

О.А. Григор'єва  
П.В. Богданов  
Т.М. Матвейшина  
Е.Р. Скаковський

Запорізький державний медичний університет,  
Запоріжжя, Україна

Надійшла: 22.08.2021

Прийнята: 14.09.2021

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.62-65>

УДК 611.718.018.4+[611.718:616.71-007.234-053.1-097.1]:577.175.5

## ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН СУБХОНДРАЛЬНОЇ КІСТКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОГО ВВЕДЕННЯ ГЛЮКОКОРТИКОІДУ ТА МОДЕЛЮВАННЯ ОСТЕОПОРОЗУ

Hryhorieva O.A. , Bohdanov P.V.  ✉, Matvieishyna T.M. , Skakovskiy E.R. **Comparative characteristics of changes in subchondral bone of rats after antenatal glucocorticoid administration and modeling of osteoporosis.** *Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine.*

**ABSTRACT. Background.** Osteoporosis is a progressive systemic bone disease that results in decreased bone mineral density and, as a result, increases the risk of bone fractures. Changes that occur in the subchondral bone in osteoporosis or because of hormones can cause degenerative changes in the articular cartilage that underlie osteoarthritis. **Objective.** The aim of the study was to identify and compare morphological changes that occur in the subchondral bone in experimental simulations of osteoporosis and in adult rats that were born from females that were exposed to glucocorticoid solution administration in the 3rd trimester of pregnancy. **Methods.** Tibias of 26 white mature laboratory rats were studied. In serial sections, the relative areas occupied by bone trabeculae and lacunae were calculated. **Results.** The relative area involving the bone trabeculae ( $23,2 \pm 3,70\%$ ) statistically significantly decreased at 21 day in the group of animals that undergone a simulation of osteoporosis in comparison with the control group. Similar changes are observed in the group of experimental animals that were born from females that were exposed to glucocorticoid solution administration in the 3rd trimester of pregnancy. **Conclusion.** Thus, the results of the study demonstrate the similarity of morphological changes occurring in the subchondral bone in rats that undergone a simulation of osteoporosis and rats that were born from females that were exposed to glucocorticoid solution administration in the 3rd trimester of pregnancy.


**Key words:** subchondral bone, bone trabeculae, lacunae, osteoporosis, glucocorticoid.

### Citation:

Hryhorieva OA, Bohdanov PV, Matvieishyna TM, Skakovskiy ER. [Comparative characteristics of changes in subchondral bone of rats after antenatal glucocorticoid administration and modeling of osteoporosis]. *Morphologia.* 2021;15(3):62-5. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.62-65>

 Hryhorieva O.A. 0000-0002-6101-8322

 Bohdanov P.V. 0000-0002-1533-6370

 Matvieishyna T.M. 0000-0002-9078-9580

✉ Pavel\_bogdanov@ukr.net

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

### Вступ

На сьогодні в Україні, як і в світі в цілому проблема остеопорозу займає одне з провідних місць серед захворювань кісток [1,2]. Остеопороз являє собою прогресуюче системне захворювання кісток, що приводить до зниження мінеральної щільності кістки, та як наслідок приводить до збільшення ризику виникнення переломів кісток. Проблема остеопорозу, та ще більше його наслідки мають велике медико-соціальне значення, адже приводять до тимчасової втрати працездатності серед людей працездатного віку. Переломи,

що виникають на тлі остеопорозу виявляють у кожній третій жінки віком понад 50 років та у кожного п'ятого чоловіка. Ризик виникнення переломів при остеопорозі у жінок становить 40-50%, а у чоловіків – 13-22% [3].

Субхондральна кістка являє собою периферичний відділ епіфіза, що безпосередньо розташований під суглобовим хрящем. Вона характеризується хорошим кровопостачанням та іннервацією. Від її морфо-функціональних особливостей в більшості залежить структура і трофіка суглобового хряща. Являючи собою крайову зо-

ну окістнення епіфіза субхондральна кістка блокує подальший ендохондральний остеогенез та зберігає цілісність суглобового хряща.

З іншого боку зміни, які виникають в субхондральній кістці можуть викликати дегенеративні зміни з боку суглобового хряща, що лежать в основі остеоартрозу [4]. Експериментально доведено, що ремоделювання субхондральної кістки являє собою важливий процес в патогенезі остеоартрозу [4,5]. Це пов'язано з властивістю субхондральної кістки продукувати біологічно активні речовини, такі як прозапальні цитокіни та фактори росту які впливаючи на хондроцити та матрикс глибокої зони суглобового хряща сприяють судинній інвазії та провокують деградацію хрящової тканини [6]. Процеси ремоделювання кісткової тканини регулюються як на місцевому так і на системному рівнях. Системний вплив відбувається в більшому за рахунок гормонів (паратиреоїдний гормон, кальцитонін, соматотропний гормон, тиреоїдні, статеві гормони та глюкокортикоїди).

#### Мета

Встановити та порівняти морфологічні зміни, що виникають в субхондральній кістці при експериментальному моделюванні остеопорозу та у статевозрілих щурів, народжених від самиць, яким вводили розчин глюкокортикоїду в 3 триместрі вагітності.

#### Матеріали та методи

В роботі було досліджено великогомілкову кістку 26 білих статевозрілих лабораторних щурів лінії «Вістар». Всіх тварин було умовно поділено на 4 групи по 6 щурів в кожній: перша група – контрольна; друга група – тварини з експериментальним остеопорозом на 21 добу експерименту; третя група – тварини з експериментальним остеопорозом на 160 добу експерименту; 4 група – 4-х місячні експериментальні тварини народжені від самиць, яким у третьому триместрі вагітності вводили глюкокортикоїд за методом І.Г. Павлової (1989р). В якості останнього було обрано гідрокортизон в дозуванні 10 мг/кг. Для моделювання остеопорозу використовували «ретинолову модель», 3-х місячним тваринам протя-

гом 15 діб внутрішньоочеревинно вводили ретинол ацетат в дозуванні 70 мг/кг [7], таким чином, щоб вік експериментальних тварин 2-ї і 3-ї груп можна було порівнювати. При роботі з тваринами дотримувались правил та норм встановлених "Європейською конвенцією по захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і інших наукових цілях" (Страсбург, 18.03.86р.) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 № 3447- IV, редакція від 09.12.2015, підстава 766-19). Для гістологічного дослідження вилучали лівий колінний суглоб. Матеріал фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну з подальшою декальцинацією та проводили по висхідній батареї спиртів за стандартною методикою. Зрізи завтовшки 5 мкм фарбували гематоксиліном та еозином. Відносну площу, яку займають балки та лакуни субхондральної кістки досліджували за допомогою модифікованої окулярної сітки А.А. Глаголева на умовній одиниці площі. Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики. Результати вважали достовірними при  $p \leq 0,05$ .

#### Результати та їх обговорення

В субхондральній кістці тварин всіх експериментальних груп та в контрольній групі переважає відносна площа, яку займають міжтрабекулярні простори (лакуни), що співпадає з даними досліджень, раніше проведених на кафедрі [5], табл.1.

В групі тварин після експериментального моделювання остеопорозу на 21 добу встановлено статистично значиме зменшення відносної площі яку займають кісткові трабекули ( $23,2 \pm 3,70\%$ ) у порівнянні з контролем ( $40,8 \pm 2,60\%$ ) з одночасним збільшенням відносної площі, яку складають міжтрабекулярні простори ( $76,8 \pm 3,70\%$  - у експериментальних тварин, та  $59,2 \pm 2,60\%$  в контролі).

При подальшому дослідженні в експериментальній групі тварин після моделювання остеопорозу спостерігається поступове збільшення відносної площі, яку займають кісткові трабекули в субхондральній кістці.

Таблиця 1

Відносна площа кісткових трабекул та лакун в субхондральній кістці проксимального епіфізу великогомілкової кістки щурів в нормі та експерименті

Контрольна група		Експериментальні групи					
Кісткові трабекули, %	Лакуни, %	I		II		III	
		Кісткові трабекули, %	Лакуни, %	Кісткові трабекули, %	Лакуни, %	Кісткові трабекули, %	Лакуни, %
40,8±2,60	59,2±2,60	23,2±3,70*	76,8±3,70*	40,7±3,80	59,3±3,80	30,5±4,90*	69,50±4,90*

Примітки: I - 21 доба після моделювання остеопорозу; II - 160 доба після моделювання остеопорозу; III - 120 життя доба після введення гідрокортизону самицям в 3 триместрі вагітності; \* - достовірно при  $p \leq 0,05$  по відношенню до контрольної групи.

Так на 160 добу після моделювання остеопорозу відносна площа, яку займають кісткові трабекули складає  $40,7 \pm 3,80\%$  ( $40,8 \pm 2,60\%$  в контрольній групі); відносна площа міжтрабекулярних просторів у експериментальних тварин складає  $59,3 \pm 3,80\%$  ( $59,2 \pm 2,60\%$  в контрольній групі). Такі зміни з одного боку можуть свідчити про активні процеси ремоделювання в субхондральній кістці, а з іншого боку можуть виникати в наслідок змін еластичності та пружності кісток та ущільнення кістки.

В групі експериментальних тварин, народжених від самиць, яким у 3 триместрі вагітності вводили суспензію гідрокортизону на 120 добу життя спостерігається зменшення відносної площі, яку займають кісткові трабекули ( $30,5 \pm 4,90\%$ ) у порівнянні з контролем ( $40,8 \pm 2,60\%$ ), та одночасне збільшення відносної площі, що займають міжтрабекулярні простори ( $69,50 \pm 4,90\%$ ).

Точні механізми впливу глюкокортикоїдів на кісткову тканину залишаються спірними. Встановлено, що глюкокортикоїди знижують абсорбцію кальцію в кишківнику, збільшують екскрецію кальцію з сечею, підвищують секрецію або активність паратгормону, зменшують продукцію гонадотропінів та статевих гормонів, викликають зниження м'язової маси, деградацію колагену. Впливають на внутрішньоклітинні регуляторні системи моделювання та ремоделю-

вання кісткової тканини. Вище перераховані механізми стимулюють активність остеокластів і збільшують резорбцію кістки, порушують мікроархітектуру [8,9].

#### **Висновки**

Таким чином результати дослідження демонструють схожість морфологічних змін, що виникають в субхондральній кістці у щурів з експериментальним остеопорозом та щурів, народжених від самиць, яким у третьому триместрі вагітності вводили глюкокортикоїд.

#### **Перспективи подальших розробок**

В подальшому планується продовжити дослідження морфологічних змін кісток при експериментальному остеопорозі з використанням композитних матеріалів.

#### **Джерела фінансування**

Робота виконана в рамках науково-дослідних тем «Морфологічні особливості перебудови кісток в умовах їх полісегментарного ушкодження та хірургічної корекції» (номер державної реєстрації 0120U103164) та «Особливості будови органів щурів після дії факторів різної природи в пре- і постнатальному періоді» (номер державної реєстрації 0120U103118).

#### **Інформація про конфлікт інтересів**

Потенційних або явних конфліктів інтересів, пов'язаних з цим рукописом, на момент публікації не існує і не передбачається.

### **Літературні джерела References**

1. Holzer G, Holzer LA. Osteoporosis and joint replacement. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2018;16(3):251-256. DOI: 10.25298/2221-8785-2018-16-3-251-256.
2. Shuba NM. [Osteoporosis is an urgent problem of the 21st century: the modern idea of pathogenesis and therapy]. *Ukrainian Journal of Rheumatology*. 2008;2(32):5-14. Russian.
3. Harvey NC, McCloskey E, Kanis JA. Use of FRAX® in men. *Joint Bone Spine*. 2016;83(5):477-480. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2016.03.007>
4. Murylyov VU, Sorokina GL, Kurilina EV. [Subchondral bone condition and total knee arthroplasty in patients with knee osteoarthritis]. *Osteoporosis and Bone Diseases*. 2017;20(1):12-16. Russian. DOI: 10.14341/osteo2017112-16.
5. Kabalik MA. [Assessment of changes in the subchondral bone in osteoarthritis]. *Medical almanac*. 2017;5(50):181-184. Russian.
6. Hryhorieva OA, Monina OV. [Features of

the reactivity of the subchondral bone of rats in the early postnatal period after administration of hydrocortisone to pregnant women]. *World of medicine and biology*. 2014;4(47):104-107. Russian.

7. Wang X, Liang T, Zhu Y, Qiu J, Qiu X, Lian C. Melatonin prevents bone destruction in mice with retinoic acid-induced osteoporosis. *Molecular Medicine*. 2019;25(1):2-14. <https://doi.org/10.1186/s10020-019-0107-0>

8. Kabalik MA, Nevsorova VA. [Molecular and cellular effects of intra-articular administration of betamethasone in experimental osteoarthritis]. *Genij oorthopedii*. 2020;26(1):65-71. Russian. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-1-65-71.

9. Hryhorieva OA, Pivtorak VI, Popovich YY, Abrosimov YY, Tavrog ML. Peculiarities of synovocytes and chondrocytes proliferative activity in rats with experimental model of undifferentiated dysplasia of connective tissue. *World of medicine and biology*. 2021;2(76):198-202.

Григор'єва О.А., Богданов П.В., Матвейшина Т.М. Скаковський Е.Р. Порівняльна характеристика змін субхондральної кістки щурів після внутрішньоутробного введення глюкокортикоїду та моделювання остеопорозу.

**РЕФЕРАТ. Актуальність.** Остеопороз являє собою прогресуюче системне захворювання кісток, що приводить до зниження мінеральної щільності кістки, та як наслідок приводить до збільшення ризику виникнення переломів кісток. Зміни, які виникають в субхондральній кістці при остеопорозі або в наслідок дії гормонів можуть викликати дегенеративні зміни з боку суглобового хряща, що лежать в основі остеоартрозу. **Мета** дослідження - встановити та порівняти морфологічні зміни, що виникають в субхондральній кістці при експериментальному моделюванні остеопорозу та у статевозрілих щурів, народжених від самиць, яким вводили розчин глюкокортикоїду в 3 триместрі вагітності. **Методи.** В роботі досліджено великогомилкову кістку 26 білих статевозрілих лабораторних щурів. В серійних зрізах підраховували відносну площу, яку займають кісткові трабекули та лакуни. **Результати.** У тварин після експериментального моделювання остеопорозу на 21 добу встановлено статистично значиме зменшення відносної площі яку займають кісткові трабекули ( $23,2 \pm 3,70\%$ ) у порівнянні з контролем. Схожі зміни відмічаються в групі статевозрілих експериментальних тварин, народжених від самиць, яким у 3 триместрі вагітності вводили суспензію гідрокортизону. **Висновки.** Таким чином результати дослідження демонструють схожість морфологічних змін, що виникають в субхондральній кістці у щурів з експериментальним остеопорозом та щурів, народжених від самиць, яким у третьому триместрі вагітності вводили глюкокортикоїд.

**Ключові слова:** субхондральна кістка, кісткові трабекули, лакуни, остеопороз, глюкокортикоїд.

Григорьева А.А., Богданов П.В., Матвейшина Т.М. Скаковский Э.Р. Сравнительная характеристика изменений субхондральной кости крыс после внутриутробного введения глюкокортикоида и моделирования остеопороза.

**РЕФЕРАТ. Актуальность.** Остеопороз представляет собой прогрессирующее системное заболевание костей, которое приводит к снижению минеральной плотности кости, и как следствие приводит к увеличению риска возникновения переломов костей. Изменения, которые возникают в субхондральной кости при остеопорозе или вследствие действия гормонов могут вызвать дегенеративные изменения со стороны суставного хряща, лежащие в основе остеоартроза. **Цель** исследования – установить и сравнить морфологические изменения, возникающие в субхондральной кости при экспериментальном моделировании остеопороза и у половозрелых крыс, родившихся от самок, которым вводили глюкокортикоид в 3м триместре беременности. **Методы.** В работе исследовали большеберцовую кость 26 белых половозрелых лабораторных крыс. В серийных срезах подсчитывали относительную площадь, которую занимают костные трабекулы и лакуны. **Результаты.** У животных после экспериментального моделирования остеопороза на 21 сутки установлено статистически значимое уменьшение относительной площади, занимаемой костными трабекулами ( $23,2 \pm 3,70\%$ ) по сравнению с контролем. Похожие изменения отмечаются в группе половозрелых экспериментальных животных, рожденных от самок, которым в 3-м триместре беременности вводили суспензию гидрокортизона. **Выводы.** Таким образом результаты исследования демонстрируют сходство морфологических изменений, возникающих в субхондральной кости у крыс с экспериментальным остеопорозом и крыс, родившихся от самок, которым в третьем триместре беременности вводили глюкокортикоид.

**Ключевые слова:** субхондральная кость, костные трабекулы, лакуны, остеопороз, глюкокортикоиды.