

The aim of our study was to investigate the structural changes of periodontal tissues in experimental periodontitis on the background of hypothyroidism.

The study was conducted on 36 white male rats, which were divided into the following groups: I – control animals; II – animals with the model of periodontitis; III – rats with periodontitis and hypothyroidism. Periodontal tissues were subjected to histological examination on the 22nd day of the study.

In experimental periodontitis, reorganization of all structural components of the periodontium was established, which was manifested by changes in the epithelium of the mucous membrane of the gums, both free and areas of the furrow and attachment. An increase in the stratum corneum of the epithelium and a thickening of the prickly one were found. In the connective tissue of the gum, the signs of collagen degradation are determined against the background of disorganization. The reaction of the vascular bed was manifested by enlargement, hemorrhage of the veins and hemocapillaries, and narrowing of the lumens and thickening of the artery wall, which probably worsens the trophic cells of the epithelial plate, the connective tissue of the mucous membrane and is manifested by amphoric swelling.

In case of periodontitis on the background of hypothyroidism destructive and necrotic changes of the epithelial and own plaque of the gums, periodontium, blood vessels, alveolar process and cement of the root of the tooth are established, which testifies to the suppression of the adaptive-compensatory and reparative processes and have irreversible processes.

Key words: periodontitis, hypothyroidism, periodontium, structural changes.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 29.08.2019 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2019-3-152-319-324

УДК 616.728.3-002-001-08

Яковенчук Н. М.

ЕКСПРЕСІЯ МЕТАЛЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 В СУГЛОБОВОМУ ХРЯЩУ ТА СУБХОНДРАЛЬНІЙ КІСТЦІ В УМОВАХ ОСТЕОАРТРОЗУ ТА ОСТЕОПОРОЗУ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

КЗ «Сумська обласна клінічна лікарня» (м. Суми)

nataliyayakovenchuk@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є фрагментом дослідження по темі «Вивчити загальні ланки в механізмі патогенезу остеопорозу, остеoarтрозу та остеохондрозу хребта для обґрунтування підходів підвищення ефективності діагностики, профілактики та лікування». Шифр теми ЦФ.2017.1.НАМНУ, № державної реєстрації 0117U001021.

Вступ. Матриксні металлопротеїнази (ММП) здатні розщеплювати практично всі компоненти органічного матриксу сполучних тканин. Ці біологічно активні молекули впливають на кілька фізіологічних подій, таких як розвиток, ремоделювання кісткової тканини та її гомеостаз. ММП відносяться до сімейства цинк-залежних ендопротеаз, які виконують множинні ролі в перебудові тканин і деградації різних білків у позаклітинному матриксі. ММП стимулюють проліферацію, міграцію і диференціювання клітин, грають роль у апоптозі клітин, ангиогенезі, відновленні тканин і імунній відповіді. ММП також впливають на біоактивні молекули клітинної поверхні і модулюють клітинні та сигнальні шляхи. Зміни в експресії й активності ММП відбуваються в нормальних біологічних процесах, наприклад, під час вагітності та загоєнні ран, але також спостерігаються при серцево-судинних захворюваннях, таких як атеросклероз, аневризми і варикозне розширення вен, скелетно-м'язові порушення, такі як остеоартрит і резорбція кістки, при онкологічних процесах. ММП також залучені в прогресування пухлини і інвазивність [1,2]. З часу відкриття колагенази (ММП-1), більше половини представників ММП були виявлені в кістковій тканині як при фізіологічних, так і при патологічних станах. Сьо-

годні відомо, що ММП приймають участь в розвитку, регенерації кісткової тканини, а саме впливають на проліферацію і диференціювання хондроцитів та остеобластів, функціонування остеокластів й остеоцитів, моделювання та ремоделювання кістки, ангиогенез. Дисфункція ММП в повній мірі може спричинити зміни в якості кісткової тканини [3]. Сьогодні відомо, що підвищення експресії ММП лежить в основі патологічних процесів, таких як остеопороз та остеоартроз, особливо це стосується експресії ММП-1, -2, -9, -13, і -14, які вирають значну роль в ремоделюванні кісткової та хрящової тканин [4].

Дотепер описано понад 60 різних ферментів, що входять до складу сімейства ММП, з яких понад 20 виявляються в тканинах людини, в хребетних тваринах виділено майже 24 ММП, з яких 23 експресуються в тканинах людини [5]. ММП грають важливу роль у фізіологічних процесах, в тому числі й ремоделюванню кістки, а також в різних патологічних процесах. При остеоартрозах показано підвищення рівня ММП в хрящовій тканині та синовіальній рідині, в тому числі й ММП-1 [6,7].

Металлопротеїназа-1 – це тканинний фермент, який синтезується в нормальних та патологічних станах фібробластами, хондроцитами, синовіоцитами, епітеліальними клітинами, остеобластами, макрофагами тощо [8,9]. Цей фермент гідролізує спіральну ділянку колагенів I, II, III типів. Крім того, ММП-1 гідролізує мінорні колагени VII і X типів, а також білки сполучно-тканинного матриксу: ентактин, агрекан і, крім того, казеїн, α 2-макроглобулін, тощо [10,11]. Більшість проведених досліджень оснований на визначенні експресії ММП-1 у суглобовому хрящі. У зв'язку

з численними ефектами дії ММП-1 на матрикс сполучної тканини, важливим напрямком дослідження є визначення її експресії не тільки в суглобовому хрящі, але й в синовіальній мембрані, субхондральній кістці, структурно-функціональні показники яких погіршуються у разі артрозу.

Мета дослідження: на основі імуногістохімічного дослідження вивчити експресію ММП-1 в суглобовому хрящі і субхондральній кістці дистального відділу стегнової кістки в умовах моделювання остеопорозу та остеоартрозу у тварин та в препаратах, отриманих після ендопротезування колінного суглобу хворих похилого віку, які страждають на остеоартроз та остеопороз.

Об'єкт і методи дослідження. В якості об'єкту було досліджено експресію ММП-1 в складових колінного суглоба та субхондральній кістці щурів в умовах моделювання остеопорозу й остеоартрозу шляхом оваріоектомії, а також у препаратах колінного суглоба 24 хворих після ендопротезування. Для моделювання артрозу використано метод оваріоектомії тварин з дотриманням вимог, описаних у літературі [12,13,14]. Експеримент було проведено на 12 щурах-самках в експериментально-біологічній клініці ДУ «Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка НАМН України» з додержанням правил гуманного відношення до експериментальних тварин та аспекти згідно з директивними документами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовують для дослідних та інших наукових цілей» та Закону України [15,16]. Дослідження було виконано з дотриманням норм біоетики (протокол № 155 від 29.06.2016 р). Після оваріоектомії через 3 міс. проведено дослідження стану капсули колінного суглоба, суглобового хряща та субхондральної кістки. У якості контролю використані аналогічні зразки хібнооперованих щурів. Попередні гістологічні дослідження, щодо проявів дегенеративних змін в колінному суглобу щурів після оваріоектомії, були представлені в нашій попередній роботі [17]. Для оцінки експресії ММП-1 в тканинах колінного суглобу щурів та зразків з дистального відділу стегнової кістки хворих після проведення ендопротезування фіксували в 10% формаліні, декальцинували (10% EDTA), заключали в парафін, виготовляли зрізи 5-6 мкм. Використано метод імуногістохімічного аналізу з моноклональними антитілами. Вивчення особливостей будови кістково-хрящового сегменту головки стегнової кістки проводили шляхом поетапного приготування гістологічних препаратів. Після виділення тканин їх фіксували у розчині Карнуа протягом 24 годин. Декальцинацію проводили у розчині мурашиної кислоти протягом 7-21 діб при умові щоденної зміни розчину. За наявності ознак остаточно завершеної декальцинації (оцінювали за допомогою голкового тесту) тканину зневоднювали та просочували парафіном в апараті карусельного типу «ТМ-4М». З метою детального вивчення гістоархітеконики кістково-хрящової тканини виготовлялися

надтонкі зрізи (5×10^{-6} м) з послідовним забарвленням препаратів гематоксиліном та еозином [18,19].

Імуногістохімічне дослідження виконано на зрізах декальцинованої кістково-хрящової тканини після видалення парафіну, зневоднення у ксилолі та спиртах у знижуючих концентраціях. Демаскування антигенів проводили у водяній бані «ВБ-4» при температурі 97-98 °С у цитратному буфері (рН – 7,0). Наявність клітинних антигенів візуалізовано за допомогою системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP DAB Chromogen» («Thermo scientific», США), яка включала блокування ендогенної активності пероксидази перекинем водню, пригнічення фонового забарвлення з використанням «Ultra V block», посилення реакції «Primary Antibody Amplifier Quanto». Кінцева візуалізація проведена діамінобензидином з наступним забарвленням ядер гематоксиліном Маєра. У дослідженні використано антитіло ММП-1 («Thermo scientific»,США) від імунізованої тварини (кролик), що є поліклоном з розведенням 1:50 та локалізацією в цитоплазмі клітини.

Для винесення рішення про рівень експресії ММП-1 в кістковій та хрящовій тканинах проводилось дослідження зображення забарвленого імуногістохімічного препарату з використанням світлового мікроскопу та шкали Allred [20,21,22,23]. Шкала Allred є напівкількісною системою оцінки показників імуногістохімічної реакції в балах за двома ознаками (**рис. 1**): співвідношення позитивно забарвлених клітин (за шкалою 0-5) та інтенсивність забарвлення (за шкалою 0-3), **табл.** Ці показники підсумовували (А+Б) для отримання загальних балів експресії ММП-1 в синовіальній мембрані, суглобовому хрящі та субхондральній кістці.

Таблиця – Загальна оцінка імунореактивності клітин (адаптовано за Allred D.C. et al. [21])

Забарвлення (А), бали	Частка позитивно забарвлених клітин	Інтенсивність (Б), бали	Визначення інтенсивності позитивно забарвлених клітин
0	відсутність	0	відсутність
1	<1/100 (<1%)	1	слабке
2	1/100 – 1/10 (1-10%)	2	помірне/середнє
3	1/10 – 1/3 (11 -33%)	3	сильне
4	1/3 – 2/3 (34 -66%)		
5	>2/3 (67-100%)		

Результати дослідження та їх обговорення. Експериментальне дослідження. Після постановки імуногістохімічної реакції на ММП-1 в тканинах колінного суглобу щурів на тлі оваріоектомії позитивна імунореактивність була присутня у всіх складових суглоба і прилеглій субхондральній кістці (**рис. 2 А, Б**).

У разі дослідження експресії ММП-1 клітинами суглобового хряща відповідно зонам, визначено, що імунопозитивні хондроцити переважали в вузькому поверхневому шарі в клітинах та матриксі, а також в проміжній зоні.

В глибокій зоні та в кальцифікованому хрящі також відмічено експресію ММП-1 хондроцитами, однак інтенсивність забарвлення була нижче порівняно з іншими зонами суглобового хряща.

Найбільше виражену експресію ММП-1 було зафіксовано в капсулі суглоба та в міжтрабекулярних порожнинах субхондральної кістки. В капсулі імунопозитивну реакцію на ММП-1 виявлено як у синовіальному шарі, так й в фібробластах вище розташованого відділу капсули. За даними літератури відмічений високий рівень ММП-1 в синовіальній рідині в умовах експериментально модельованого артрозу [8,24,25]. За нашими даними, це може бути в сукупності відображенням секреції ММП як клітинами синовіальної мембрани, так і хондроцитами, що безумовно погіршує стан суглобового хряща.

Одним з досліджень, в якому встановлено, що на ранній стадії модельованого артрозу вищий рівень ММП-1 визначався в суглобовому хрящу в порівнянні з показником синовії, на основі цього автори зробили висновок, що первинні зміни прогресують в суглобовому хрящу, однак синовіт також впливає на деградацію хряща, особливо в середній та пізній стадіях розвитку артрозу [26,27].

Підвищена експресія ММП-1 була характерна для клітин міжтрабекулярних просторів, при цьому ММП-1 накопичувалася в ретикуло-волокнистій стромі.

У суглобовому хрящу та кістковомозкових порожнинах субхондральної кістки хибнооперованих тварин показник експресії ММП-1 хондроцитами й клітинами червоного кісткового мозку був низький, лише поодинокі клітини експресували цей фермент (рис. 3). В кісткових трабекулах експресія остеоцитами ММП-1 була підвищена (рис. 4).

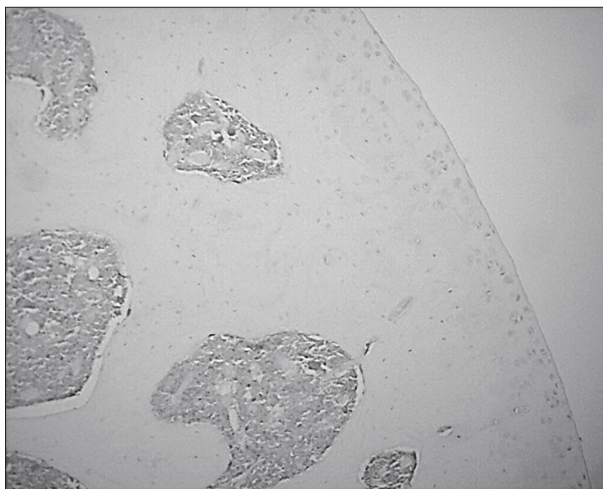


Рисунок 3 – Суглобовий хрящ та субхондральна кістка. Поодинокі клітини, які експресують ММП-1 в міжтрабекулярних просторах. 36. 100.

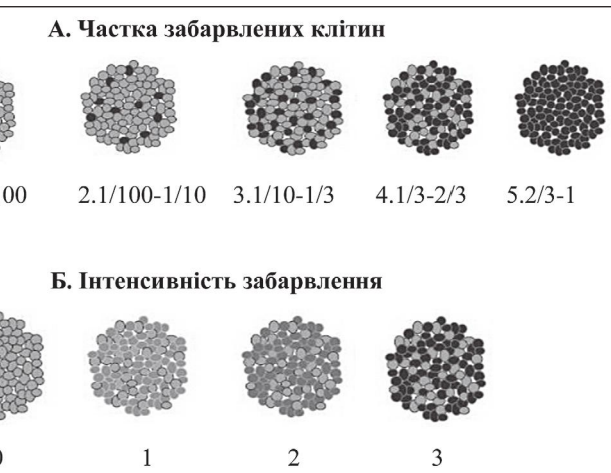


Рисунок 1 – Шкала оцінки співвідношення позитивно забарвлених клітин та інтенсивності забарвлення: 1 – відсутність забарвлення, 2 – слабе забарвлення, 3 – середнє забарвлення, 3 – сильне забарвлення. Адаптовано за Allred D.C. et al. [21].



Рисунок 2 – Колінний суглоб щура. А. Дистальний відділ стегнової кістки. Наколінник. Капсула суглоба. ММП-1. Б. Суглобовий хрящ. Позитивна реакція в хондроцитах на ММП-1 різної інтенсивності. А. 36. 100. Б. 36.200.

Дослідження зразків суглобового хряща та субхондральної кістки у хворих на артроз, отриманих після ендопротезування колінного суглоба. Визначено, що у разі артрозу III-IV стадії за Kellengren, на тлі виражених дегенеративних змін в суглобовому хрящу, збережені лише поодинокі клітини які експресують ММП-1. Такі клітини присутні в основному в кальцифікованому суглобовому хрящу та поодинокі в залишках некальцифікованого хряща, в ізоген-

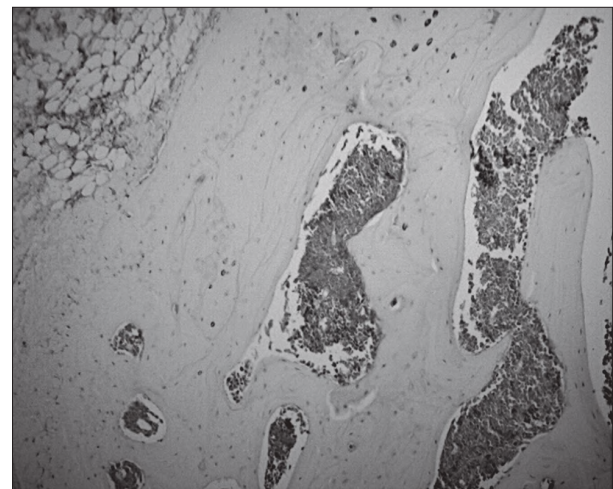


Рисунок 4 – Кісткові трабекули. Експресія ММП-1 остеоцитами. 36. 100.

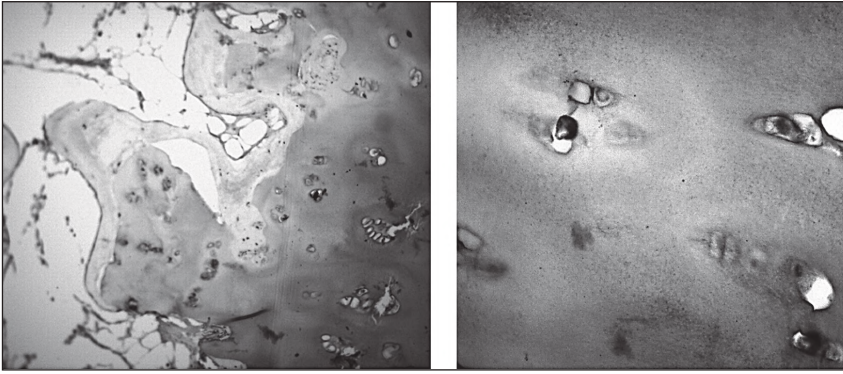


Рисунок 5 – Експресія ММП-1. А. Імунореактивні хондроцити кальцифікованого хряща. Б. Імунореактивність хондроцитів ізогенних груп та розташування ММП-1 в матриксі. А. 36. 100. Б. 36. 200.

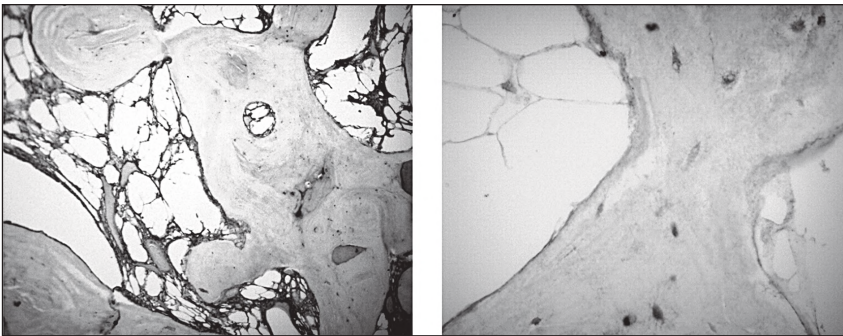


Рисунок 6 – Міжтрабекулярні простори. А. ММП-1 в фіброретикулярній стромі. Б. Експресія ММП-1 остеоцитами. А. 36. 100. Б. 36. 200.

них групах хондроцитів та матриксі навколо них (рис. 5 А, Б). Таке розташування ММП-1 сприяє підсиленій деградації матриксу. Присутність ММП-1 визначали в ретикуло-волокнистій стромі міжтрабекулярних просторів субхондральної кістки (рис. 5 А, 6 А). Однак в більшій частині зразків в цих ділянках визначено набряк або пустоти. В кісткових трабекулах виявлено остеоцити з імунопозитивною реакцією на ММП-1 (рис. 6 Б).

За шкалою Allred визначено, що в разі експериментального моделювання артрозу щурів, частка клітин, які мали характерну імунопозитивність за бальною оцінкою, була присутня як в суглобовому хрящу, так й прилеглій кістці, однак частка клітин та інтенсивність забарвлення була підвищена в суглобовому хрящу (рис. 7).

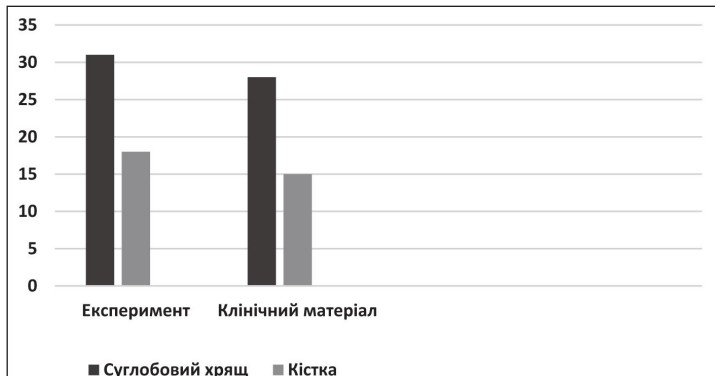


Рисунок 7 – Сумарна оцінка (в балах) частки імунопозитивних клітин та інтенсивності реакції ММП-1 в субхондральній кістці та суглобовому хрящу в експериментальному та клінічному матеріалі хворих на артроз.

На підставі статистичного аналізу в умовах загальної оцінки балів клінічного матеріалу за Манном-Уїтні встановлена значущість (результат: $U_{\text{Емп}} = 60,5$; $p < 0,01$) між сумарними показниками імунопозитивності ММП-1 хондроцитів суглобового хряща та остеоцитів субхондральної кістки. Аналогічні дані отримані й в експерименті на щурах ($U_{\text{Емп}} = 63$, $p < 0,01$). Імунопозитивність була в 1,7 та 1,9 рази більше в суглобовому хрящу порівняно з кісткою на клінічному матеріалі та в експерименті, відповідно.

Внаслідок порівняння даних експерименту за імунопозитивністю клітин в матеріалі субхондральної кісткової тканини та суглобовому хрящу колінних суглобів хворих, низька інтенсивність забарвлення може бути пов'язана зі збільшенням проявів деструктивних змін клітин, враховуючи ступінь розвитку артрозу. На наш погляд, експресія ММП-1 в тканинах суглобового хрящу та субхондральної кістки відображає посилення проявів артрозу. В умовах експерименту за наявності ранніх дегенеративних змін, зафіксовано більше виражену експресію ММП-1 в суглобовому хрящу.

В цілому, біосинтез клітинами ферменту деградації ММП-1 в кістці та суглобовому хрящу сприяє взаємоіндукуванню патологічних змін з різними проявами, в залежності від стадії артрозу та проявів остеопорозу.

Висновки. На основі імуногістохімічного дослідження ММП-1 визначено, що в умовах індукованого артрозу в щурів експресія відмічається в хондроцитах усіх зон суглобового хряща з підвищенням інтенсивності в поверхневій та проміжній зонах. У капсулі суглоба та міжтрабекулярних просторах субхондральної кістки рівень експресії ММП-1 високий. На клінічному матеріалі, отриманому після ендопротезування колінних суглобів хворих на артроз, доведено, що остеоцити та хондроцити експресують ММП-1 в різних співвідношеннях, внаслідок прояву артрозу, що посилює стан дегенеративних змін в суглобі. За сумарною напівкількісною оцінкою (бали) імунопозитивність була в 1,7 та 1,9 рази більше в суглобовому хрящу порівняно з кісткою на клінічному матеріалі та в експерименті, відповідно.

Перспективою подальших досліджень буде визначення експресії складових матриксу (остеокальцин й остеоонектін) суглобового хряща хворих на остеоартроз на матеріалі, отриманому після хірургічного лікування.

Література

1. Liu J, Khalil RA. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;148:355-420.
2. Cui N, Min H, Raouf AK. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;147:1-73.
3. Paiva KBS, Granjeiro JM. Matrix Metalloproteinases in Bone Resorption, Remodeling, and Repair. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;148:203-303.
4. Liang HPH, Xu J, Jackson CJ. Matrix metalloproteinases in bone development and pathology: current knowledge and potential clinical utility. *Dove Medical Press.* 2016;3:93-102.
5. Markelova EV, Zdor VV, Romanchuk AL, Birko ON. Matriksnyie metalloproteinazy ih vzaimosvyaz s sistemoy tsitokinov, diagnosticheskii y prognosticheskii potentsial. *Immunopatologiya, Allergologiya, Infektologiya.* 2016;2:11-22. [in Russian].
6. Yan ZW, Dong J, Qin CH, Zhao C, Miao L, He C. Therapeutic Effect of Chenodeoxycholic Acid in an Experimental Rabbit Model of Osteoarthritis Mediators Inflamm. 2015;2015:780-9.
7. Vein SA, Zainab A, Aldaher SH, Abdul-Kareem, Heba FH. Estimation of Serum Matrix Metalloproteinases-1 Levels in Iraqi Female Patients with Osteoarthritis. *Int J Med Res Health Sci.* 2018;7(5):18-22.
8. Brandon JR, David L, Kooyman A. Tale of Two Joints: The Role of Matrix Metalloproteases in Cartilage Biology. *Dis Markers.* 2016;2016:7.
9. Burrage PS, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front Biosci.* 2006 Jan 1;11:529-43.
10. Rogova LN, Zamechnik TB, Fastova IA, Shesternina NV. Matriksnyie metalloproteinazy, ih rol v fiziologicheskikh i patologicheskikh protsessah (obzor). *Vestnik novyih meditsynskikh tehnologiy.* 2011;2:86-9. [in Russian].
11. Meszaros E, Malemud CJ. Prospects for treating osteoarthritis: enzyme–protein interactions regulating matrix metalloproteinase activity. *Ther Adv Chronic Dis.* 2012;3(5):219-29.
12. Povoroznyuk VV, Dedukh NV, Grigoreva NV, Gopkalo IV. Eksperimentalnyy osteoporoz. K.: 2012. 228 s. [in Russian].
13. Povoroznyuk VV, Grigoreva NV. Osteoartroz u zhenshin v postmenopauze: faktory riska i svyaz s kostnoj tkanyu. *Endokrinologiya.* 2012;6(8):64-71. [in Russian].
14. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. The Laboratory Rat as an Animal Model for Osteoporosis. *Research Comp Med.* 2008;58(5):424-30.
15. Evropeyska konventsia pro zahist hrebetnih tvarin, scho vikoristovuyutsya dlya doslidnih ta inshih naukovih tsiley. Strasburg, 18 bereznya 1986 roku: ofitsiyniy pereklad [Internet]. Verhovna Rada Ukrainy. Ofits. veb-sayt. (Mizhnarodniy dokument Radi Evropi). Dostupno: http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=994_137 [in Ukrainian].
16. Zakon Ukrainy № 3447-IV vid 21.02.2006 «Pro zahist tvarin vid zhorstokogo povodzhennya» (Statyia 26). [in Ukrainian].
17. Yakovenchuk NM, Diedukh NV. Morfolohiia suhlobovoho khriashcha ta subkhondralnoi kistky pislia modeliuвання osteoporozu. *Visnyk problem biolohii i medytsyny.* 2017;4(3):324-7. [in Ukrainian].
18. Sarkisov DS, Perov YuL. Mikroskopicheskaya tehnika. M.: Meditsina; 1996. 544 s. [in Russian].
19. Bilash SM, Pronina OM, Koptev MM. Comprehensive morphological studies as an integral part of modern medical science. Literature review. *Visnyk problem biolohii i medytsyny.* 2019;2.2(151):20-3. DOI: 10.29254/2077-4214-2019-2-2-151-20-23
20. Qureshi A, Pervez S. Allred scoring for ER reporting and it's impact in clearly distinguishing ER negative from ER positive breast cancers. *Journal Pakistan Medical Association.* 2010;60(5):350-3.
21. Allred DC, Harvey JM, Berardo M, Clark GM. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol.* 1998;11:155-68.
22. Collins LC, Botero ML, Schnitt SJ. Bimodal Frequency Distribution of Estrogen Receptor Immunohistochemical Staining Results in Breast Cancer An Analysis of 825 Cases. *Am J Clin Pathol.* 2005;123:16-20.
23. Chand P, Garg A, Singla V, Rani N. Evaluation of Immunohistochemical Profile of Breast Cancer for Prognostics and Therapeutic Use. *Niger J Surg.* 2018;24(2):100-6.
24. Rose BJ, Kooyman DL. A Tale of Two Joints: The Role of Matrix Metalloproteases in Cartilage Biology. *Dis Markers.* 2016;2016:4895050.7.
25. Kardos D, Marschall B, Simon M, Hornyák I, Hinsenkamp A, Kuten O, et al. Investigation of Cytokine Changes in Osteoarthritic Knee Joint Tissues in Response to Hyperacute Serum. *Treatment Cells.* 2019;8(8):824.
26. Wu H, Du I, Zheng O. Expression of MMP-1 in cartilage and synovium of experimentally induced rabbit ACLT traumatic osteoarthritis: Immunohistochemical study. *Rheumatology International.* 2008;29(1):31-6.
27. Grigoryan AV, Dimitrova AA, Kostov KG, Ruseva AL, Atanasova MA, Blazhev AB, et al. Serum concentrations of matrix metalloproteinase-9, -13 and TIMP-1 in an ovariectomized Wistar rat model of osteoporosis. *Archives of the Balkan Medical Union Copyright.* 2017;52(4):391-6.

ЕКСПРЕСІЯ МЕТАЛЛОПРОТЕЇНАЗИ-1 В СУГЛОБОВОМУ ХРЯЩУ ТА СУБХОНДРАЛЬНІЙ КІСТЦІ В УМОВАХ ОСТЕОАРТРОЗУ ТА ОСТЕОПОРОЗУ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛІНІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**Яковенчук Н. М.**

Резюме. На сьогодні патогенез порушень в суглобовому хрящі розглядають в єдності зі станом субхондральної кістки. В полі зору дослідників перебувають металопротеїнази (ММП), які індукують дегенерацію сполучної тканини. Метою дослідження було вивчення експресії ММП-1 клітинами суглобового хряща і субхондральної кістки колінного суглоба щурів в умовах моделювання остеопорозу та остеоартрозу шляхом оваріоектомії та на клінічному матеріалі хворих, яким виконано ендопротезування колінного суглобу. На основі імуногістохімічного дослідження визначено, що в умовах індукованого остеопорозу та остеоартрозу в щурів експресія ММП-1 відмічається в хондроцитах усіх зон суглобового хряща з підвищенням інтенсивності в поверхневій та проміжній зонах. У синовіальному шарі капсули суглоба та міжтрабекулярних просторах субхондральної кістки рівень експресії ММП-1 був високий. На кісткових трабекулах поодинокі остеоцити експресували ММП-1. Руйнування клітин супроводжувалося накопичуванням ММП-1 в ретикуловолокнистій стромі міжтрабекулярних просторів. У разі артрозу III-IV стадії за Kellengren (матеріал хворих) на тлі виражених дегенеративних змін в суглобовому хрящі лише поодинокі присутні клітини експресували ММП-1, однак виявлено ділянки матрикса з накопиченням ММП-1. За сумарною напівкількісною оцінкою (бали) імунопозитивність була в 1,7 та 1,9 рази більше в суглобовому хрящі порівняно з кісткою на клінічному матеріалі та в експерименті, відповідно.

Ключові слова: матриксна металопротеїназа-1 (ММП-1), щури, моделювання артрозу, колінний суглоб, суглобовий хрящ, субхондральна кістка, тканини суглобу після ендопротезування.

ЭКСПРЕССИЯ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-1 В СУСТАВНОМ ХРЯЩЕ И СУБХОНДРАЛЬНОЙ КОСТИ В УСЛОВИЯХ ОСТЕОАРТРОЗА И ОСТЕОПОРОЗА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Яковенчук Н. М.

Резюме. В настоящее время патогенез нарушений в суставном хряще рассматривают в единстве с состоянием субхондральной кости. В поле зрения исследователей находятся металлопротеиназы (ММП), которые индуцируют дегенерацию соединительной ткани. Целью исследования было изучение экспрессии ММП-1 клетками суставного хряща и субхондральной кости коленного сустава крыс в условиях моделирования остеопороза и остеоартроза путем овариоэктомии и на клиническом материале больных, которым выполнено эндопротезирование коленного сустава. На основе иммуногистохимического исследования определено, что в условиях индуцированного остеопороза и остеоартроза у крыс экспрессия ММП-1 отмечается в хондроцитах всех зон суставного хряща с повышением интенсивности в поверхностной и промежуточной зонах. В синовиальной слое капсулы сустава и митрабекулярных просторах субхондральной кости уровень экспрессии ММП-1 был высоким. На костных трабекулах единичные остеоциты экспрессировали ММП-1. Разрушение клеток сопровождалось накоплением ММП-1 в ретикуло-волокнутой строме межтрабекулярных пространств. В случае артроза III-IV стадии по Kellengren (материал больных) на фоне выраженных дегенеративных изменений в суставном хряще лишь единичные сохранившиеся клетки экспрессировали ММП-1, однако обнаружены участки матрикса с накоплением ММП-1. Используя суммарную полуколичественную оценку (баллы) иммунопозитивность была в 1,7 и 1,9 раза больше в хондроцитах суставного хряща по сравнению с остеоцитами субхондральной костной ткани на клиническом материале и в эксперименте, соответственно.

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-1 (ММП-1), крысы, моделирование артроза, коленный сустав, суставной хрящ, субхондральная кость, ткани сустава после эндопротезирования.

THE EXPRESSION OF METALLOPROTEINASE-1 IN THE ARTICULAR CARTILAGE AND SUBCHONDRAL BONE IN CONDITIONS OF OSTEOARTHRITIS AND OSTEOPOROSIS (EXPERIMENTAL STUDY)

Yakovenchuk N. M.

Abstract. The pathogenesis of disorders in the articular cartilage is considered in unity with the state of the subchondral bone. Researchers are looking at metalloproteinase-1 (MMP-1), which is an important enzyme that breaks down the structural components of the extracellular matrix of subchondral bone tissue and cartilage, and takes a significant part in the induction of degenerative changes in cartilage and bone tissue under conditions of a combination of osteoporosis and osteoarthritis.

The aim of the study was to study the expression of MMP by cells of the articular cartilage and subchondral bone of the rat knee joint under conditions of modeling osteoporosis and osteoarthritis by ovariectomy and on the clinical material of patients who underwent knee replacement. In the experimental material, more pronounced expression of MMP-1 was recorded in the synovia and fibroblasts of the joint capsule, in the intertrabular cavities of the subchondral bone. In the cells of articular cartilage against the background of ovarion-induced osteoarthritis, the prevalence of immunopositive chondrocytes. In the narrow surface layer and in the intermediate zone, increased expression of MMP-1. In the cells of the bone spaces destruction of the cells was accompanied by the accumulation of MMP-1 in the reticular tissue. Under conditions of Kellengren stage III-IV arthrosis (patient material), against the background of pronounced degenerative changes in the articular cartilage, only a few cells of calcified articular cartilage expressing MMP-1 were preserved. Based on the immunohistochemical study of MMP-1, it was determined that under conditions of induced arthrosis in rats, MMP-1 expression is observed in chondrocytes of all zones of articular cartilage with an increase in intensity in the surface and intermediate zones. The expression level of MMP-1 is high in the capsule of the joint and the bone spaces of the subchondral bone. In the clinical material of patients, it was revealed that osteoblasts and chondrocytes express MMP-1 in various ratios, which exacerbates the state of in the joint. Using the total semi-quantitative assessment (scores), it was found immunopositivity was 1.7 and 1.9 times greater in articular cartilage chondrocytes compared with subchondral bone tissue osteocytes in clinical material and in experiment, respectively.

Key words: matrix metalloproteinase-1 (MMP-1), rats, osteoarthritis and osteoporosis modeling, knee joint, articular cartilage, subchondral bone, joint tissues after arthroplasty.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 26.08.2019 року