

На правах рукописи

Давыдов Денис Альбертович

**ОСОБЕННОСТИ ТКАНИ ГОЛОВКИ БЕДРА ПРИ
ДИСПЛАСТИЧЕСКОМ, ПОСТИШЕМИЧЕСКОМ
И ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ КОКСАРТРОЗЕ**

14.03.02 – патологическая анатомия

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Курган - 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении "Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна" Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе лабораторно-экспериментального отдела

Научный руководитель:

доктор медицинских наук **Авдалян Ашот Меружанович**

Официальные оппоненты:

Гиниатуллин Равиль Усманович – доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ «Многопрофильный центр лазерной медицины» Министерства здравоохранения Челябинской области, заместитель директора по научно-исследовательской работе

Щудло Михаил Моисеевич – доктор медицинских наук, ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, клинично-экспериментальная лаборатория реконструктивно-восстановительной микрохирургии и хирургии кисти, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека» (г. Москва)

Защита диссертации состоится «___» _____ 2017 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 999.063.03 при ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (6, ул. М. Ульяновой, г. Курган, 640014).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.ilizarov.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2017 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Дьячков Александр Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Остеоартроз – одно из древнейших заболеваний, признаки которого выявлены по скелету динозавров и египетских мумий (Buchanan W.W. et al., 2003). В настоящее время отсутствуют достоверные данные об эпидемиологии болезней суставов как в России, так и в других странах мира. По последним данным, в России остеоартрозом страдает от 10% до 12% населения (Забелло Т.В. и др., 2015). Остеоартроз – самая распространенная патология суставов, значительно ухудшающая качество жизни больных и являющаяся одной из основных причин возникновения временной и стойкой потери трудоспособности (Dieppe P.A. et al., 2005; Buchanan W.W. et al., 2002). По прогнозам, к 2020 году в связи с увеличением продолжительности жизни и ростом ожирения количество больных коксартрозом будет в два раза выше, чем в настоящее время. В США к 2030 году количество пациентов, страдающих остеоартрозом, увеличится до 67 миллионов человек (Cho H.J. et al., 2015).

По данным различных авторов, среди всей патологии суставов у взрослого населения коксартроз составляет от 6,5% до 25% (Волокитина Е.А., 2012; Juhakoski R. et al., 2009). Инвалидизация пациентов при данном заболевании может достигать до 64% (Атаманский И.А. и др., 2004). Основные причины развития коксартроза – дисплазия (Terjesen T., 2014), травма тазобедренного сустава (Chu C.R. et al., 2014) и асептический некроз головки бедренной кости (Агаджанян В.В. и др., 1988). Эндопротезирование – наиболее распространенный метод лечения пациентов с терминальными стадиями коксартроза. Однако риск развития большого числа осложнений после проведения эндопротезирования подталкивают на поиск и разработку альтернативных малоинвазивных методов лечения пациентов с данной патологией суставов. К таким методам можно отнести различные способы трансплантации костной ткани в патологически измененные компоненты сустава, использование клеточных технологий, множество вариантов реваскуляризирующих операций и многое другое (Зайдман А.М. и др., 2005; Зайдман А.М. и др., 2015; Шушарин А.Г., 2011; Petti C.A. et al., 2015; Gordon M et al., 2016; Wehling P. et al., 2016; Freitag J. et al., 2016). Для более объективной оценки результатов лечения данными методами необходимо четко понимать гистопатологические и иммуногистохимические особенности ткани головки бедренной кости при отдельных этиологических формах коксартроза.

Ученые на протяжении нескольких десятилетий неоднократно пытались дать морфологическую характеристику изменениям хрящевой ткани при остеоартрозе и создать различного рода классификации (Mankin H.J. et al., 1971; Robinson D.L. et al., 2016). В последнее время большое значение при изучении особенностей развития

остеоартроза уделяется не только хрящевой ткани, но и субхондральной кости с происходящими в ней нарушениями процессов синтеза и резорбции (Камилов Ф.Х. и др., 2014; Sung B. et al., 2013). Особое внимание уделяется созреванию, дифференцировке, взаимному влиянию остеокластов и остеобластов (Trouvin A.P. et al., 2010; Sagalovsky S. et al., 2011); а также такому биологическому процессу, как апоптоз клеточных элементов хрящевой и костной ткани и его роли в развитии и прогрессировании остеоартроза (Sun Y. et al., 2002; Дубиков А.И., 2008). Отмечено, что происходит изменение равновесия между экспрессией белков p53 и bcl-2 при различных патологических процессах в суставах в зависимости от стадии заболевания (Giatromanolaki A. et al., 2003). Оценка пролиферативной активности остеобластов путем выявления белка Ki-67 в их ядрах позволяет также судить о процессах ремоделирования костной ткани. Однако имеющиеся в литературе данные достаточно неоднородны. Исследователи указывают, что количество Ki-67 позитивных остеобластов в неизменной костной ткани составляет от 5% до 20% (Hou B. et al., 2007).

Нарушение микроциркуляции в субхондральных отделах костной ткани при остеоартрозе неизбежно приводит к развитию гипоксии и нарушению остеогенеза (Conaghan P.G. et al., 2005). При этом компенсаторные механизмы реализуются по средствам синтеза VEGF клетками костной ткани (Li W. et al., 2009).

Таким образом, несмотря на достаточно большое количество исследовательских работ, посвященных изучению особенностям процессов костного ремоделирования, многие аспекты данной проблемы остаются нерешенными. Так, в доступной литературе отсутствуют обобщенные данные гистологических, морфометрических и иммуногистохимических характеристик ткани головки бедренной кости при коксартрозе с учетом его этиологической формы.

Степень разработанности темы исследования

На данный момент отечественные и зарубежные научные исследования сводится к описанию изменений в синовиальной оболочке, связочном аппарате сустава и хрящевой ткани при коксартрозе без учета его этиологии и не затрагивают изменений, происходящих в субхондральной кости. Остаются нерешенными проблемы, касающиеся изучения морфологических и иммуногистохимических особенностей субхондральной костной ткани головки бедра при коксартрозе различной этиологии. Описанные механизмы ремоделирования костной ткани и взаимное влияние остеобластов и остеокластов делают возможным и необходимым рассмотрение данной проблемы методом иммуногистохимии. Взгляды ученых на роль пролиферативной активности и апоптоз клеток костной ткани при остеоартрозе достаточно противоречивы (Hou B. et al., 2007; Karaliotas G.I. et al., 2015). Неоднозначен взгляд на определение роли гипоксии и компенсаторно-

приспособительных механизмов к ней при коксартрозе (Новочадов В.В. и др., 2014; Knowles H.J. et al., 2010; Wang G. et al., 2010).

Таким образом, цель работы, заключающаяся в изучении патоморфологических и иммуногистохимических особенностей ткани головки бедра при диспластическом, постишемическом и посттравматическом коксартрозе, можно считать оправданной. Актуальность данного исследования подтверждается и набирающими популярность малоинвазивными оперативными методами лечения больных коксартрозом.

Цель исследования - Изучить патоморфологические и иммуногистохимические особенности ткани головки бедра при диспластическом, постишемическом и посттравматическом коксартрозе.

Задачи исследования:

1. Изучить морфометрические особенности и выраженность фиброза суставной поверхности и субхондральной костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза.
2. Оценить реакцию клеток костной ткани головки бедра на гипоксию с учетом этиологической формы коксартроза.
3. Изучить резорбтивную активность остеокластов костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза.
4. Охарактеризовать экспрессию маркеров апоптоза (p53, bcl-2) и пролиферации (Ki-67) клетками костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза.
5. Провести корреляционный анализ резорбтивной активности остеокластов, экспрессии VEGF, маркеров апоптоза и пролиферации клетками костной ткани головки бедра при коксартрозе различной этиологии.

Научная новизна. Впервые описаны морфологические изменения ткани головки бедра, характерные для диспластического, постишемического и посттравматического коксартроза. Установлено, что фиброзные изменения суставной поверхности имеют максимальное проявление при посттравматическом коксартрозе, а при диспластическом значительно преобладает фиброз костной ткани субхондральных отделов головки бедра. Характерной особенностью постишемического коксартроза являются минимальные фиброзные изменения суставной поверхности и ее максимальная толщина. Максимальный размер костных балок определяется при диспластическом коксартрозе, а при коксартрозе постишемической и посттравматической этиологий данный показатель имеет минимальное значение. Причем при посттравматическом коксартрозе костные трабекулы в субхондральном отделе головки расположены плотнее друг к другу, чем при постишемической этиологии данного патологического процесса.

Впервые с учетом этиологической формы описан такой компенсаторно-приспособительный механизм к гипоксии, развивающейся в головке бедра при коксартрозе, как экспрессия VEGF клетками костной ткани. Показано, что при диспластическом коксартрозе данный механизм реализуется преимущественно остеобластами, а при постишемическом – остеокластами. При коксартрозе посттравматической этиологии остеокласты и остеобласты в равной степени участвуют в реализации данного механизма. При всех трех исследованных этиологических формах коксартроза наименьший вклад в реализацию компенсаторно-приспособительного механизма к гипоксии вносят остециты. Проведенная оценка площади сосудов микроциркуляторного русла костной ткани головки бедра показала, что при постишемическом коксартрозе сосуды значительно крупнее, чем при коксартрозе посттравматической и диспластической этиологии.

Впервые путем определения уровня экспрессии TRAcP остеокластами и подсчета их количества установлено, что наиболее интенсивно процессы резорбции протекают в костной ткани головки бедра при постишемическом коксартрозе. Различия в резорбции при коксартрозе посттравматической и диспластической этиологии заключаются в меньшем количестве остеокластов в последнем.

Впервые дана детальная характеристика пролиферативной активности и апоптозу клеток костной ткани головки бедра при коксартрозе различной этиологии. Отмечено статистически достоверное различие в пролиферативной активности остеобластов при посттравматическом, постишемическом и диспластическом коксартрозе. Установлено, что экспрессия белка bcl-2 осуществляется как остеобластами, так и остеоцитами. Характер данной экспрессии имеет свои особенности при отдельных этиологических формах коксартроза. Экспрессия белка p53 осуществляется исключительно остеоцитами в крайне незначительном количестве и не имеет статистически достоверных различий при отдельных этиологических формах коксартроза.

Впервые проведенный корреляционный анализ показателей экспрессии маркеров пролиферации и апоптоза клетками костной ткани головки бедра указал на характерные особенности коксартроза различной этиологии. При диспластическом коксартрозе отмечена обратная взаимосвязь между экспрессией белков p53 и bcl-2 остеоцитами и прямая корреляция между экспрессией белка bcl-2 остеоцитами и остеобластами. Схожая картина отмечается между экспрессией белка bcl-2 остеоцитами и остеобластами в костной ткани головки бедра при посттравматическом коксартрозе. При постишемическом коксартрозе уровень пролиферативной активности остеобластов напрямую коррелирует с уровнем экспрессии белков bcl-2 и p53 остеоцитами, а также с bcl-2 остеобластами.

Теоретическая и практическая значимость. Новые знания, полученные в результате проведенной исследовательской работы, расширяют представление о патогенезе и особенностях клеток костной ткани головки бедра при коксартрозе

различной этиологии (диспластический, постишемический и посттравматический). Результаты работы могут служить основой для дальнейшего исследования взаимосвязи патоморфологических и иммуногистохимических характеристик клеток костной ткани при других патологических процессах опорно-двигательной системы человека.

Комплексная оценка гистопатологических, морфометрических и иммуногистохимических показателей костной ткани головки бедра при коксартрозе может быть использована для уточнения этиологии данного патологического процесса.

Установленные особенности костной ткани головки бедра способны помочь в поиске более целенаправленного и эффективного лечения, позволяют провести оценку качества консервативной терапии и хирургического лечения как в практическом здравоохранении, так и в экспериментальных исследованиях.

Методология и методы исследования. Комплекс принципов и подходов исследования основан на изучении научной литературы по теме выполненной работы, применении современных методов гистопатологического, морфометрического, иммуногистохимического анализа и статистической обработке полученных данных. Объект исследования – головка бедренной кости, удаленная в процессе эндопротезирования у больных с коксартрозом III-IV стадий. Предмет исследования – патоморфологические и иммуногистохимические изменения в ткани головки бедра при коксартрозе различной этиологии.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Диспластический коксартроз характеризуется выраженным фиброзом костной ткани головки бедра и максимальным размером костных балок; постишемический – максимальной толщиной суставной поверхности и выраженным истончением костных балок; посттравматический – фиброзом суставной поверхности.
2. Компенсаторный механизм к гипоксии в костной ткани головки бедра при диспластическом коксартрозе реализуется преимущественно остеобластами, при постишемическом – остеокластами, при посттравматическом – остеобластами и остеокластами в равной степени.
3. Максимальная резорбтивная активность остеокластов и их количество характерны для костной ткани головки бедра при постишемическом коксартрозе; при диспластическом коксартрозе отмечено минимальное количество остеокластов.
4. Максимальная пролиферативная активность остеобластов костной ткани головки бедра определяется при диспластическом коксартрозе, минимальная – при посттравматическом; экспрессия bcl-2 остеобластами максимальна при постишемическом коксартрозе, минимальна – при диспластическом; экспрессия bcl-2 остеоцитами максимальна при диспластическом коксартрозе, минимальна – при посттравматическом; экспрессия p53 регистрируется только в остеоцитах и не

имеет статистически достоверных различий в зависимости от этиологии коксартроза.

5. При описанных формах коксартроза отмечается корреляция экспрессии bcl-2 остеоцитами и остеобластами; при диспластическом коксартрозе белки p53 и bcl-2 остеоцитов имеют обратную корреляцию; уровень пролиферативной активности остеобластов при посттравматическом коксартрозе прямо коррелирует с уровнями экспрессии белков p53 и bcl-2 остеоцитов и с белком bcl-2 остеобластов.

Степень достоверности результатов диссертации. Используемые современные методы морфологического, морфометрического и иммуногистохимического исследований, а также статистическая обработка полученных данных соответствуют поставленным цели и задачам и позволяют получить достоверные результаты. Диссертация выполнена на достаточном по объему материале (95 объектов исследования). Все этапы исследования проведены на сертифицированном оборудовании. Сформулированные научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на результатах собственных исследований и не носят характера умозрительных заключений, а вытекают из результатов выполненной работы.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены на ежегодной Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Многопрофильная больница: интеграция специальностей» (Ленинск-Кузнецкий, 2014), Всероссийской научно-практической конференции «Многопрофильная больница: междисциплинарные аспекты медицины» (Ленинск-Кузнецкий, 2015).

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации. Работа представляет собой самостоятельное научное исследование, проведенное на высоком методическом уровне. Все исследования, обзор литературы, анализ и интерпретация морфологических данных, статистическая обработка результатов выполнены лично автором.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 8 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК для опубликования результатов диссертаций.

Получен патент на изобретение: Устройство для фиксации головки бедренной кости в процессе ее распила для подготовки биологического материала к гистологическому исследованию : патент № 2593158 Рос. Федерация : МПК51 А61 В 17/00 / Д.А. Давыдов, И.М. Устьянцева; заявитель и патентообладатель ФГБ ЛПУ «Научно-клинический центр охраны здоровья шахтеров». - № 2015115221/05; заявл. 22.04.2015; опубл. 27.07.2016, Бюл. № 21.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 113 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 23 рисунками, 22 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, глав

собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 37 отечественных и 143 зарубежных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для решения поставленных задач и достижения цели в исследование было включено 95 пациентов, поступавших в отделение травматологии и ортопедии ГАУЗ КО ОКЦОЗШ для эндопротезирования тазобедренного сустава за период с 2013 г по 2015 г с клинически выставленным диагнозом – коксартроз III-IV стадии. Объектом морфологического исследования служили 95 головок бедренных костей, удаленных при эндопротезировании тазобедренного сустава у этих пациентов. Головки доставлялись из операционной в гистологическую лабораторию патологоанатомического отделения ГАУЗ КО ОКЦОЗШ.

Медиана возраста больных коксартрозом сустава составила 56 (49-64) лет. Минимальный возраст составил 27 лет, возраст самого старшего пациента 77 лет. Возраст больных в группе диспластического коксартроза составил 61 (52-67) год. В случаях коксартроза постишемической и посттравматической этиологии средние значения возраста больных составили $53,3 \pm 12,1$ года и $54 \pm 8,9$ года соответственно. Распределение по полу было следующим 51 (53,7%) мужчина и 44 (46,3%) женщины. По этиологическим формам коксартроз был распределен примерно равномерно: диспластический – 34 случая, постишемический – 31 случай и посттравматический – 30 случаев.

В исследование включали только случаи коксартроза диспластической, постишемической и посттравматической этиологии. Параметры включения материала в исследование – плановое оперативное вмешательство; проживание пациентов на территории Кемеровской области (более 15 лет); диапазон индекса массы тела от 18,5 до 30; доставка материала из операционной в патологоанатомическое отделение в течение 1 часа после удаления. Параметры исключения материала из исследования – системные заболевания соединительной ткани (системная красная волчанка, ревматоидный артрит); воспалительные заболевания сустава инфекционной патологии; заболевания, патогенез или методы лечения которых могут повлиять на процессы ремоделирования костной ткани (сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, туберкулез, ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, онкологические заболевания); остеопороз; профессиональные спортсмены; наличие остеоартроза у ближайших родственников. Распределение материала в ту или иную группу исследования проводилось по результатам оценки таких клинических данных, как анамнез и данных дополнительных методов исследования (магнитно-резонансная томография и рентгенография тазобедренных суставов). Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



*Примечание: * классификация по Келлгрену и Лоуренсу, 1957 г*

Рисунок 1 – Дизайн исследования.

Для достижения цели и решения поставленных задач применялись такие методы исследования, как гистологический, морфометрический (компьютерный анализ микроскопических фотоснимков), иммуногистохимический и статистическая обработка полученных данных.

Гистологический метод

Из операционной материал доставлялся в патологоанатомическое отделение в забуференном 10% нейтральном растворе формалина. В лаборатории проводилось макроскопическое описание препарата и забор фрагментов ткани для микроскопического исследования. Из доставленного материала по описанной в литературе методике (Dimenstein I.B., 2008; Buesa R.J., 2010; Костромская Д.В., 2003), с применением специального устройства (Давыдов Д.А., Устьянцева И.М. Устройство для фиксации головки бедренной кости в процессе ее распила для подготовки биологического материала к гистологическому исследованию: патент № 2593158 / № 2015115221/05; заявл. 22.04.2015; опубл. 27.07.2016, Бюл. № 21.) в вертикальном направлении из наиболее нагружаемого участка головки выпиливался фрагмент суставной поверхности и субхондральной костной ткани объемом 0,75 см³ (размерами 1,5x1,0x0,5 см). С целью сохранения антигенной структуры клеток

костной ткани и возможности в дальнейшем выполнить иммуногистохимическое исследование фиксации и декальцинацию выпиленных фрагментов проводили в растворе ЭДТА (Lu Y. et al., 2014) (ООО «ЭргоПродакшн», Россия) согласно инструкции производителя. После декальцинации проводилась гистологическая проводка материала с дальнейшим заключением его в парафин. Серийные гистологические срезы толщиной 3-5 мкм готовили на ротационном микротоме (Accu-Cut SRM 200, Китай) с последующей окраской гематоксилин-эозином и гематоксилин-пикрофуксином. Исследование проводилось на световом микроскопе (Nicon Ci-S, Китай; объективы 4, 10, 40, 100; окуляры 10) с использованием цифровой фотокамеры (Nicon DS-Fi2, Япония).

Морфометрический метод

При помощи специализированного программного обеспечения (NIS-Elements BR 4.30.00) проводились морфометрические измерения интересующих нас параметров строения костной и хрящевой ткани (толщина суставной поверхности и костных балок, площадь костных балок, выраженность фиброза в ткани суставной поверхности и в губчатом веществе костной ткани). Такой показатель, как площадь костных балок, измерялся в "мкм²", статистический анализ проводился в этих же единицах. Для большей презентабельности результатов измерения значение площади в "мкм²" делилось на 1000000 и данные представлялись в "мм²". Преобразование единиц измерения на результатах статистической обработки данных не отразилось. Оценку выраженности фиброза проводили путем определения площади фиброзной ткани в 5 случайных полях зрения на срезах, окрашенных гематоксилин-пикрофуксином, при увеличении микроскопа x100 раз (Авдалян А.М. и др., 2010). При площади фиброза до 25% присваивали "1" балл, от 25% до 49% - "2" балла, от 50% до 74% - "3" балла, 75% и более - "4" балла (т.е. непрерывные данные были разбиты точками деления на порядковые категории).

Имуногистохимический метод

Для постановки иммуногистохимической реакции использовались высокоадгезивные стекла с положительно заряженной поверхностью. Все этапы постановки иммуногистохимических реакций проводились в автоматическом режиме на иммуногистостейнере Bench Mark XT (Ventana). В работе использованы антитела (RTU): Ki-67 (30-9), p53 (DO-7), bcl-2 (124), CD34 (QBEnd/10), VEGF (SP28) и TRAcP (9C5).

Для оценки процессов ремоделирования определялся уровень экспрессии маркеров пролиферации и апоптоза (Ki-67, p53, bcl-2) в клетках костной ткани. Оценку резорбтивной активности остеокластов проводили при помощи специализированного программного обеспечения (NIS-Elements BR 4.30.00) путем определения уровня цитоплазматической экспрессии TRAcP (средняя оптическая плотность в условных единицах – у.е.) и подсчетом количества самих остеокластов. Васкулогенез оценивали путем определения средней площади сосудов (CD34 +

окрашенный эндотелий) и уровня цитоплазматической экспрессии VEGF остеобластами и остеокластами (средняя оптическая плотность в условных единицах – у.е.) (Капустин Р.В. и др., 2012; Кветной И.М. и др., 2015).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью прикладного пакета программ Statistica, версия 6.0. Проверку нормальности распределения количественных (непрерывных и порядковых) данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка (W). При получении значимых показателей критерия нулевую гипотезу о соответствии анализируемых данных нормальному закону распределения отвергали. В случае нормального распределения данных мерой центральной тенденции являлось среднее значение (M), а мерой рассеяния – стандартное отклонение (с.о.). Если распределение данных в выборке не соответствовало нормальному закону, то мерой центральной тенденции являлась медиана (Me), а мерой рассеяния – интерквартильный интервал (и.и.) - интервал между 25% и 75% данных в выборке. Для выявления различий между тремя группами в независимой выборке по количественным показателям, во избежание проблемы множественных сравнений, использовали непараметрические критерии Краскела-Уоллеса (однофакторный дисперсионный анализ). При статистически значимых показателях критерия Краскела-Уоллеса для последующего выявления неоднородных групп (путем их попарных сравнений) применяли процедуры множественных сравнений с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для сравнения групп с распределением значений, не отличающихся от нормального, использовали параметрический T-критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Корреляционный анализ в представленном исследовании проводили с использованием двух критериев: коэффициента ранговой корреляции Спирмена – для выявления взаимосвязи между двумя непрерывными переменными, по крайней мере одна из которых распределена не по нормальному закону; и коэффициента ранговой корреляции Кендалла Тау – для выявления взаимосвязи между двумя порядковыми переменными или между одной порядковой и одной непрерывной. По величине коэффициента ранговой корреляции условно оценивали тесноту связи между признаками, считая значения коэффициента – равные 0,3 и менее, – показателями слабой тесноты связи; значения более 0,4, но менее 0,7 – показателями умеренной тесноты связи, а значения 0,7 и более – показателями высокой тесноты связи (Трухачева Н.В., 2012; Ланг Т.А., 2011).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Макроскопические особенности строения головки бедра

При визуальном осмотре головки бедренной кости не представляется возможным достоверно определить этиологию коксартроза, так как изменения

суставной поверхности на поздних стадиях данного заболевания достаточно единообразны, а выделяемые специфические характеристики носят субъективный описательный характер. Головка бедренной кости на последних стадиях коксартроза может иметь грибовидную форму, порой с выраженным смещением "шляпки". Суставная поверхность в области, имеющей наиболее выраженную механическую нагрузку, может быть истончена до исчезновения, при этом обнажается субхондральная кость, которая имеет каменистую плотность и глянцевую поверхность. В участках гипертрофии хряща отмечаются его волнообразные наплывы с расслоением и отслойкой от субхондральной кости. Участки суставной поверхности приобретают плотно-эластичную консистенцию и выраженную матовость. На распиле костное вещество при диспластическом и посттравматическом коксартрозе гомогенного вида, желтого цвета с красными участками в глубоких отделах, при коксартрозе постишемической этиологии в субхондральных отделах могут определяться очаги некроза костной ткани клиновидной формы, представленные рыхлыми массами серого цвета и отграниченные от неизменной губчатой кости тонким венчиком от розового до бурого цвета.

Гистопатологические особенности строения ткани головки бедра

Описанные в данной работе микроскопические особенности гистопатологических показателей строения ткани головки бедра позволяют выявить некоторые характерные признаки отдельных этиологических форм коксартроза. При посттравматическом коксартрозе отмечена мозаичная структура ткани суставной поверхности. В местах разрушения хрящевой пластинки регистрируется фиброзная ткань. В субхондральной кости – очаги отека и фиброза костного мозга. При постишемическом коксартрозе в субхондральных отделах происходит асептический некроз жировой ткани, костного мозга и костных балок. Очаги некроза имеют вид гомогенных эозинофильных масс без воспалительной реакции. На неровной истонченной трабекулярной поверхности обнаруживаются остеокласты. При диспластическом коксартрозе субхондральная пластинка склерозирована и утолщена, имеет компактное строение. Межбалочные пространства фиброзированы, трабекулы с признаками остеосклероза.

Морфометрические особенности ткани головки бедра при коксартрозе

Из проведенного морфометрического анализа следует, что наиболее выраженное истончение суставной поверхности головки бедра характерно для коксартроза диспластической этиологии, а наиболее выраженное истончение костных балок свойственно ткани головки бедра при постишемическом и посттравматическом коксартрозе. Причем при посттравматическом коксартрозе костные трабекулы в субхондральном отделе головки расположены плотнее друг к другу, чем при постишемической этиологии данного патологического процесса (таблица 1).

Таблица 1. Морфометрические показатели ткани головки бедренной кости с учетом этиологической формы коксартроза.

Этиология коксартроза, (n=95)	Толщина суставной поверхности, мкм	Толщина костных балок, мкм	Площадь костных балок, мм ²
1. Диспластический, (n=34)	659±96	262±42,5	1,42±0,16
2. Постишемический, (n=31)	1559 (1172-1794)	153±16,5	0,28±0,04
3. Посттравматический, (n=30)	811±173	159 (134-172)	1,29 (1,10-1,39)
p	p ₁₋₂ , p ₂₋₃ , p ₁₋₃ <0,05	p ₁₋₃ , p ₁₋₂ <0,05; p ₂₋₃ =0,82	p ₁₋₃ , p ₁₋₂ , p ₂₋₃ <0,05

Толщина суставной поверхности в группе постишемического коксартроза в 2,4 раза больше по сравнению с аналогичными показателями при диспластическом коксартрозе и в 1,9 раза больше, чем при коксартрозе посттравматической этиологии. Минимальное значение толщины суставной поверхности характерно для диспластической формы коксартроза. Толщина костных балок субхондральных отделов головки бедра при диспластическом коксартрозе в 1,6 раза больше аналогичного показателя при посттравматическом коксартрозе и в 1,7 раза больше по сравнению с постишемическим. Минимальные значения данного показателя характерны для коксартроза постишемической и посттравматической этиологий. Статистически достоверных различий в толщине костных балок между постишемической и посттравматической этиологическими формами коксартроза не выявлено. Площадь костных балок субхондральных отделов головки бедра при диспластическом коксартрозе больше в 1,1 раза по сравнению с таковым показателем при коксартрозе посттравматической этиологии и в 5,1 раз больше, чем при постишемическом. Минимальное значения данного показателя характерно для коксартроза постишемической этиологии и составило в 4,6 раза меньше, чем при коксартрозе посттравматической этиологии.

Установлено, что максимальные фиброзные изменения суставной поверхности головки бедренной кости определяются при коксартрозе посттравматической этиологии, а наиболее выраженные фиброзные изменения в субхондральной костной ткани характерны для диспластического коксартроза. При постишемическом коксартрозе данные морфометрические показатели головки бедра занимают промежуточные значения (таблица 2).

При посттравматическом коксартрозе выраженность фиброза суставной поверхности в 1,2 раза больше по сравнению с аналогичным показателем при диспластическом коксартрозе и в 1,8 раза больше по сравнению с постишемическим коксартрозом. Минимальное значение выраженности фиброза зафиксировано при постишемической форме коксартроза и составило в 1,5 раза меньше по сравнению с диспластическим коксартрозом. Выраженность фиброзных изменений костной ткани

при диспластическом коксартрозе тазобедренного сустава в 1,3 раза больше по сравнению с посттравматическим и в 1,95 раза больше по сравнению с постишемическим коксартрозом. Минимальное значение выраженности фиброза костной ткани определялось в случае постишемической формы коксартроза и составило в 1,5 раза меньше по сравнению с посттравматической этиологией.

Таблица 2. Выраженность фиброза суставной поверхности и субхондральной костной ткани головки бедренной кости с учетом этиологической формы коксартроза.

Этиология коксартроза, (n=95)	Фиброз суставной поверхности, баллы	Фиброз костной ткани, баллы
1. Диспластический, (n=34)	3 (3-3,2)	3,9 (3-4)
2. Постишемический, (n=31)	2 (2-2,8)	2 (2-2)
3. Посттравматический, (n=30)	3,6 (3-4)	3 (2,8-3)
p	$p_{1-2}, p_{2-3}, p_{1-3} < 0,05$	$p_{1-2}, p_{1-3}, p_{2-3} < 0,05$

Оценка уровня экспрессии VEGF клетками костной ткани

Экспрессия VEGF осуществляется остеобластами, остеоцитами и остеокластами. Белок распределен в цитоплазме в виде гранул от светло-коричневого до темно-коричневого цвета. Установлено, что при коксартрозе постишемической этиологии компенсаторно-приспособительный механизм к гипоксии реализуется преимущественно за счет остеокластов, а при диспластическом коксартрозе за счет остеобластов. В равной степени неоваскулогенез при коксартрозе посттравматического генеза контролируется как остеобластами, так и остеокластами. При всех описанных нозологических формах коксартроза отмечаются минимальные значения экспрессии VEGF остеоцитами (таблица 3).

Таблица 3. Уровень экспрессии VEGF клетками костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза, у.е.

Этиология коксартроза, (n=95)	Уровень экспрессии VEGF остеобластами, у.е.	Уровень экспрессии VEGF остеокластами, у.е.	Уровень экспрессии VEGF остеоцитами, у.е.	p
1. Диспластический, (n=34)	0,65±0,06	0,48 (0,38-0,53)	0,41±0,027	$P_{об-ок}, P_{об-оц}, P_{оц-ок} < 0,05$
2. Постишемический, (n=31)	0,64 (0,5-0,68)	0,92 (0,63-0,95)	0,36 (0,34-0,36)	$P_{об-ок}, P_{об-оц}, P_{оц-ок} < 0,05$
3. Посттравматический, (n=30)	0,59±0,12	0,54±0,16	0,34 (0,32-0,39)	$P_{об-оц}, P_{оц-ок} < 0,05; P_{об-ок} = 0,176$
p	$p_{1-2}, p_{1-3} < 0,05; p_{2-3} = 0,734$	$p_{1-2}, p_{2-3}, p_{1-3} < 0,05$	$p_{1-2}, p_{1-3} < 0,05; p_{2-3} = 0,55$	

Примечание: об – остеобласты, оц – остеоциты, ок – остеокласты.

Максимальная экспрессия VEGF остеобластами определяется при диспластическом коксартрозе. Статистически достоверных различий в уровне экспрессии VEGF остеобластами при коксартрозе постишемической и посттравматической этиологии получено не было.

Экспрессия VEGF остеокластами при коксартрозе постишемической этиологии превышает в 1,92 раза аналогичный показатель по сравнению с диспластическим и в 1,7 раза по сравнению с посттравматическим коксартрозом. При посттравматическом коксартрозе уровень экспрессии VEGF остеокластами в 1,13 раза выше, чем в группе диспластического коксартроза.

При диспластическом коксартрозе экспрессия VEGF остеоцитами в 1,14 раза больше по сравнению с постишемическим и в 1,21 раза по сравнению с посттравматическим коксартрозом. Статистически достоверных различий в уровне экспрессии VEGF остеоцитами при постишемическом и посттравматическом коксартрозе не определяется.

Кроме того, выявлены характерные особенности экспрессии VEGF клетками костной ткани внутри выделенных этиологических групп коксартроза. Так, в группе диспластического коксартроза уровень экспрессии VEGF остеобластами в 1,4 раза выше, чем остеокластами и в 1,6 раз выше, чем остеоцитами. В группе коксартроза постишемической этиологии уровень экспрессии VEGF остеокластами в 1,4 раза выше, чем остеобластами и в 2,6 раза выше, чем остеоцитами. Также определяется статистически достоверное различие в экспрессии данного белка остеоцитами и остеобластами в 1,78 раза. В группе коксартроза посттравматической этиологии уровень экспрессии VEGF остеоцитами в 1,7 раза ниже, чем остеобластами и в 1,6 раза ниже, чем остеокластами. Статистически достоверных различий в экспрессии данного белка остеобластами и остеокластами получено не было.

Средняя площадь сосудов микроциркуляторного русла

В костной ткани головки бедра при коксартрозе постишемической этиологии регистрируются наиболее крупные сосуды микроциркуляторного русла, что указывает на более активное протекание процессов неоваскулогенеза (таблица 4).

Таблица 4. Средняя площадь сосудов микроциркуляторного русла в костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза, мм².

Этиология коксартроза, (n=95)	Средняя площадь сосудов, мкм ²
1. Диспластический, (n=34)	2514 (1397-2809)
2. Постишемический, (n=31)	2759 (2310-6572)
3. Посттравматический, (n=30)	1539,5 (1104-4242)
p	p ₁₋₂ , p ₂₋₃ <0,05; p ₁₋₃ =0,84

При постишемическом коксартрозе площадь сосудов микроциркуляторного русла в 1,8 раза больше по сравнению с аналогичными показателями при посттравматическом коксартрозе и в 1,1 раза больше по сравнению с коксартрозом диспластической этиологии. Статистически достоверных различий в размерах сосудов микроциркуляторного русла субхондральных отделов костной ткани в группах диспластического и посттравматического коксартроза не определялось.

Уровень экспрессии TRAcP остеокластами и количество остеокластов

Экспрессия данного маркера выявлялась в цитоплазме всех остеокластов. Резорбтивные процессы наиболее активно протекают при коксартрозе постишемической этиологии, что подтверждается как наиболее высоким уровнем экспрессии TRAcP, так и большим количеством остеокластов. Наименее активно процесс резорбции протекает в костной ткани головки бедра при диспластическом и посттравматическом коксартрозе, причем различия между этими двумя этиологическими формами заключаются в количестве остеокластов, а не в их функциональной активности (таблица 5).

Таблица 5. Уровень экспрессии TRAcP остеокластами и их количество в субхондральном отделе костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза.

Этиология коксартроза, (n=92)	Уровень экспрессии TRAcP остеокластами, у.е.	Количество остеокластов, n
1. Диспластический, (n=34)	0,84 (0,73-0,89)	6,12±1,73
2. Постишемический, (n=31)	0,98 (0,97-1,02)	11,54±2,08
3. Посттравматический, (n=27)	0,85 (0,81-0,89)	9,52±3,49
p	p ₁₋₂ , p ₂₋₃ <0,05; p ₁₋₃ =0,622	p ₁₋₂ , p ₂₋₃ , p ₁₋₃ <0,05

При постишемическом коксартрозе экспрессия TRAcP остеокластами больше в 1,2 раза по сравнению с диспластическим и в 1,2 раза по сравнению с посттравматическим. Статистически достоверных различий в уровне экспрессии TRAcP остеокластами костной ткани головки бедра при коксартрозе посттравматической и диспластической этиологии не определяется.

При постишемическом коксартрозе количество остеокластов больше в 1,2 раза по сравнению с посттравматическим и в 1,9 раза по сравнению с диспластическим коксартрозом. В свою очередь, в субхондральной костной ткани головки бедра при посттравматическом коксартрозе количество остеокластов в 1,6 раза больше, чем при коксартрозе диспластической этиологии.

Особенности экспрессии маркера клеточной пролиферации Ki-67

В костной ткани субхондральных отделов головки бедра при коксартрозе белок Ki-67 определялся исключительно в остеобластах. Ki-67 позитивных остеоцитов и остеокластов не определялось. В группе диспластического коксартроза экспрессия

белка Ki-67 осуществлялась остеобластами во всех исследованных случаях, в группе коксартроза постишемической этиологии – в 26 случаях (83,9%) из 31, в группе посттравматического коксартроза – в 24 случаях (80%) из 30. Ki-67 позитивные остеобласты располагались в виде групп до 7-10 клеток и чередовались с большим количеством Ki-67 негативных остеобластов. Процессы новообразования костной ткани при диспластическом коксартрозе протекают быстрее, чем при постишемическом и посттравматическом генезе данного заболевания. Медленнее всего процесс остеогенеза проходит в субхондральной костной ткани головки бедра при коксартрозе посттравматической этиологии (таблица 6).

Таблица 6. Уровень экспрессии белка Ki-67 остеобластами субхондральной костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза.

Этиология коксартроза	доля позитивных клеток, %
1. Диспластический, (n=34)	7 (5-8)
2. Постишемический, (n=26)	6 (4-6)
3. Посттравматический, (n=24)	3 (2,5-4)
p	$p_{1-2}, p_{2-3}, p_{1-3} < 0,05$

При коксартрозе тазобедренного сустава диспластического генеза экспрессия белка Ki-67 остеобластами больше в 1,2 раза, чем при постишемическом коксартрозе, и в 2,3 раза, чем при посттравматическом коксартрозе. Также получены статистически достоверные различия в уровнях экспрессии данного маркера остеобластами костной ткани головки бедра при постишемическом и посттравматическом коксартрозе. Так, при коксартрозе постишемической этиологии количество Ki-67 позитивных остеобластов в 2 раза выше, чем при посттравматической этиологии коксартроза.

Особенности экспрессии маркера ингибитора апоптоза bcl-2

Белок bcl-2 определялся в цитоплазме остеоцитов и остеобластов. При коксартрозе диспластической этиологии экспрессия данного белка остеобластами и остеоцитами регистрировалась в 24 случаях (70,6%) из 34. При коксартрозе постишемической этиологии экспрессия белка bcl-2 остеобластами регистрировалась в 26 случаях (83,9%), остеоцитами – в 26 случаях (83,9%). При посттравматическом коксартрозе экспрессия данного белка остеобластами регистрировалась в 21 случае (70%), остеоцитами – в 20 случаях (66,6%). Таким образом, процесс ингибирования апоптоза путем экспрессии белка bcl-2 реализуется как остеобластами, так и остеоцитами костной ткани головки бедра при коксартрозе (таблица 7).

При постишемическом коксартрозе экспрессии белка bcl-2 остеобластами выше в 1,75 раза, чем при посттравматическом и в 2,3 раза, чем при диспластическом. Статистически достоверных различий в уровнях экспрессии данного белка при диспластическом и посттравматическом коксартрозе не получено. При диспластическом коксартрозе экспрессии белка bcl-2 остеоцитами выше в 1,8 раза,

чем при посттравматическом. Статистически достоверных различий в уровнях экспрессии данного белка при диспластическом и постишемическом коксартрозе, а так же при постишемическом и посттравматическом не получено. Кроме того, антиапоптотическая активность остеоцитов при диспластическом коксартрозе оказалась в 4,5 раза выше, чем остеобластов, при посттравматическом – в 1,9 раза.

Таблица 7. Уровень экспрессии белка bcl-2 остеобластами и остеоцитами субхондральной костной ткани головки бедра с учетом этиологической формы коксартроза.

Этиология коксартроза	Экспрессия bcl-2 остеобластами		Экспрессия bcl-2 остеоцитами		p
	Доля позитивных клеток, %	Число позитивных случаев, n	Доля позитивных клеток, %	Число позитивных случаев, n	
1. Диспластический	3 (2-5)	24	13,5 (10-15,5)	24	$P_{об-оц} < 0,05$
2. Постишемический	7 (3-12)	26	10 (5-16)	26	$P_{об-оц} = 0,0887$
3. Посттравматический	4 (3-6)	21	7,5 (5-12,5)	20	$P_{об-оц} < 0,05$
p	$p_{2-3}, p_{1-2} < 0,05; p_{1-3} = 0,7243$		$p_{1-3} < 0,05; p_{1-2} = 0,2175; p_{2-3} = 0,6656$		

Примечание: об – остеобласты, оц – остеоциты, ок – остеокласты.

Особенности экспрессии маркера активатора апоптоза p53

При коксартрозе в костной ткани головки бедра экспрессия белка p53 осуществляется исключительно остеоцитами, количество которых крайне незначительно. При диспластическом коксартрозе экспрессия белка p53 определялась в 14 случаях, при постишемическом – в 10 случаях, при посттравматическом – в 13 случаях. Установлено, что значение уровня экспрессии белка p53 остеоцитами субхондральной костной ткани головки бедра во всех трех группах исследования составила 0,2 (0,2-0,3)% клеток. Достоверных различий в уровне экспрессии белка p53 остеоцитами с учетом этиологической формы коксартроза не получено.

Корреляционный анализ при диспластическом коксартрозе

Как можно заметить, при диспластическом коксартрозе уровни экспрессии белка bcl-2 в остеоцитах и в остеобластах показывают прямую корреляционную связь высокой тесноты, а уровни экспрессии белков p53 и bcl-2 в остеоцитах – обратную корреляционную связь высокой тесноты. Что указывает на поддержание клеточного гомеостаза субхондральной костной ткани головки бедра прежде всего за счет ингибирования апоптоза в остеоцитах и остеобластах. Очевидным является вклад гипоксии в усиление резорбтивных процессов субхондральной костной ткани головки бедра. Данный факт подтверждается наличием прямой корреляционной связи

умеренной тесноты между уровнем экспрессии VEGF остеокластами с уровнем экспрессии TRAcP и количеством остеокластов. Неоваскулогенез же обеспечивается преимущественно за счет синтеза VEGF остеобластами (таблица 8).

Таблица 8. Корреляционные взаимосвязи при диспластическом коксартрозе.

Пара признаков		Величина коэффициента корреляции Спирмена, r	Значение p
Экспрессия bcl-2 остеоцитами	Экспрессия p53 остеоцитами	-0,712	0,0043
	Экспрессия bcl-2 остеобластами	0,886	0,0001
Экспрессия VEGF остеокластами	Экспрессия TRAcP остеокластами	0,454	0,0069
	Количество остеокластов	0,365	0,0336
Экспрессия VEGF остеобластами	Средняя площадь сосудов	0,705	0,000003

Корреляционный анализ при постишемическом коксартрозе

Как можно заметить, при постишемическом коксартрозе, как и при диспластическом, уровни экспрессии белка bcl-2 в остеоцитах и в остеобластах показывают прямую корреляционную связь высокой тесноты, а уровни экспрессии белков p53 и bcl-2 в остеоцитах – обратную корреляционную связь высокой тесноты. Кроме того, уровни экспрессии bcl-2 остеоцитов и остеобластов имеют прямую корреляционную связь высокой тесноты с пролиферативной активностью остеобластов. Таким образом, при постишемическом коксартрозе клеточный состав костной ткани головки бедра поддерживается не только за счет ингибирования апоптоза в остеоцитах и остеобластах, но и за счет повышения пролиферативной активности остеобластов (таблица 9).

Таблица 9. Корреляционные взаимосвязи при постишемическом коксартрозе.

Пара признаков		Величина коэффициента корреляции Спирмена, r	Значение p
Экспрессия bcl-2 остеоцитами	Экспрессия p53 остеоцитами	-0,888	0,0439
	Экспрессия bcl-2 остеобластами	0,965	0,0001
	Экспрессия Ki-67 остеобластами	0,838	0,000002
Ki-67 остеобластов	Экспрессия bcl-2 остеобластами	0,772	0,000041

Корреляционный анализ при посттравматическом коксартрозе

При посттравматическом коксартрозе уровни экспрессии белка bcl-2 в остеоцитах и в остеобластах показывают прямую корреляционную связь высокой тесноты, что указывает на взаимосвязанное ингибирование апоптоза в этих клетках. Наличие прямой корреляционной связи умеренной тесноты между уровнем экспрессии VEGF остеобластами и площадью сосудов микроциркуляторного русла указывает прежде всего на то, что именно остеобластами контролируется новообразование кровеносных сосудов в субхондральной костной ткани при посттравматическом коксартрозе (таблица 10).

Таблица 10. Корреляционные взаимосвязи при посттравматическом коксартрозе.

Пара признаков		Величина коэффициента корреляции Спирмена, r	Значение p
Экспрессия bcl-2 остеоцитами	Экспрессия bcl-2 остеобластами	0,877	0,000004
Экспрессия VEGF остеобластами	Средняя площадь сосудов	0,401	0,0277

Таким образом, в результате проведенного исследования описан ряд общих морфологических и гистопатологических характеристик головки бедренной кости при коксартрозе диспластической, постишемической и посттравматической этиологии.

Установлены морфометрические характеристики суставной поверхности и костной ткани головки бедра, а так же доказано их статистически достоверное различие с учетом этиологии коксартроза: для диспластического коксартроза характерно истончение суставной поверхности и утолщение костных трабекул с их более компактным расположением и выраженным фиброзом костномозговых ячеек; для постишемического – максимальная толщина суставной поверхности, разряженное расположение костных трабекул и минимальные фиброзные изменения как ткани суставной поверхности, так и костномозговых ячеек; при посттравматическом коксартрозе костные балки также истончены, но расположены несколько плотнее друг к другу, чем при постишемическом коксартрозе, а суставная поверхность с наиболее выраженными фиброзными изменениями.

Результаты проведения иммуногистохимического исследования позволили установить ряд принципиальных особенностей клеток костной ткани головки бедра при вышеуказанных этиологических формах коксартроза. Наличие гипоксии в костной ткани головки бедра не вызывает сомнений. Однако реагируют клетки на гипоксию по разному: в большей степени при диспластическом коксартрозе VEGF экспрессируется остеобластами, при постишемическом – остеокластами, а при

посттравматическом – остеобластами и остеокластами в равной степени. Причем при всех трех описанных этиологических формах коксартроза минимальная экспрессия главного белка-регулятора васкулогенеза регистрируется в остеоцитах. Наиболее активно резорбтивные процессы протекают в костной ткани головки бедра при постишемическом коксартрозе, что подтверждается как высокой экспрессией TRAcP остеокластами, так и их численным большинством. Менее активно резорбция протекает при посттравматическом и диспластическом коксартрозе. Интересные данные получены при оценки пролиферативной активности и апоптоза клеток костной ткани. При диспластическом коксартрозе экспрессия белка Ki-67 регистрировалась во всех случаях и показала максимальное количество Ki-67 позитивных остеобластов, при постишемическом коксартрозе белок Ki-67 выявлен в 83,9% случаев и доля Ki-67 позитивных остеобластов составила 6% клеток. В 80% случаев данный белок определялся при коксартрозе посттравматической этиологии, позитивные остеобласты составили минимальное количество. Экспрессия такого ингибитора апоптоза, как белок bcl-2 регистрировалась не во всех исследуемых случаях. Со значительным преобладанием данный белок экспрессируется остеоцитами при диспластическом коксартрозе. Экспрессия белка p53 регистрировалась менее чем в половине случаев исследования. Данный белок определялся исключительно в крайне малом проценте остеоцитов и каких либо статистически достоверных различий в экспрессии данного белка при вышеуказанных этиологических формах коксартроза получено не было.

Проведенный анализ взаимосвязей между морфометрическими и иммуногистохимическими характеристиками ткани головки бедра при диспластическом, постишемическом и посттравматическом коксартрозе позволил выявить ряд особенностей. Отмечается отрицательный вклад гипоксии на процессы остеогенеза в ткани головки бедра за счет стимуляции резорбтивной активности остеокластов.

Если при диспластическом коксартрозе тазобедренного сустава в субхондральной костной ткани головки бедра площадь сосудов микроциркуляторного русла имеет прямую корреляцию высокой тесноты с уровнем экспрессии VEGF остеобластов, а при посттравматическом коксартрозе данная взаимосвязь становится умеренной тесноты, то при коксартрозе постишемической этиологии корреляции между этими двумя показателями нет совсем. Взаимосвязь пролиферативной активности и апоптоза клеток костной ткани головки бедра достаточно характерна для каждой вышеописанной этиологической формы коксартроза. При коксартрозе посттравматической этиологии клеточный состав костной ткани поддерживается преимущественно за счет повышения уровня экспрессии антиапоптотического белка bcl-2 в остеоцитах и остеобластах. Для диспластического коксартроза повышение данного белка в остеоцитах и остеобластах дополнительно сопровождается снижением уровня экспрессии белка активатора апоптоза p53 в остеоцитах. При

коксартозе постишемической этиологии кроме вышеописанных механизмов регулирования костного ремоделирования добавляется еще и повышение пролиферативной активности остеобластов в сочетании с повышением уровня экспрессии антиапоптотического белка bcl-2 в остеоцитах и остеобластах.

В целом, результаты проведенного исследования позволили получить новые данные о том, что клетки костной ткани имеют определенные характерные иммуногистохимические особенности при коксартозе диспластической, постишемической и посттравматической этиологии. Данную специфику необходимо учитывать как в клинической практике, так и в экспериментально-исследовательских работах при изучении патологии костной ткани.

ВЫВОДЫ

1. При диспластическом коксартозе определяется минимальная толщина суставной поверхности (659 ± 96 мкм) и максимальный размер костных балок ($262 \pm 42,5$ мкм); при постишемическом коксартозе – максимальная толщина суставной поверхности (1559 (1172-1794) мкм) и минимальный размер костных балок ($153 \pm 16,5$ мкм); при посттравматическом коксартозе толщина суставной поверхности (811 ± 173 мкм) и размер костных балок (159 (134-172) мкм) занимают промежуточное значение. Максимальные фиброзные изменения суставной поверхности головки бедра определяются при посттравматическом коксартозе (3,6 (3-4) балла), минимальные – при постишемическом (2 (2-2,8) балла). Фиброз костной ткани наиболее выражен при диспластическом коксартозе (3,9 (3-4) балла), наименее – при постишемическом (2 (2-2) балла).
2. При диспластическом коксартозе максимальная экспрессия VEGF отмечается в остеобластах ($0,65 \pm 0,06$ у.е.); при постишемическом – в остеокластах (0,92 (0,63-0,95) у.е.); при посттравматическом коксартозе экспрессии VEGF остеокластами и остеобластами статистически не отличается и составляет $0,59 \pm 0,12$ у.е. и $0,54 \pm 0,16$ у.е. соответственно.
3. Наибольший размер сосудов микроциркуляторного русла характерен для костной ткани головки бедра при постишемическом коксартозе и равен 2759 (2310-6572) мкм^2 ; одинаково мелкие сосуды определяются при посттравматическом и диспластическом коксартозе – 1539,5 (1104-4242) мкм^2 и 2514 (1397-2809) мкм^2 соответственно.
4. Максимальная резорбтивная активность определяется в костной ткани головки бедра при постишемическом коксартозе. Различия в резорбтивной активности при посттравматическом и диспластическом коксартозе заключаются только в меньшем количестве остеокластов во втором случае.
5. При диспластическом коксартозе пролиферативная активность остеобластов максимальна (доля Ki-67 позитивных клеток – 7%), экспрессия белка

bcl-2 в них минимальна (3% клеток); в остеоцитах экспрессия bcl-2 имеет максимальное значение (13,5% клеток). Пролиферативная активность остеобластов костной ткани головки бедра при посттравматическом коксартрозе занимает промежуточное значение (доля Ki-67 позитивных клеток – 6%), доля bcl-2 позитивных остеобластов максимальна (7% клеток), количество bcl-2 позитивных остеоцитов среднее (10% клеток). Посттравматический коксартроз характеризуется минимальной пролиферативной активностью остеобластов костной ткани головки бедра (доля Ki-67 позитивных клеток – 3%) и промежуточными показателями bcl-2 позитивных остеобластов и остеоцитов (4% и 7,5% клеток соответственно).

6. При диспластическом коксартрозе высокой тесноты прямые корреляционные связи выявляются между уровнем экспрессии VEGF остеобластами и размером сосудов микроциркуляторного русла ($r=0,705$; $p=0,000003$), экспрессией ингибитора апоптоза bcl-2 остеобластов и остеоцитов ($r=0,886$; $p=0,0001$), и отмечается обратная связь между экспрессией супрессора апоптоза p53 и ингибитора апоптоза bcl-2 остеоцитов ($r=-0,712$; $p=0,0043$). При посттравматическом коксартрозе высокой тесноты корреляционные связи выявляются между экспрессией ингибитора апоптоза bcl-2 остеоцитов с данным белком остеобластов ($r=0,965$; $p=0,0001$), с уровнем экспрессии Ki-67 остеобластов ($r=0,838$; $p=0,000002$), с экспрессией супрессора апоптоза p53 остеоцитов ($r=-0,888$; $p=0,0439$); уровнем экспрессии Ki-67 остеобластов с экспрессией супрессора апоптоза p53 остеоцитов ($r=0,754$; $p=0,0117$) и с экспрессией ингибитора апоптоза bcl-2 остеобластов ($r=0,772$; $p=0,000041$). При посттравматическом коксартрозе высокой тесноты корреляционная связь выявлена между экспрессией ингибитора апоптоза bcl-2 остеобластов и остеоцитов ($r=0,877$; $p=0,000004$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для качественного исследования ткани головки бедренной кости забор материала необходимо проводить с применением специального устройства.
2. Патогистологическое исследование ткани головки бедренной кости, наряду с традиционными гистологическими методами, должно включать иммуногистохимическое и морфометрическое исследование.
3. Измерение выраженности фиброза суставной поверхности и костной ткани необходимо проводить в "баллах", оценку пролиферативной активности и апоптоза – в "%", уровень экспрессии VEGF и TRAcP – в "у.е.", измерение толщины и площади интересующих показателей – в "мкм" и "мкм²" соответственно.
4. Полученные данные о пролиферативной активности остеобластов, об уровне экспрессии антиапоптотического белка bcl-2, о характерной экспрессии VEGF клетками костной ткани, о резорбтивной активности остеокластов способны помочь в

проведении дифференциальной диагностики между диспластическим, посттравматическим и постишемическим коксартрозом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. *Давыдов Д.А., Никонова Т.А., Устьянцева И.М.* Взаимосвязь патоморфологических параметров строения головки бедренной кости с маркерами костного ремоделирования при коксартрозе // **Политравма.** – 2013. № 1. – С. 61–66.
2. *Давыдов Д.А., Устьянцева И.М.* Структурно-функциональное состояние костной ткани головки бедренной кости при коксартрозе. XVII Всероссийская научно-практическая конференция. Многопрофильная больница: проблемы и решения. г.Ленинск-Кузнецкий. 2013 год.
3. *Давыдов Д.А., Устьянцева И.М.* Проблема комплексного изучения патогенеза коксартроза на современном этапе. XVII Всероссийская научно-практическая конференция. Многопрофильная больница: проблемы и решения. г.Ленинск-Кузнецкий. 2013 год.
4. *Давыдов Д.А., Устьянцева И.М.* Морфометрические особенности строения костной ткани головки бедра при коксартрозе // **Политравма.** – 2014. № 3. – С. 74–79.
5. *Давыдов Д.А., Устьянцева И.М.* Морфометрические показатели строения костной ткани головки бедра. XVIII Всероссийская научно-практическая конференция. Многопрофильная больница: интеграция специальностей. г.Ленинск-Кузнецкий, 2014 год.
6. *Давыдов Д.А.* Особенности морфологического строения и процессов ремоделирования костной ткани головки бедра при деформирующем артрозе различного генеза // **Политравма.** – 2015. № 2. – С. 83–89.
7. Новое устройство фиксации головки бедренной кости для гистологического исследования. *Давыдов Д. А., Устьянцева И. М.* XIX Всероссийская научно-практическая конференция. Многопрофильная больница: междисциплинарные аспекты медицины. г.Ленинск-Кузнецкий, 2015 год.
8. *Давыдов Д.А., Устьянцева И.М., Агаджанян В.В., Авдалян А.М., Лушникова Е.Л.* Уровень экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и тетрагидрат-резистентной кислой фосфатазы (TRAcP) в костной ткани головки бедра при коксартрозе // **Политравма.** – 2016. № 1. – С. 46–50.
9. *Давыдов Д.А., Авдалян А.М., Агаджанян В.В., Лушникова Е.Л., Устьянцева И.М.* Морфометрическая характеристика гистопатологических показателей костной ткани и суставной поверхности головки бедра при различных нозологических формах коксартроза // **Сибирский научный медицинский журнал.** – 2016. – Т. 36, № 2. – С. 62–67.

10. *Давыдов Д.А., Авдалян А.М., Агаджанян В.В., Лушникова Е.Л., Устьянцева И.М.* Морфометрические и молекулярно-биологические особенности ткани головки бедра при различных нозологических формах коксартроза // **Архив патологии.** – 2016. №5. – С. 20–26.

11. *Давыдов Д.А., Авдалян А.М., Агаджанян В.В., Кирилова И.А., Устьянцева И.М., Лушникова Е.Л.* Анализ пролиферативной активности и апоптоза клеток костной ткани головки бедра при различных этиологических формах остеоартроза // **Политравма.** – 2016. № 4. – С. 69-75.

12. *Агаджанян В.В., Пронских А.А., Давыдов Д.А., Проценко С.В.* Хирургическое лечение больных с асептическим некрозом головки бедренной кости на ранних стадиях // **Политравма.** – 2016. № 4. – С. 23-30.