні процеси, що протікають в хрящовій тканині внаслідок ішемічного пошкодження.

Таким чином, результати проведених досліджень дозволяють стверджувати, що ПГ $E_{2\alpha}$ може бути використаним для корекції порушень, викликаних ішемією в хрящах кінцівки. Однак при цьому необхідно враховувати, що вираженість морфологічної відповіді

гіалінової хрящової тканини на дію III E_{2d} залежить як від використаних концентрацій III E_{2d} , так і від специфіки розташування хрящів (суглобового і епіфізарного) в тканинах опорно-рухового апарату.

В И С Н О В К И

1. Компоненти колінного суглоба та епіфізарний хрящ характеризуються значною реактивністю до дії гострої ішемії кінцівки. Гіалінова хрящова тканина дистального відділу стегнової кістки (суглобовий і епіфізарний хрящі) має різну реактивність до дії експериментальної компресійної ішемії. Морфологічні зміни епіфізарного хряща у відповідь на ішемічне пошкодження кінцівки виражені значно більше, ніж суглобового. При цьому в епіфізарному хрящі відзначена поява тріщин і узур, які свідчать про глибокі деструктивні процеси, що протікають внаслідок ішемічного пошкодження. Найбільша вираженість патологічних змін гіалінової хрящової тканини зафіксована після дії тривалої (5-ти годинної) ішемії кінцівки.

2. III E_{2d} (внутрішньосуглобове введення) пригнічує метаболічні процеси в інтактному суглобовому хрящі, що проявляється в достовірному зменшенні об'ємної долі мітохондрій в хондроцитах. Використані концентрації III E_{2d} (15 і 60 мкг/кг маси тіла) справляють цитотоксичну дію на хондроцити суглобового хряща, що проявляється вираженою везикуляцією цитоплазматичної сітки, яка посилюється під дією високих концентрацій III E_{2d} (60 мкг/кг маси тіла), збільшенням кількості некротизованих клітин.

3. Характер дії III E_{2d} (при внутрішньовенному введенні) на морфологію гіалінової хрящової тканини в умовах ішемії кінцівки залежить як від використаних концентрацій даного препарату (2,4; 12 і 60 мкг/кг маси тіла), так і від позиційно-специфічних особливостей розташування гіалінової хрящової тканини (суглобового і епіфізарного хрящів). При цьому дози 2,4 і 12 мкг/кг маси тіла III E_{2d}

E_{2a} справляють стимулюючу дію на активацію репаративних процесів в ішемізованому епіфізарному хрящі, де відзначається проліферація хондроцитів (у вигляді ізогенних груп або колонок). Дані концентрації $III E_{2a}$ можуть бути використані для корекції постішемічних змін гіалінової хрящової тканини. Доза $III E_{2a}$ 60 мкг/кг маси тіла пригнічує процеси регенерації в зоні росту і справляє деструктивну дію.

4. $III E_{2a}$ (внутрішньовенне введення) не справляє вираженої дії на протікання запальовального процесу в колінному суглобі внаслідок ішемічного пошкодження кінцівки. При цьому спостерігається незначна стимуляція процесів регенерації в суглобовому хрящі. Ультраструктурні ж зміни суглобового хряща ішемізовані кінцівки показували хондропротекторну дію дози 12 мкг/кг маси тіла $III E_{2a}$.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ І РЕАЛІЗАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

1. Виявлені загальні закономірності структурної організації гіалінової хрящової тканини (суглобового і епіфізарного хрящів) білих лабораторних щурів лінії Вістар в нормі і в умовах ішемії кінцівки, а також особливості морфологічної відповіді ішемізовані хрящової тканини на екзогенну дію $III E_{2a}$ доцільно враховувати при аналізі клінічних ситуацій, викликаних порушенням кровообігу кінцівки, а також при розшифровці механізму дії $III E_{2a}$ на дистрофічно змінену гіалінову хрящову тканину.

2. Результати комплексних експериментально-морфологічних досліджень доцільно використовувати при написанні навчальних посібників, монографій в галузі морфології опорно-рухового апарату ссавців.

3. Нові дані про особливості структурної організації гіалінової хрящової тканини в умовах компресійної ішемії кінцівки і можливостях корекції дистрофічних змін хрящової тканини з допомогою $III E_{2a}$ використовуються в навчальному процесі на кафедрах морфологічного профілю Білоцерківського сільськогосподарського інституту, Новосибірського аграрного університету, Московської ветеринарної академії, Харківського медичного інституту.

СПИСОК ДРУКОВАНИХ РОБІТ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бенгус Л. М. Новый подход к оценке суставного хряща - Материалы докладов республик. научн. конференции молодых травматологов-ортопедов - Тбилиси, 1987. - С. 31 - 32.
2. Дедух Н. В., Панков Е. Я., Малишкіна С. В., Бенгус Л. М. Возрастные особенности влияния гормонов на суставной хрящ - Молекулярные и функциональные механизмы онтогенеза - Матер. докладов всесоюзн. симпозиума - Харьков, 1987. - С. 61 - 62.
3. Панков Е. Я., Дедух Н. В., Малишкіна С. В., Бенгус Л. М. Гликозамины - ведущие макромолекулярные факторы онтогенетической перестройки суставного хряща - Молекулярные и функциональные механизмы онтогенеза - Матер. докладов всесоюзн. симпозиума - Харьков, 1987. - С. 147.
4. Бенгус Л. М. Суставной хрящ в условиях экзогенного действия простагландина $E_{2\alpha}$ - Актуальные проблемы медицины и научно-технический прогресс - Харьков, 1988. - С. 48 - 49.
5. Бенгус Л. М. Изучение действия простагландина $E_{2\alpha}$ на ультраструктуру суставного хряща - Тезисы конференции по электронной микроскопии - Звенигород, 1988. - С. 51 - 52.
6. Бенгус Л. М. Структурно-метаболические изменения в суставном хряще при экзогенном действии прстагландина $E_{2\alpha}$ - Тезисы докл. 7-й школы по биологии мышц - Харьков, 1988. - С. 230 - 232.
7. Бенгус Л. М., Дем'яненко А. Н. Морфология гиалинового хряща в условиях ишемии конечности - Адаптационно-компенсаторные и восстановительные процессы в тканях опорно-двигательного аппарата - Киев, 1990. - С. 34 - 36.

СПИСОК РАЦІОНАЛІЗАТОРСЬКИХ ПРОПОЗИЦІЙ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Вентиляційний пристрій для витяжної шафи. Прийнято Харківським НДІ ім. Ситенка 5.06. 1985 р. № 947.
2. Пристрій для маркірування стекол при гістологічних дослідженнях. Прийнято Харківським НДІ ім. Ситенка 13. 11. 1985 р. № 953.

Шес -

463339

AB28.198

AB 28.198

План. до друку *11.04.93* Формат 60×84¹/₁₆. Папір. друк. Друк офсетний.
Умовн. друк. арк. *60* Умовн. фарбо-відб. *139* Облік-вид. арк. *60*
Тираж *100* прим. Зам. № *1311* . Безплатно.

Харківське орендне поліграфічне підприємство.
310093, Харків, вул. Свердлова, 115.