

Д.С. Носівець
В.В. Кошарний
В.Й. Мамчур
В.І. Опришко

ДЗ «Дніпропетровська
медична академія МОЗ
України»

Надійшла: 23.04.2019
Прийнята: 02.06.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.2.71-75>

УДК 616.441-008.64:616-018

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ L-ТИРОКСИНУ (ЛЕВОТИРОКСИНУ), ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ ТА ХОНДРОІТИНУ СУЛЬФАТУ НА ГІСТОЛОГІЧНУ СТРУКТУРУ ХРЯЩОВОЇ ТКАНИНИ ПРИ ГІПОТИРЕОЗІ ТА ОСТЕОАРТРОЗІ

Nosivets D.S.  ✉, Kosharniy V.V., Mamchur V.I., Opryshko V.I.  Research of the effect of combined application of L-thyroxine (levotiroxine), diclofenac sodium and chondroitin sulphate on the histological structure of the cartilage tissue for hypothyroidism and osteoarthritis.

SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine»

ABSTRACT. Background. The study of thyroid pathology revealed the connection of this pathology with degenerative-dystrophic diseases of the musculoskeletal system. It is known that thyroid hormones affect the metabolism of cartilage and bone tissues and conditions are created for the development of osteoarthritis in the hypofunction of the thyroid gland. For correction of pathological changes in the clinical setting, L-thyroxine is prescribed for basic replacement therapy for thyroid hypofunction, however, developed osteoarthritis requires the use of NSAIDs and chondroprotectors, the purpose of which is governed by clinical protocols for the treatment of osteoarthritis. **Objective.** To investigate the effect of the combined use of L-thyroxine, diclofenac sodium and chondroitin sulfate on the histological structure of cartilage tissue in hypothyroidism and osteoarthritis in experimental animals. **Methods.** The work used 30 white adult outbred rats of both sexes weighing 220-230 g. Experimental modeling of hypothyroidism consisted in using a 0.02% solution of carbimazole (5 mg per 250 ml of saline) in the rats' drinking diet for 6 weeks. Experimental osteoarthritis was reproduced by a single intra-articular injection of 0.1 ml of monoiodoacetic acid solution into knee joint of rats, which was prepared at the rate of 3 mg of reagent per 50 µl of sterile saline. The administration of drugs was carried out daily from the 42nd day of the experiment at the peak of an increase in pathological changes for 5 days. When the formation of experimental models was completed, animals were removed from the experiment by decapitation under thiopental anesthesia to study histo-morphological changes in the cartilage tissue of the knee joints. **Results.** Analysis of the histological structure of the cartilage of the knee joints of rats of experimental group number 3 showed that the cartilage and bone tissue of the knee joint of rats was almost the same in intact animals of group number 1 with the main parameters with the only difference that there was active regeneration of both cartilage and bone tissue with areas of neovascular genesis in group number 3. **Conclusion.** The studied effect of the combined use of L-thyroxine, diclofenac sodium and chondroitin sulfate on the histological structure of cartilage tissue in hypothyroidism and osteoarthritis in experimental animals established active regeneration of both cartilage and bone tissue with areas of neovascular genesis.


Key words: hypothyroidism, osteoarthritis, cartilage tissue, histological changes, pharmacotherapy, L-thyroxine, diclofenac sodium, chondroitin sulfate.

Citation:

Nosivets DS, Kosharniy VV, Mamchur VI, Opryshko VI. [Research of the effect of combined application of L-thyroxine (levotiroxine), diclofenac sodium and chondroitin sulphate on the histological structure of the cartilage tissue for hypothyroidism and osteoarthritis]. Morphologia. 2019;13(2):71-5. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.2.71-75>

 Nosivets D.S. 0000-0001-9954-6027

 Opryshko V.I. 0000-0002-8369-5439

✉ dsnosivets@ukr.net

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ

Дослідження питань патології щитоподібної залози (ЩЗ) виявило зв'язок цієї патології з дегенеративно-дистрофічними захворюваннями опорно-рухового апарату [1, 2]. Відомо, що гормони ЩЗ впливають на метаболізм хрящової та кісткової тканин та при гіпофункції ЩЗ створюються умови для розвитку остеоартрозу (ОА) [3, 4]. Для корекції патологічних змін в клінічних умовах призначається L-тироксин для базової замісної терапії гіпофункції ЩЗ проте, розвинутий ОА потребує використання НПЗЗ та хондропротекторів, призначення яких регламентується клінічними настановами з лікування ОА [5-9].

Раніше повідомлялось про вплив гормональної дисфункції ЩЗ на гістологічну структуру хрящової та кісткової тканин [2], проте питання впливу фармакотерапії на стан хрящової тканини у літературі розглянуте недостатньо.

Мета

Дослідити вплив комбінованого застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату на гістологічну структуру хрящової тканини при гіпотиреозі та остеоартрозі у експериментальних тварин.

Матеріали та методи

В роботі використано 30 білих статевозрілих безпородних щурів обох статей вагою 220-230 г. Догляд, утримання та годування тварин здійснювались згідно з вимогами нормативних документів у стандартних умовах віварію ДЗ «ДМА» [10].

До початку проведення дослідження комісія з питань біоетики ДЗ «ДМА МОЗ України» перевірила та погодила протокол дослідження, а також всі процедури, пов'язані з утриманням тварин, гуманного ставлення до них та їх використання в експерименті (відповідно до вимог GLP та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших завдань від 18.03.1986 р).

Експериментальне моделювання гіпотиреозу полягало у використанні 0,02% розчину карбімазолу (5 мг на 250 мл фізіологічного розчину) в питному раціоні щурів протягом 6 тижнів [11]. Верифікація адекватності моделі здійснювалася через 6 тижнів з моменту початку експерименту шляхом оцінки рівня ТТГ сироватки крові.

Експериментальний остеоартроз відтворювали шляхом однократного внутрішньосуглобового введення щурам 0,1 мл розчину моноіодоцтової кислоти у колінний суглоб, який готували з розрахунку 3 мг реактиву на 50 мкл стерильного фізіологічного розчину [12]. Верифікація моделі проводилася за рівнем біохімічних маркерів сироватки крові.

Введення препаратів здійснювали щоденно з 42 доби експерименту на піку наростання пато-

логічних змін впродовж 5 діб у дозах та режимах, відпрацьованих у лабораторіях кафедри фармакології та клінічної фармакології [8, 9].

Всі експериментальні тварини випадковим шляхом розділені на 3 групи:

1. Інтактні тварини (10 щурів).
2. Тварини з індукованим гіпотиреозом та остеоартрозом без лікування (10 щурів).
3. Тварини з індукованим гіпотиреозом та остеоартрозом на фоні призначення L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату (10 щурів).

Після завершення формування експериментальних моделей тварини виведені з експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом для вивчення гисто-морфологічних змін у хрящовій тканині колінних суглобів. Порівняльна характеристика проводилася на підставі вивчення гістологічної будови суглобового хряща колінних суглобів між експериментальними групами.

Відібрані зразки тканин щурів для подальшого гістологічного дослідження маркірувалися та фіксувалися 10% нейтральним розчином формаліну. Час фіксації тканин склав 5-7 діб. Декальцинацію зразків тканин проводили розчином 10% азотної кислоти. Зафіксовані зразки тканин після відповідного маркування заливали в целлоидин-парафін. Далі за допомогою мікротому готували тонкі зрізи товщиною 6-8 мкм та фарбували їх гематоксиліном і еозином. Мікрофотографування забарвлених гістологічних препаратів здійснювалося за загальними правилами мікрофотографування на мікроскопі Ulab XY-B2T.

Результати та їх обговорення

Гістологічна оцінка стану хрящової тканини у експериментальній групі № 2 показала, що структура хряща і субхондральної кістки піддається певним патологічним змінам. Місцями спостерігаються ділянки деструкції гіалінового хрящу (рис. 1). Поверхня надхряща має нерівний край, місцями спостерігається вакуолізація. Шари надхряща стерті за рахунок набухання тканини. Основна речовина хряща складається з безлічі дрібних клітин, згрупованих між собою. Глибокі зони мають гіперхромне базофільне забарвлення аморфної речовини, а також мають місце зони з деструкцією клітин, забарвлених гіперхромно, структуру їх неможливо розрізнити. Більш поверхневі зони мають прояснення за рахунок набухання аморфної речовини. Субхондральна кісткова тканина також має зміни хромофільності за рахунок посилення ступеня базофільності деяких трабекул. У деяких поверхневих ділянках кістки спостерігаються ділянки деструкції (рис. 1).

Порівняльний аналіз показав, що на гістологічному препараті хряща колінного суглоба щу-

рів експериментальної групи № 3 добре візуалізуються надхряща, основна речовина хряща та субхондральна кістка (рис. 2).

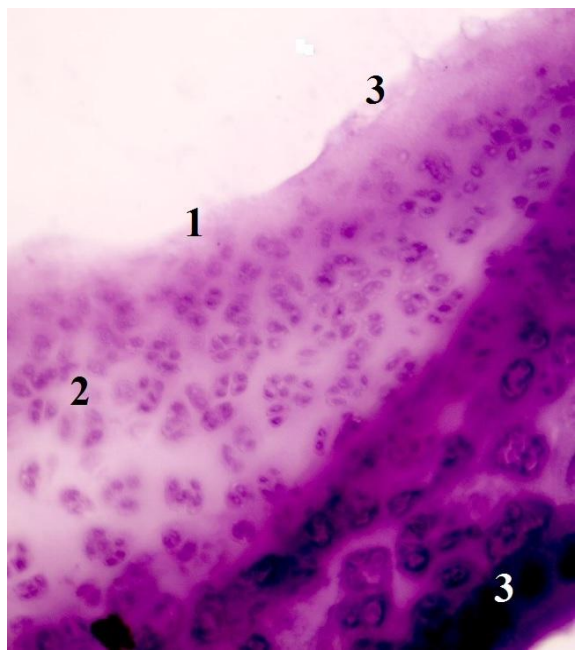


Рис. 1. Галіновий хрящ колінного суглобу щура з експериментальним гіпотиреозом та остеоартрозом (експериментальна група № 2): 1 – надхряща; 2 – основна речовина хряща; 3 - зони з деструкцією клітин. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

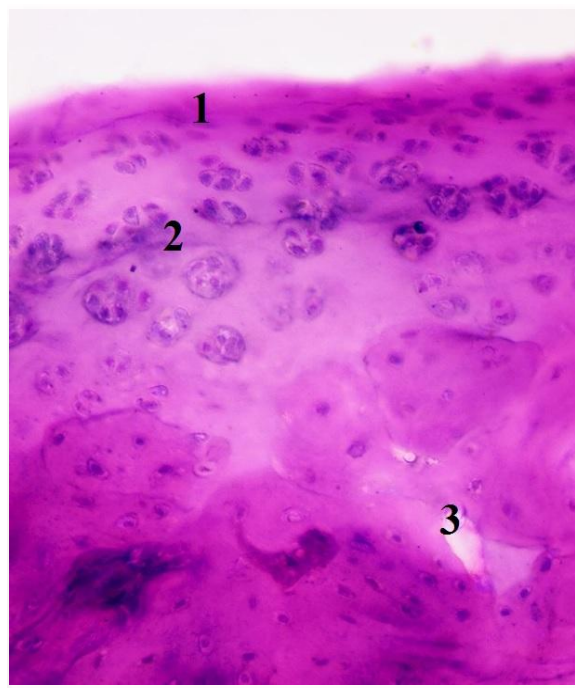


Рис. 2. Галіновий хрящ колінного суглобу щура з експериментальним гіпотиреозом та остеоартрозом (експериментальна група № 3): 1 – надхряща; 2 – хрящ; 3 – кісткові трабекули. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

Охрястя має товщину, яка в кілька разів менше товщини основної речовини. Зовнішній шар забарвлений помірно оксифільно, глибокий клітинний шар плавно переходить в основну речовину. Основна речовина хрящу представлена групами дрібних клітин, оточених контуром, що відокремлює кожну групу від аморфної речовини. Кількість клітин в групах коливається від 4-х до 10. Деякі групи мають клітини з інтенсивно базофільними ядрами. Межа між хрящовою та кістковою тканинами добре помітна. Остеоцити в складі кісткової тканини розташовуються окремо, мають базофільно пофарбовані округлі ядра. Основна речовина кісткових трабекул забарвлена помірно оксифільно, пластинки кісткової тканини мають впорядковану архітектуру. Між трабекулами проглядаються осередки кісткового мозку та судини (рис. 2).

Таким чином, при аналізі структури хрящової тканини колінних суглобів щурів експериментальної групи № 2 було встановлено, що спостерігаються ознаки запалення синовіальної оболонки, порушення структури надхряща з явищами набухання, порушення трофіки глибоких шарів хряща, що супроводжується деструкцією ряду хондроцитів, а також змінами гистохімічних властивостей аморфної речовини з окремими осередками порушення архітектури кісткових трабекул.

Аналіз гістологічної структури хрящової тканини колінних суглобів щурів експериментальної групи № 3 показав, що у препаратах добре візуалізуються надхряща, основна речовина хряща та субхондральна кістка. Було встановлено, що виражених ознак остеоартрозу в групі, що приймала L-тироксин, диклофенак натрію та хондроїтину сульфат, немає. Хрящова і кісткова тканина колінного суглоба щурів за основними параметрами була практично однаковою з інтактними тваринами групи № 1 з тією лише різницею, що мала місце активна регенерація як хрящової, так і кісткової тканини з ділянками неоваскулогенезу.

Висновки

1. Метаболічні порушення при остеоартрозі на фоні супутнього гіпотиреозу потребують фармакологічної корекції внаслідок розвитку процесу дегенерації хрящової тканини.

2. Досліджений вплив комбінованого застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату на гістологічну структуру хрящової тканини при гіпотиреозі та остеоартрозі у експериментальних тварин встановив активну регенерацію як хрящової, так і кісткової тканини з ділянками неоваскулогенезу.

3. Комбіноване застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату можна рекомендувати до клінічного застосування при гіпотиреозі та остеоартрозі.

Перспективи подальших досліджень

Подальші дослідження будуть спрямовані на пошук оптимальних засобів ефективної та безпечної фармакотерапії гіпотиреозу та остеоартрозу.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публі-

кації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Фармакологічний аналіз органота ендотеліопротекції за умов експериментальних патологічних станів» (номер державної реєстрації 0118U006631).

Літературні джерела

References

1. Teplova LV, Eremeeva AV, Baykova OA, Suvorova NA. Revmaticheskie proyavleniya gipotireoza [Rheumatic manifestations of hypothyroidism]. *Sovremennaya revmatologiya*. 2017;11(2):47-53. Russian.
2. Nosivets DS. Patologiya kistkovoyi ta hryaschovoyi tkanin na foni tireoyidnoyi disfunktsiyi [Pathology of bone and cartilage tissues against the background of thyroid dysfunction]. *Mat. XIX Mizhnar. medichnogo kongresu studentiv ta molodih vchenih. Ternopil: Ukrmedkniga*. 2015;486:298. Ukrainian.
3. Merson J. Hypothyroidism. *Journal of the American Academy of Physician Assistants*. 2018;31(12):43-44.
4. Diaz A, Lipman D. Hypothyroidism. *Pediatr Rev*. 2014;35(8):336-47.
5. Nosivets DS, Mamchur VI, Starovoytova NA. Osobennosti farmakoterapii degenerativno-distroficheskikh zabollevaniy oporno-dvigatel'nogo apparata pri komorbidnykh sostoyaniyakh [Features of pharmacotherapy of degenerative-dystrophic diseases of the musculoskeletal system in comorbid conditions]. *Mat. XVI Mezhdunar. konf. "Sovremennyye strategiya i taktika v nevrologii". Truskavets*. 2014:173-176. Russian.
6. Nosivets DS. Korektsiya proyaviv osteoartrozu pri suputnomu gipotireozi [Correction of manifestations of osteoarthritis with concomitant hypothyroidism]. *Fiziologichni ta biohimichni mehanizmi rozvitku i korektsiyi patologichnih staniv: materialy mizhvuz. nauk.-prakt. konf. molodih uchenih ta studentiv z mizhnar. uchastyu / redkol.: AL Zagayko, DI Marakushin, VM Kravchenko ta in. Harkiv: NFaU*. 2019;72:37. Ukrainian.
7. Nosivets DS. Farmakologichni aspekti vikoristannya nesteroyidnih protizapalnih zasobiv pri osteoartrozi za umov gipotireozu [Pharmacological aspects of the use of nonsteroidal anti-inflammatory agents in osteoarthritis in conditions of hypothyroidism]. *International scientific and practical conference «Prospects for the development of medicine in EU countries and Ukraine» Wloclawek, Republic of Poland, Wloclawek: Izdevnieciba «Baltija Publishing»*. 2018;140:44-6. Ukrainian.
8. Nosivets DS. Vikoristannya NPZZ ta hondroprotektoriv dlya likuvannya osteoartrozu na foni gormonalnoyi disfunktsiyi schitopodibnoyi zalozi [Use of NSAIDs and chondroprotectors to treat osteoarthritis against hormonal dysfunction of the thyroid gland]. *Mizhnar. naukovo-praktichna konf. «Suchasni standarti dIagnostiki ta likuvannya zahvoryuvan vnutrishnih organiv»*. Ivano-Frankivsk. 2018;112:68-9. Ukrainian.
9. Nosivets DS. Ratsionalnoe ispolzovanie NPVS i hondroprotektorov dlya lecheniya osteoartroza pri soputstvuyuschem gipotireoze [Rational use of NSAIDs and chondroprotectors for the treatment of osteoarthritis with concomitant hypothyroidism]. *Aktualnyie problemyi sovremennoy meditsinyi i farmatsii 2019: Sb. tezisov dokladov LXXIII Mezhdunar. nauchno-prakt. konf. studentov i molodyih uchyonyih. Minsk: BGMU*. 2019;1793:1495. Russian.
10. Stefanov OV. Doklinichni doslidzhennya likarskih zasobiv (metodichni rekomendatsiyi) [Preclinical research of medicinal products (methodical recommendations)]. *Vid. dim "Avitsena"*. 2002. 527 p. Ukrainian.
11. Argumedo GS, Sanz CR, Olguín HJ. Experimental models of developmental hypothyroidism. *Horm Metab Res*. 2012;44:79-85.
12. Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis Rheum*. 1997;40(9):1670-9.

Носівець Д.С., Кошарний В.В., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Дослідження впливу комбінованого застосування L-тироксину (левотироксину), диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату на гістологічну структуру хрящової тканини при гіпотиреозі та остеоартрозі.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Дослідження питань патології щитоподібної залози виявило зв'язок цієї патології з дегенеративно-дистрофічними захворюваннями опорно-рухового апарату. Відомо, що гормо-

ни щитоподібної залози впливають на метаболізм хрящової та кісткової тканин та при гіпофункції щитоподібної залози створюються умови для розвитку остеоартрозу. Для корекції патологічних змін в клінічних умовах призначається L-тироксин для базової замісної терапії гіпофункції щитоподібної залози проте, розвинутий остеоартроз потребує використання НПЗЗ та хондропротекторів, призначення яких регламентується клінічними настановами з лікування остеоартрозу. **Мета.** Дослідити вплив комбінованного застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату на гістологічну структуру хрящової тканини при гіпотиреозі та остеоартрозі у експериментальних тварин. **Матеріали та методи.** В роботі використано 30 білих статевозрілих безпородних щурів обох статей вагою 220-230 г. Експериментальне моделювання гіпотиреозу полягало у використанні 0,02% розчину карбімазолу (5 мг на 250 мл фізіологічного розчину) в питному раціоні щурів протягом 6 тижнів. Експериментальний остеоартроз відтворювали шляхом однократного внутрішньосуглобового введення щурам 0,1 мл розчину моноіодоцтової кислоти у колінний суглоб, який готували з розрахунку 3 мг реактиву на 50 мкл стерильного фізіологічного розчину. Введення препаратів здійснювали щоденно з 42 доби експерименту на піку наростання патологічних змін впродовж 5 діб. **Результати.** Аналіз гістологічної структури хрящової тканини колінних суглобів щурів експериментальної групи № 3 показав, що хрящова і кісткова тканина колінного суглоба щурів за основними параметрами була практично однаковою з інтактними тваринами групи № 1 з тією лише різницею, що мала місце активна регенерація як хрящової, так і кісткової тканини з ділянками неоваскулогенезу у групі № 3. **Висновки.** Досліджений вплив комбінованного застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату на гістологічну структуру хрящової тканини при гіпотиреозі та остеоартрозі у експериментальних тварин встановив активну регенерацію як хрящової, так і кісткової тканини з ділянками неоваскулогенезу.

Ключові слова: гіпотиреоз, остеоартроз, хрящова тканина, гістологічні зміни, фармакотерапія, L-тироксин, диклофенак натрію, хондроїтину сульфат.

Носивец Д.С., Кошарный В.В., Мамчур В.И., Опрышко В.И. Исследование влияния комбинированного применения L-тироксина (левотроксина), диклофенака натрия и хондроитина сульфата на гистологическую структуру хрящевой ткани при гипотиреозе и остеоартрозе.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Исследование вопросов патологии щитовидной железы выявило связь этой патологии с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями опорно-двигательного аппарата. Известно, что гормоны щитовидной железы влияют на метаболизм хрящевой и костной тканей и при гипофункции щитовидной железы создаются условия для развития остеоартроза. Для коррекции патологических изменений в клинических условиях назначается L-тироксин для базовой заместительной терапии гипофункции щитовидной железы однако, развившийся остеоартроз требует использования НПВС и хондропротекторов, назначение которых регламентируется клиническими протоколами по лечению остеоартроза. **Цель.** Исследовать влияние комбинированного применения L-тироксина, диклофенака натрия и хондроитина сульфата на гистологическую структуру хрящевой ткани при гипотиреозе и остеоартрозе у экспериментальных животных. **Материалы и методы.** В работе использовано 30 белых половозрелых беспородных крыс обоего пола весом 220-230 г. Экспериментальное моделирование гипотиреоза заключалось в использовании 0,02% раствора карбимазола (5 мг на 250 мл физиологического раствора) в питьевом рационе крыс в течение 6 недель. Экспериментальный остеоартроз воспроизводили путем однократного внутрисуставного введения крысам 0,1 мл раствора моноидуксусной кислоты в коленный сустав, который готовили из расчета 3 мг реактива на 50 мкл стерильного физиологического раствора. Введение препаратов осуществляли ежедневно с 42 суток эксперимента на пике нарастания патологических изменений в течение 5 суток. После завершения формирования экспериментальных моделей животные выведены из эксперимента путем декапитации под тиопенталовым наркозом для изучения гистоморфологических изменений в хрящевой ткани коленных суставов. **Результаты.** Анализ гистологической структуры хрящевой ткани коленных суставов крыс экспериментальной группы № 3 показал, что хрящевая и костная ткань коленного сустава крыс по основным параметрам была практически одинакова с интактными животными группы № 1 с той лишь разницей, что имела место активная регенерация как хрящевой, так и костной ткани с участками неоваскулогенеза в группе № 3. **Выводы.** Изучено влияние комбинированного применения L-тироксина, диклофенака натрия и хондроитина сульфата на гистологическую структуру хрящевой ткани при гипотиреозе и остеоартрозе у экспериментальных животных установлено активную регенерацию как хрящевой, так и костной ткани с участками неоваскулогенеза.

Ключевые слова: гипотиреоз, остеоартроз, хрящевая ткань, гистологические изменения, фармакотерапия, L-тироксин, диклофенак натрия, хондроитина сульфат.