

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

БОЛЕЗНЬ ЛЕГГА – КАЛЬВЕ – ПЕРТЕСА: МОДИФИКАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ И ЕЁ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ

Сертакова А.В.¹,
Ульянов В.Ю.¹,
Садчиков Д.Д.²

¹ Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России (410002, г. Саратов, ул. Чернышевского, 148, Россия)

² ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России (410012, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Сертакова Анастасия Владимировна,
e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Болезнь Легга – Кальве – Пертеса (БЛКП) – распространённая форма остеонекроза головки бедра у детей. До настоящего времени знания в отношении этиологии, патогенеза и клинических проявлений частичны и не создают целостной картины заболевания. Несмотря на современные успехи в понимании БЛКП, стандартными методами лечения остаются хирургические вмешательства и ликвидация нагрузки. В настоящее время необходимо разрабатывать новые стратегии как изучения патогенеза болезни, так и выбора методов лечения.

Цель исследования. Воспроизведение и разработка морфологических критериев ранней стадии болезни Легга – Кальве – Пертеса (1–2-я стадия по Waldenström).

Материалы и методы. Для воспроизведения эксперимента отобрано 6 особей молодняка кролика в возрасте 3–4 месяца породы Серый великан (фландр). Для моделирования ранних стадий БЛКП была использована патофизиологическая модель И.И. Кужеливского и соавт. (2016) с применением параартикулярных инъекций адреналина в сочетании с физической нагрузкой. Мы модифицировали физические нагрузки модели путём ежедневного свободного вольерного выгула животных в течение 1,5–3 часов.

Результаты. В ходе эксперимента доказана состоятельность модифицированной модели и предложены её морфологические критерии. Гистологически был подтверждён процесс остеохондропатии, где обнаружили классические признаки повреждения субхондральной кости, гиалинового хряща, а также явления аномальной васкуляризации участков хряща и патологический неоваскулогенез.

Заключение. Методика нетравматичной модели остеонекроза с использованием молодняка кролика продемонстрировала первичные результаты по воспроизведению патологических звеньев процесса при остеонекрозе. Со стороны хрящевой ткани фиксировали утрату изогенности строения хондроцитов и расположения их в виде «столбиков»; её расслоение и замещение фиброзной тканью, включающей фибробластоподобные клетки и коллагеновые волокна; неоваскуляризацию хряща и стойкую смешанную гиперемия. В костном мозге отметили активацию только красного ростка крови. В костной ткани выявили нарушение остеонного строения с мозаичным расположением костных балок, наличие лакунарной резорбции, дегенерацию остеобластов.

Ключевые слова: болезнь Легга – Кальве – Пертеса, экспериментальная модель, остеонекроз, головка бедра, кролик, детский возраст

Статья поступила: 22.05.2024
Статья принята: 16.12.2024
Статья опубликована: 28.12.2024

Для цитирования: Сертакова А.В., Ульянов В.Ю., Садчиков Д.Д. Болезнь Легга – Кальве – Пертеса: модификация экспериментальной модели и её морфологические критерии. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 218–227. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.22

LEGG – CALVE – PERTHES DISEASE: MODIFICATION OF THE EXPERIMENTAL DESIGN AND ITS MORPHOLOGICAL CRITERIA

Sertakova A.V.¹,
Ulyanov V.Yu.¹,
Sadchikov D.D.²

¹ Research Institute of Traumatology,
Orthopedics and Neurosurgery,
V.I. Razumovsky Saratov State Medical
University (Chernyshevskogo str. 148,
Saratov 410002, Russian Federation)

² V.I. Razumovsky Saratov State Medical
University (Bolshaya Kazachya str. 112,
Saratov 410002, Russian Federation)

Corresponding author:
Anastasia V. Sertakova,
e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru

ABSTRACT

Legg – Calve – Perthes disease (LCPD) is the most common femoral head osteonecrosis in children. Until now, the knowledge of etiology, pathogenesis and clinical signs is partial and does not provide a coherent view of the disease. Despite modern advances in understanding and diagnosing of the disease, surgical interventions and stress release remain the standard treatment methods. Now there is a need to develop both new strategies for studying the pathogenesis of the disease and choosing methods of its treatment.

The aim. Reproduction and development of morphological criteria for the early stage of Legg – Calve – Perthes disease (stages 1–2 by the modified Waldenström classification system).

Materials and methods. The research involved 6 young gray giant rabbits (Flandres) aged 3–4 months. The early stages of LCPD were simulated by the pathophysiological model of Kuzhelivsky I.I. et al. (2016) with paraarticular adrenaline injections along with physical activity. We modified the physical activity regime for the subjects by daily free range for 1.5–3 hours.

Results. The experiment confirmed the validity of the modified simulation and designed its morphological criteria. The osteochondropathy process was verified histologically, we also revealed the classic signs of damage to subchondral bone and hyaline cartilage as well as abnormal vascularization of cartilage sites and pathological neoangiogenesis.

Conclusion. The technique of non-traumatic osteonecrosis simulation in young rabbits featured initial results in reproducing the pathological links of osteonecrosis process. The cartilage tissue featured the loss of isogeneity in chondrocytes structure and their column-like arrangement; its delamination and replacement with fibrous tissue, including fibroblast-like cells and collagen fibers; cartilage neovascularization and persistent mixed hyperemia. In the bone marrow, only the activation of the red blood cell line was noted. The bone tissue featured the abnormality of osteon structure with a mosaic arrangement of trabeculae as well as lacunar resorption, and osteoblast degeneration.

Key words: Legg – Calve – Perthes disease, experimental model, osteonecrosis, femoral head, rabbit, childhood

Received: 22.05.2024
Accepted: 16.12.2024
Published: 28.12.2024

For citation: Sertakova A.V., Ulyanov V.Yu., Sadchikov D.D. Legg – Calve – Perthes disease: Modification of the experimental design and its morphological criteria. *Acta biomedica scientifica*. 2024; 9(6): 218–227. doi: 10.29413/ABS.2024-9.6.22

ОБОСНОВАНИЕ

Болезнь Легга – Кальве – Пертеса (БЛКП) остаётся самой распространённой формой остеонекроза головки бедра у детей. Это заболевание длительно является спутником человечества: известные археологические находки скелетов подростков с характерными признаками, датируемые 3–6 в. до н. э. (этрусский некрополь Италии), а также 2–4 в. до н. э. (провинция Шэньси, Китай) [1, 2]. Несмотря на длительную историю, основные аспекты этиологии, патогенеза и лечения этого заболевания остаются неясными и дискуссионными. БЛКП возникает у детей в возрасте 5–12 лет (иногда дебют приходится на 3–4 года), составляя 25–30 % всей патологии тазобедренного сустава [3–5]. Ввиду высокой медицинской и социальной значимости в молодом возрасте (запоздавшая диагностика, поздняя разгрузка сустава, длительное лечение и реабилитация, инвалидность) БЛКП постоянно изучается как научными, так и клиническими медицинскими сообществами [5]. В настоящее время диагностика БЛКП возможна на ранних стадиях благодаря распространению магнитно-резонансной томографии, молекулярной медицины [6, 7]. Некоторыми авторами предложена диагностика самых ранних стадий БЛКП с помощью иммунных предикторов – цитокинов: интерлейкина 6, интерферона γ , фактора некроза опухоли α и других [8].

Несмотря на успехи в понимании сути и в диагностике заболевания, стандартными методами лечения по-прежнему остаются хирургические вмешательства (остеотомии таза и/или бедра) и ликвидация нагрузки [5, 7]. В настоящее время необходимо разрабатывать новые стратегии лечения, поскольку появились ортобиологические методы использования ауто- и аллотрансплантатов, обогащённой тромбоцитарной плазмы (PRP, platelet-rich plasma), костномозговых дериватов (BMCs, bone marrow concentrates) [9–11]. Всё это возможно реализовать на стадии лабораторного эксперимента с использованием биологической модели, на которой можно воспроизвести стадийность патологического процесса, тестировать лечебные мероприятия [12].

Остеонекрозы (ОН) у детей выделены в группу «остеохондропатий», т. е. ОН с потенциальными возможностями частичной регенерации на фоне стадийности процесса [13–15]. БЛКП в этой группе занимает ведущее место в связи с поражением биомеханически значимого крупного сустава нижней конечности и медико-социальных последствий для человека [1–3]. Апробация методов лечения БЛКП в обязательном порядке должна включать доклинический этап, в частности моделирование ОН на биологической модели. В настоящее время существует достаточное количество моделей с индуцированным различными способами остеонекрозом [13, 16].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Воспроизведение морфологических признаков ранней стадии болезни Легга – Кальве – Пертеса (1–2-я стадия по Waldenström).

МЕТОДЫ

Дизайн исследования соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных и был одобрен протоколом локального этического комитета при ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 7 от 01.02.2022).

Выбор модели был продиктован следующими параметрами: отражение совокупности этиологических факторов возникновения патологического процесса с учётом естественных условий возникновения; начальные стадии заболевания для возможности использования новых методов лечения патологии.

Для воспроизведения эксперимента отобрано 6 особей молодняка кролика породы Серый великан (фландр) в возрасте 3–4 мес. Экспериментальному воздействию подвергался один тазобедренный сустав животного, контрлатеральный сустав этой же особи являлся интактным образцом в исследовании. Данная порода обладает устойчивостью к заболеваниям, относится к мясо-шкурковому направлению селекции с высокой физической активностью. Среди особей было 3 самки со средней массой тела 2,5 кг, которым были присвоены номера I–III, и 3 самца со средней массой 2,7 кг, которым были присвоены номера IV–VI. При внешнем осмотре все кролики были активны, без признаков заболеваний (чистые склеры, нормальный цвет дёсен, языка и состояние зубов, без дефектов шкурки и анатомии). Самец IV отличался беспокойным поведением и небольшим тахипноэ, что обращало на себя внимание до начала эксперимента, однако не вызывало серьёзного беспокойства.

Для воспроизведения ранних стадий БЛКП была использована патофизиологическая модель И.И. Кужеливского и соавт. [17] с применением параартикулярных инъекций адреналина в течение 30 дней в сочетании с физической нагрузкой.

Данная модель выбрана нами не случайно, поскольку включает три важных звена формирования остеонекроза при БЛКП: сосудистое и нагрузочное (патогенетические аспекты), естественность процесса (ятрогенный аспект). Введение адреналина реализует концепцию идиопатической ишемии сосудов микроциркуляции головки бедренной кости с исходом в инфаркт и некроз, развитие фазных нарушений со стороны микроциркуляторного русла, падение внутрисосудистого давления с исходом в ишемический стаз, сладж эритроцитов и метаболический ацидоз [18, 19]. Локальное введение адреналина стимулировало возникновение периферического стресса и активацию альфа-адренорецепторов микроциркуляторных сосудов, активацию местных тучных клеток с исходом в длительную ишемию, стаз и нарушение кровоснабжения, но без фатального исхода.

Нагрузка позволяет реализовать фактор физической перегрузки повреждённого сустава, когда длительный латентный период заболевания отягчает последствия.

Кроме того, модель Кужеливского малоинвазивна и не требует хирургических манипуляций, что подтверждает её естественность.

В качестве модификации мы выполняли расчёт дозы адреналина для периартикулярного введения (авторы вводили взрослым особям массой 2,9–3,5 кг адреналин в дозе 0,17 мг на 1 кг; мы использовали динамическое варьирование дозы – от 0,12 до 0,14 мг на 1 кг массы). Это было связано с возрастом кроликов (молодняк) и отсутствием данных по смертности экспериментальных особей. Также модифицировали физические нагрузки путём свободного вольерного выгула кроликов в течение 1,5–3 ч (где 30 мин отводилось повышенным нагрузкам в виде бега и прыжков) ежедневно как на стадии введения препарата, так и после окончания, поскольку исходная нагрузка в виде 30 сгибаний/разгибаний в сутки у животного нам показалась недостаточной. Кролики относятся к беспокойному типу норных животных, двигательная активность которых в виде прыжков/перебежек/копания нор занимает не менее 8–12 ч в сутки. В связи с этим в исходной модели физическая нагрузка была недостаточной, однонаправленной и способствовала увеличению стресса животного от тесной клетки. Вольерный выгул позволял особям полноценно нагрузить все мышцы и нормализовать настроение.

Все кролики располагались в удобных клетках, получали полноценные корм (специальный комбикорм, овощи, травянистые растения, ветки деревьев и лозы винограда) и родниковую воду. Таким образом, мы старались воспроизвести максимально естественные и экологичные условия для содержания молодняка.

Всех животных обследовали следующим образом: до начала эксперимента (контрольная точка 1 – 1-е сутки эксперимента) всем кроликам было проведено рентгенологическое исследование тазобедренных суставов в прямой проекции и компьютерная томография (КТ). Заготовлены образцы тканей головки бедра (хрящ и субхондральная кость) по мере выведения кроликов из эксперимента. Через 30 дней экспериментальной фазы (контрольная точка 2 – 30-е сутки эксперимента) всем кроликам выполнено обследование, 4 особи были выведены из эксперимента (получен материал головки бедра как экспериментального, так и интактного сустава). Выполнено морфогистологическое исследование, окраска гематоксилином и эозином, увеличение: окуляр $\times 10$, объектив $\times 20$ ($\times 200$), $\times 40$ ($\times 400$). Заготовленные препараты головки бедра (комплекс хрящ и субхондральная кость) фиксировали в 10%-м нейтральном растворе формалина, затем подвергали декальцинации в 15%-м растворе азотной кислоты. В дальнейшем осуществлялись проводка или обезвреживание по спиртам восходящей плотности (5 спиртов с выдержкой в каждом 24 ч), выдержка в касторовом масле в течение 72 ч. Финальным этапом служила проводка по хлороформу (хлороформ + парафин, 1:1), фиксация в парафине при 60 °C на 24 ч и окончательная заливка в парафин, микротомия полуавтоматическим ротационным микротомом RMD 3000 (MtPoint, Россия). Выполнено обзорное окрашивание гематокси-

лином и эозином. Оставшиеся особи (2 кролика) жили ещё 45 дней, когда было произведено повторное полное исследование для оценки отдалённых последствий (контрольная точка 3 – 75-е сутки эксперимента). Контрольный период в 45 дней не был случайностью, поскольку, по данным некоторых авторов, у четвероногих биологических моделей в течение 30–45 дней после моделирования остеонекроза головки бедра отмечали обратный процесс ремоделирования [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пять кроликов все фазы эксперимента перенесли хорошо. Всем были выполнены параартикулярные инъекции 0,4 мл адреналина 0,1 % в область правого тазобедренного сустава. Самец IV выбыл из эксперимента на 17-й день без внешних видимых проявлений какого-либо заболевания (смерть в ночное время). При вскрытии трупа была обнаружена дилатация правого предсердия, что с учётом тахипноэ, беспокойного темперамента, жаркой температуры окружающей среды (летний период) и молодого возраста расценено как врождённая патология сердца, усугубившаяся на фоне введения адреналина.

Диагностика проводилась на рентгеновском диагностическом комплексе «РИМ АМ» (РЕНИннМед, Россия) с цифровым детектором. В связи с умеренными морфологическими изменениями, воспроизводимыми в эксперименте, рентгенологические изменения отмечали в трёх случаях (рис. 1); все остальные изменения невозможно было оценить из-за низкой чувствительности метода выявления ранних гистоморфологических изменений структур сустава.

По результатам рентгенографии (рис. 1) у всех кроликов отмечено нормальное развитие структур тазобедренных суставов (крыши вертлужной впадины, головок бёдер) с присущей шарообразной формой головки, зоны роста – открытые. Также эти данные были подтверждены и результатами компьютерной томографии.

На 15-й день после начала эксперимента у всех животных фиксировали хромоту на правую тазовую конечность, заваливание на правый бок при активном прыжке, а также неестественное вытягивание правой тазовой конечности (по типу тракции) в положении сидя. По данным рентгенографии, на контрольной точке 2 было отмечено небольшое затемнение головки правого бедра в виде локальных зон остеопороза; отмечали и умеренное уплощение головки, но без признаков классического импрессионного перелома (рис. 2). Также фиксировали явления остеолизиса в зоне метаэпифизарного хряща головки бедра.

Отчётливые признаки изменений головки бедра нам удалось увидеть макроскопически при заготовке материала (рис. 3). Отмечали уплощённость головки бедра в верхнем и центральном полюсах (рис. 3а, б), истончение гиалинового хряща, признаки усиленной васкуляризации в зоне повреждения. Данные изменения особенно чётко прослеживались на опытных препаратах особей спустя 45 дней после окончания эксперимента (контрольная точка 3) (рис. 3в–д).

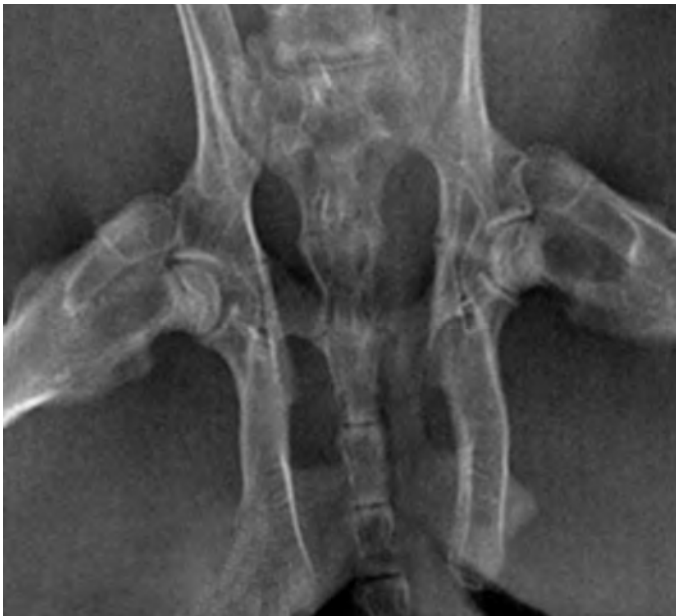


РИС. 1.

Рентгенологическое исследование, контрольная точка 1: картина нормального развития тазобедренных суставов с шарообразной формой головки и полноценным её покрытием вертлужной впадины; зоны роста головки и шейки бедра открыты, поскольку особи относятся к молодняку



FIG. 1.

X-ray examination, checkpoint 1: normal development of the hip joints with a spherical femoral head and its full acetabulum coverage; the growth zones of the femoral head and neck are open, since the animals are young



а



б



в

РИС. 2.

Рентгенограммы (а, б) и срез компьютерной томограммы (в) кролика I, контрольная точка 2: а, б – без признаков классического импрессионного перелома; в – явления остеолитиза в зоне метаэпифизарного хряща головки бедра

FIG. 2.

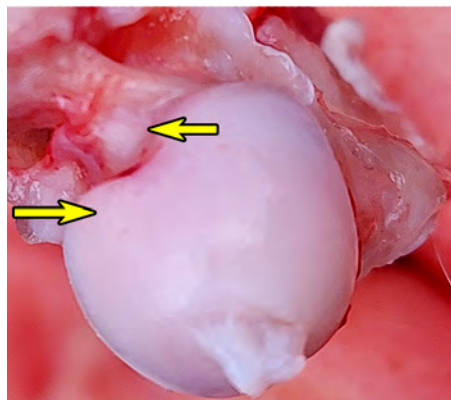
X-ray images (а, б) and computed tomogram scan (в) of rabbit I, checkpoint 2: а, б – no signs of a classic depressed fracture; в – osteolysis in the area of the metaepiphyseal cartilage of femoral head



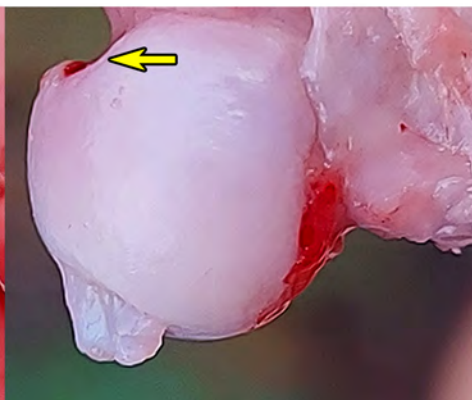
а



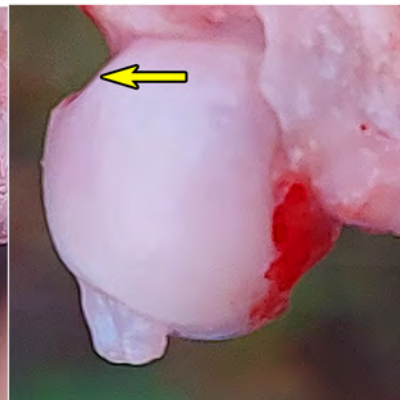
б



в



г



д

РИС. 3.

Макропрепараты кроликов: **а, б** – контрольная точка 2: характерное уплощение головки бедра; **в, г, д** – контрольная точка 3: признаки дефекта. Через 45 дней у экспериментальных животных не только отсутствуют признаки регресса, но и, наоборот, выявлено усугубление проявлений остеохондропатии головки бедра, т. е. признаков классического остеоонкроза у молодняка

FIG. 3.

Macroscopic specimens of rabbits: **а, б** – checkpoint 2: definitive flattening of the femoral head; **в, г, д** – checkpoint 3: signs of a defect. In 45 days, no signs of regression in the experimental animals are found; worsening of osteochondropathy signs in the femoral head, i. e. classic osteonecrosis signs in young animals, is registered

Окончательное подтверждение состоявшегося эксперимента мы получили по результатам гистологического исследования, которое позволило сформулировать морфологические критерии модели. Результаты микроскопического описания представлены в таблице 1.

В целом в ходе эксперимента гистологически был подтверждён процесс остеохондропатии, где обнаружили классические признаки повреждения субхондральной кости, гиалинового хряща, а также явления аномальной васкуляризации участков хряща и патологический неоангиогенез.

Так, основными изменениями со стороны хрящевой ткани стали потеря изогенности строения хондроцитов и расположения их в виде «столбиков»; расслоение зрелой хрящевой ткани и замещение её фиброзной тканью, включающей фибробластоподобные клетки и коллагеновые волокна; неоваскуляризация хряща и стойкая смешанная гиперемия. В костном мозге фиксировали подавление лейкоцитарного и тромбоцитарного роста с преобладанием элементов красной крови. В костной ткани к основным морфологическим изменениям отнесли потерю остеонного строения с мозаичным располо-

жением костных балок; наличие лакунарной резорбции; дегенерацию остеобластов и превращение их в неактивные клетки с мелкими ядрами; выраженную васкуляризацию костной ткани и смешанную гиперемию.

ОБСУЖДЕНИЕ

На наш взгляд, разработанная нами модифицированная модель БЛКП с небольшими модификациями оптимальна по ряду факторов. Большинство авторов предполагают в патогенезе БЛКП сочетание обстоятельств: последовательных микроциркуляторных расстройств на уровне проксимального отдела бедра (гиперемия, отёк, спазм, ишемия, стаз с переходом в инфаркт кости) на фоне физической перегрузки, клеточной гипоксии, гормонального дисбаланса и воспалительного иммунного профиля индивида с увеличением провоспалительных цитокинов [6, 9, 21]. Выбранная нами модель успешно сочетает в себе воздействие на сосудистое и нагрузочные звенья без травмы или хирургических манипуляций. Кроме того, комплексность ОН у детей на фоне минималь-

ТАБЛИЦА 1
МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ГОЛОВКИ БЕДРА
КРОЛИКОВ-МОЛОДНЯКА

TABLE 1
MICROSCOPIC CHARACTERISTICS OF FEMORAL HEAD
HISTOLOGICAL SPECIMENS OF YOUNG RABBITS

№	Препарат	Временной период	Описание
1	2 образца интактного (здорового) препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 2, 30-е сутки эксперимента	1. Содержит фрагменты пластинчатой костной ткани и элементы красного костного мозга. По периферии препарата дифференцируются остеоны, содержащие в центре Гаверсовы каналы. Определяются промежуточные пластины, в которых чётко дифференцируются ядра остеоцитов. Васкуляризация ткани умеренная. Грубых патологических изменений нет. 2. Субхондральная кость с выраженной васкуляризацией. Снаружи костных трабекул также расположены остеобласты, внутри трабекул определяются ядра остеоцитов. Архитектоника костной ткани сохранена. 3. Костный мозг клеточный, содержит клетки-предшественники трёх ростков. Тип кроветворения нормобластный. 4. Содержит зоны молодого и зрелого хряща. Под надхрящницей определяются хондробласты и молодые хондроциты. Клетки расположены в межклеточном матриксе. В зоне зрелого хряща выявляются хондроциты, образующие изогенные группы. Клетки с характерными морфологическими свойствами.
2	2 образца интактного (здорового) препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 3, 75-е сутки эксперимента	Препараты содержат все вышеописанные клеточные и тканевые изменения с аналогичными неизменёнными морфологическими свойствами нормальных структур тазобедренного сустава, как и в контрольной точке 2.
3	2 образца экспериментального препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 2, 30-е сутки эксперимента	1. В строении костных балок видны утолщённые линии склеивания (похоже на «мозаичное строение»). Остеонное строение не угадывается, ядра остеоцитов дифференцированы. Поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами (рис. 4а, б). 2. В препарате субхондральной кости бросаются в глаза расширенные костные лакуны, вероятно лакунарная резорбция. Костная ткань с неравномерным окрашиванием (изменение тинкториальных свойств). 3. Препарат содержит преимущественно клеточные элементы красного костного мозга. 4. Содержит источенную фиброзную надхрящницу, хрящ и субхондральную кость. Хондроциты хряща образуют изогенные группы, расположенные в виде «столбиков» в межклеточном матриксе. Имеются зоны, в которых хрящ замещён фиброзной тканью, состоящей из клеточного и тканевого компонентов. Клеточный компонент представлен пучками фибробластоподобных клеток вытянутой формы. Ядра клеток овальные, содержат глыбчатый хроматин и 1–2 нуклеолы. Цитоплазма клеток умеренная, границы цитоплазм сливаются. В новообразованной фиброзной ткани сильно выражена васкуляризация. Кровеносные сосуды в состоянии гиперемии. В зоне зрелого хряща определяются признаки расслоения ткани с формированием крупных щелей.
4	3 образца экспериментального препарата головки и шейки бедра кролика от 2 особей	Контрольная точка 3, 75-е сутки эксперимента	1. В костной ткани дифференцируются остеоны с расширенными Гаверсовыми каналами. Поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами. Вокруг остеонов определяются тонкие базофильные линии цементирувания. 2. Субхондральная кость с признаками сильно выраженной васкуляризации, новообразованные кровеносные сосуды в состоянии выраженной гиперемии. Линии цементирувания в субхондральной кости выражены. 3. Препарат содержит большое количество элементов красного костного мозга. 4. Архитектоника хрящевой ткани нарушена, хондроциты расположены хаотично в межклеточном матриксе, не образуя «столбиков» и изогенных групп (рис. 4б). Ядра хондроцитов с неровной ядерной мембраной, расположены центрально или эксцентрично. Размер ядер полиморфен. В одном участке надхрящница утолщена и «разволокнена», клеточный компонент надхрящницы в данном участке не дифференцируется. Хаотично расположены хондроциты в межклеточном матриксе с участками их полного отсутствия. Архитектоника хрящевой ткани грубо нарушена. Хрящевая ткань в большом объёме препарата замещена фиброзной тканью грубоволокнистого строения. Клеточный компонент фиброзной ткани незначительный, преобладает волокнистый компонент, представленный коллагеновыми волокнами. Хондроциты в межклеточном матриксе расположены хаотично, не формируют ни изогенных групп, ни «столбиков». В ткани выявляются множественные щели, свидетельствующие о расслоении хряща.

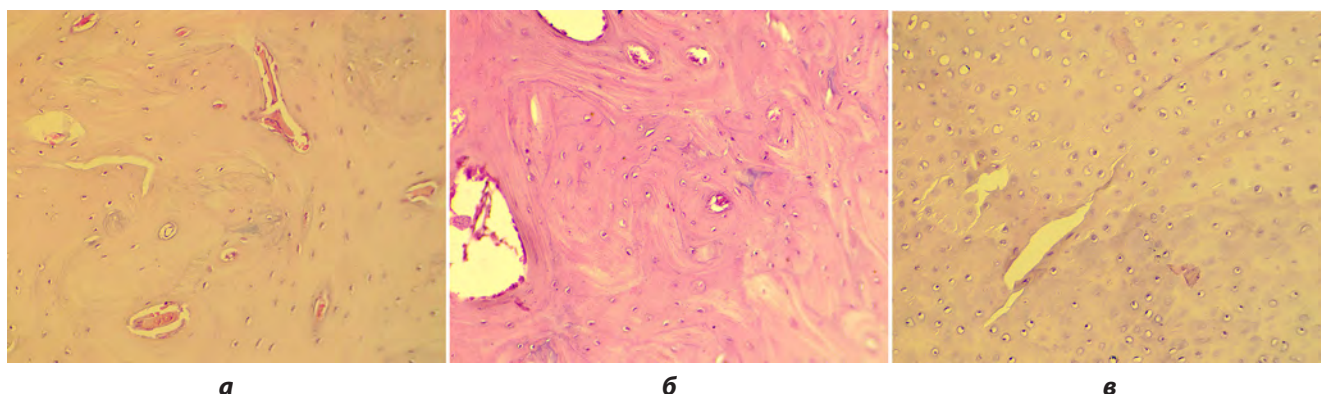


РИС. 4.

а, б – препараты костной ткани: костная ткань с неравномерным окрашиванием (изменение тинкториальных свойств); в строении костных балок видны утолщённые линии склеивания (похоже на «мозаичное строение»); поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами. **в** – препарат хрящевой ткани: архитектура хрящевой ткани нарушена, хондроциты расположены хаотично в межклеточном матриксе, не образуя «столбиков» и изогенных групп; ядра хондроцитов с неровной ядерной мембраной, расположены центрально или эксцентрично

FIG. 4.

а, б – bone tissue specimens: bone tissue with uneven staining (change in tinctorial properties); thickened adhesion lines are visible in the structure of trabeculae (similar to mosaic structure); trabecular surfaces are covered with inactive osteoblasts containing small hyperchromatic nuclei. **в** – cartilage tissue specimen: cartilage tissue architecture is disturbed, chondrocytes in the intercellular matrix are erratic, no "columns" or isogenic groups are formed; chondrocyte nuclei have uneven nuclear membrane and located centrally or eccentrically

ности травматического агента позволяет сделать выбор в сторону нетравматической модели с минимальным хирургическим или химическим воздействием с малой сосудистой депривацией, тогда как большинство моделей включают в себя этап обширной травматизации сосудов, иссечения структур тазобедренного сустава [15, 19].

Эксперимент воспроизведён в полном объёме, отмечена хорошая переносимость методики животными, которые были здоровыми, набирали хорошую массу тела. Среди клинических симптомов патологического процесса они получили хромоту на правую заднюю лапу, заваливание на правый бок при активном прыжке, а также неестественное вытягивание правой задней лапы (по типу тракции) в положении сидя. Местных признаков выпадения шерсти, шелушения кожи в области введения не получено. Возможно, это связано с возрастом животных, поскольку в базовой методике были отобраны кролики в возрасте 9–14 месяцев, или же они подвергались расширенным физическим нагрузкам [15].

Рентгенологически было получено небольшое затемнение головки правого бедра в виде локальных зон остеопороза, отмечали и умеренное уплощение головки, но без признаков классического импрессионного перелома. Также фиксировали явления остеолизиса в зоне метаэпифизарного хряща головки бедра, что косвенным образом указывало на развитие патологического процесса. К сожалению, диагностические возможности лучевых методов ограничены чувствительностью в отношении начальных стадий остеохондропатий, что и было нами получено.

Мы расширили объём методов изучения модели ОН и добавили морфогистологическое исследование, которое позволило сформулировать морфологические критерии. Отчётливые признаки изменений головки бедра нам удалось увидеть макроскопически при заго-

товке материала. Отмечали уплотнённость головки бедра в верхнем и центральном полюсах, истончение гиалинового хряща, признаки усиленной васкуляризации в зоне повреждения, что характерно для классического остеонекроза [22, 23]. Гистологически мы получили изменения всех структур тазобедренного сустава, характерных для остеохондропатии. Во-первых, фиксировали выраженные изменения гиалинового хряща в препаратах при сравнении с интактными, выявляя в первых грубое нарушение архитектоники хрящевой ткани, которая в большом объёме препарата замещена фиброзной тканью грубоволокнистого строения. Клеточный компонент фиброзной ткани незначительный, преобладает волокнистый компонент, представленный коллагеновыми волокнами. Хондроциты в межклеточном матриксе расположены хаотично, не формируют ни изогенных групп, ни «столбиков». В ткани выявляются множественные щели, свидетельствующие о расслоении хряща.

Субхондральная кость имела неравномерное окрашивание (изменение тинкториальных свойств). В строении костных балок видны утолщённые линии склеивания (похоже на «мозаичное строение»). Остеонное строение не угадывается, ядра остеоцитов дифференцированы. Поверхности костных балок покрыты неактивными остеобластами с мелкими гиперхромными ядрами, имелись расширенные костные лакуны с признаками лакунарной резорбции. Важно отметить и наличие изменений со стороны микроциркуляторного русла: признаки артериальной и венозной гиперемии, стаза, локального инфаркта, в пользу чего свидетельствует обширная реакция замещения структур нормального тазобедренного сустава на грубую волокнистую соединительную ткань, а также неполноценную сосудистую сеть и формирование неоваскуляризации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на многолетнюю историю присутствия в человеческой популяции, БЛКП до настоящего момента является дискуссионной проблемой на всех уровнях: эпидемиологии, патогенеза, патологической физиологии и клинической ортопедии. В этих условиях ортопеды нуждаются в экспериментальном направлении изучения как отдельных звеньев БЛКП, так и возможностей современных методик лечения. Этого возможно добиться путём моделирования патологического процесса на биологических объектах.

Методика нетравматичной модели остеонекроза с использованием молодняка кролика продемонстрировала первичные результаты по воспроизведению патологических звеньев процесса, в частности позволила выявить и сформулировать гистоморфологические особенности патологического состояния структур тазобедренного сустава (хрящ, субхондральная кость, костный мозг, ангиогенез) при остеонекрозе.

Со стороны хрящевой ткани фиксировали утрату изогенности строения хондроцитов и расположения их в виде «столбиков»; её расслоение и замещение фиброзной тканью, включающей фибробластоподобные клетки и коллагеновые волокна; неоваскуляризацию хряща и стойкую смешанную гиперемию. В костном мозге отметили активацию только красного ростка крови. В костной ткани выявили нарушение остеонного строения с мозаичным расположением костных балок; наличие лакунарной резорбции; дегенерацию остеобластов.

Данный метод обладает хорошим эксплуатационным, экономическим и экспериментальным потенциалом для клинической ортопедии.

Финансирование

Работа выполнена в рамках финансовой поддержки Проекта перспективного научного исследования ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России «Разработка системы оценки эффективности ортобиологических методов лечения дегенеративных заболеваний крупных суставов у детей» № SSMU-2022-010 (номер государственной регистрации НИОКР 122031400732-9).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Manzon VS, Ferrante Z, Giganti M, Gualdi-Russo E. On the antiquity of Legg – Calvé – Perthes disease: Skeletal evidence in Iron Age Italy. *Homo*. 2017; 68(1): 10-17. doi: 10.1016/j.jchb.2016.11.002
- Berger E, Chen L, Sun Z, Sun Z. A probable case of Legg – Calvé – Perthes disease in Warring States-era China. *Int J Paleopathol*. 2017; (16): 27-30. doi: 10.1016/j.ijpp.2016.11.001
- Менщикова Т.И., Лунова С.Н., Матвеева Е.Л., Гасанова А.Г. Оптимизация диагностики ранних стадий болезни Легга – Кальве – Пертеса у детей. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2020; 8(4): 574-581. [Menshchikova TI, Luneva SN, Matveeva EL, Gasanova AG. Optimization of diagnosis of early stages of Legg – Calvé – Perthes disease in children. *Science of the Young (Eruditio Juvenium)*. 2020; 8(4): 574-581. (In Russ.)]. doi: 10.23888/HMJ202084574-581
- Тепленький М.П., Лунова С.Н., Матвеева Е.Л., Спирина Е.С., Гасанова А.Г., Рахматулина А.А. Окислительный стресс и антиоксидантный статус у детей с болезнью Легга – Кальве – Пертеса. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2019; 7(2): 170-177. [Teplenkii MP, Luneva SN, Matveeva EL, Spirina ES, Gasanova AG, Rakhmatulina AA. Oxidative stress and antioxidant status in children with Legg – Calvé – Perthes disease. *Science of the Young (Eruditio Juvenium)*. 2019; 7(2): 170-176. (In Russ.)]. doi: 10.23888/hmj201972170-17
- Rodríguez-Olivas AO, Hernández-Zamora E, Reyes-Maldonado E. Legg – Calvé – Perthes disease overview. *Orphanet J Rare Dis*. 2022; 17(1): 125. doi: 10.1186/s13023-022-02275-z
- Шабалдин Н.А., Шабалдин А.В. Молекулярные основы этиологии и патогенеза болезни Легга – Кальве – Пертеса и перспективы таргетной терапии (обзор литературы). *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2022; 10(3): 295-307. [Shabalin NA, Shabalin AV. Molecular foundations of the etiology and pathogenesis of Legg – Calvé – Perthes disease and prospects for targeted therapy: A literature review. *Pediatric Traumatology, Orthopaedics and Reconstructive Surgery*. 2022; 10(3): 295-307. (In Russ.)]. doi: 10.17816/PTORS101679
- Spasovski V, Srzentić Dražilov S, Nikčević G, Baščarević Z, Stojiljković M, Pavlović S, et al. Molecular biomarkers in Perthes disease: A review. *Diagnostics (Basel)*. 2023; 13(3): 471. doi: 10.3390/diagnostics13030471
- Шабалдин Н.А., Шабалдин А.В., Шабалдина Е.В. Способ прогнозирования развития болезни Легга – Кальве – Пертеса на основе иммунологических предикторов: Пат. № 2751976 Рос. Федерация. № 2021104154; заявл. 18.02.2021; опубл. 21.07.2021. Бюл. № 21. [Shabaldin NA, Shabaldin AV, Shabaldina EV. A method for predicting the progressing of Legg – Calvé – Perthes disease based on immunological predictors: Patent No. 2751976 of the Russian Federation. 2021. (In Russ.)].
- Murphy RF, Mooney JF 3rd. Orthobiologics in pediatric orthopedics. *Orthop Clin North Am*. 2017; 48(3): 323-331. doi: 10.1016/j.jocl.2017.03.007
- Sezgin EA, Atik OŞ. Are orthobiologics the next chapter in clinical orthopedics? A literature review. *Eklem Hastalik Cerrahisi*. 2018; 29(2): 110-116. doi: 10.5606/ehc.2018.005
- Mohamed-Ahmed S, Frisad I, Lie SA, Suliman S, Mustafa K, Vindenes H, et al. Adipose-derived and bone marrow mesenchymal stem cells: A donor-matched comparison. *Stem Cell Res Ther*. 2018; 9(1): 168. doi: 10.1186/s13287-018-0914-1
- Черешнев В.А., Шилов Ю.И., Черешнева М.В., Самоделкин Е.И., Гаврилова Т.В., Гусев Е.Ю., и др. Экспериментальные модели в патологии. Пермь; 2011. [Chereshnev VA, Shilov Yul, Chereshneva MV, Samodelkin EI, Gavrilova TV, Gusev EYu, et al. *Experimental models in pathology*. Perm; 2011. (In Russ.)].
- Сертакова А.В., Ульянов В.Ю., Магомедрасулова Э.А. Экспериментальные модели остеонекроза на животных. *Гений*

оптонеэуи. 2023; 29(1): 110-116. [Sertakova AV, Ulyanov VYu, Magomedrasulova EA. Experimental animal models of osteonecrosis. *Genij Ortopedii*. 2023; 29(1): 110-116. (In Russ.)]. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-1-110-11

14. Hines JT, Jo WL, Cui Q, Mont MA, Koo KH, Cheng EY, et al. Osteonecrosis of the femoral head: An updated review of ARCO on pathogenesis, staging and treatment. *J Korean Med Sci*. 2021; 36(24): e177. doi: 10.3346/jkms.2021.36.e177

15. Holtmann H, Lommen J, Kübler NR, Sproll C, Rana M, Kar-schuck P, et al. Pathogenesis of medication-related osteonecrosis of the jaw: A comparative study of *in vivo* and *in vitro* trials. *J Int Med Res*. 2018; 46(10): 4277-4296. doi: 10.1177/0300060518788987

16. Fan M, Peng J, Qin L, Lu S. Experimental animal models of osteonecrosis. *Rheumatol Int*. 2011; 31(8): 983-994. doi: 10.1007/s00296-011-1819-9

17. Кужеливский И.И. Слизовский Г.В., Аникина Е.Ю. *Способ моделирования асептического некроза головки бедра*: Патент № 2626567 Рос. Федерация. № 2016140100; заявл. 11.10.2016; опубл. 28.07.2017. Бюл. № 22. [Kuzhelevsky II, Slizovsky GV, Anikina EYu. *A method for modeling aseptic necrosis of the femoral head*: Patent No. 2626567 of the Russian Federation. 2016. (In Russ.)].

18. Horn A, Eastwood D. Prevention of femoral head collapse in Legg – Calvé – Perthes disease. *Bone Joint*. 2017; 6(1): 3-6. doi: 10.1302/2048-0105.61.360497

19. Hofstaetter JG, Wang J, Yan J, Glimcher MJ. The effects of alendronate in the treatment of experimental osteonecrosis

of the hip in adult rabbits. *Osteoarthritis Cartilage*. 2009; 17(3): 362-370. doi: 10.1016/j.joca.2008.07.013

20. Рубашкин С.А., Сертакова А.В., Дохов М.М., Тимаев М.Х. Дегенеративные заболевания тазобедренных суставов у детей. *Ортопедия, травматология и восстановительная хирургия детского возраста*. 2018; 6(3): 78-86. [Rubashkin SA, Sertakova AV, Dokhov MM, Timaev MKh. Degenerative hip disorders in children. *Pediatric Traumatology, Orthopaedics and Reconstructive Surgery*. 2018; 6(3): 78-86. (In Russ.)]. doi: 10.17816/ptors6378-86

21. Афанасьев Ю.И., Омеляненко Н.П. Соединительные ткани. В: Данилов Р.К., Быков В.Л. (ред.). *Руководство по гистологии*. СПб.: Изд-во специальной литературы; 2001: 249-284. [Afanasyev Yul, Omelyanenko NP. Connective tissues. In: Danilov RK, Bykov VL (eds). *Histology guide*. Saint Petersburg; 2001: 249-284. (In Russ.)].

22. Денисов-Никольский Ю.И., Миронов С.П., Омеляненко Н.П., Матвейчук И.В. *Актуальные проблемы теоретической и клинической остеопатологии*. М.: ОАО «Типография «Новости»; 2005. [Denisov-Nikolsky Yul, Mironov SP, Omelyanenko NP, Matveychuk IV. *Current problems of theoretical and clinical osteoarthrology*. Moscow: Novosti; 2005. (In Russ.)].

23. Crim J, Layfield LJ, Stensby JD, Schmidt RL. Comparison of radiographic and pathologic diagnosis of osteonecrosis of the femoral head. *Am J Roentgenol*. 2021; 216(4): 1014-1021. doi: 10.2214/ajr.20.2293

Сведения об авторах

Сертакова Анастасия Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела инновационных проектов в травматологии и ортопедии, Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4375-0405>

Ульянов Владимир Юрьевич – доктор медицинских наук, доцент, заместитель директора по научной и инновационной деятельности, Научно-исследовательский институт травматологии, ортопедии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9466-8348>

Садчиков Дмитрий Дмитриевич – аспирант кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Минздрава России, e-mail: disadchikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5242-3476>

Information about the authors

Anastasiya V. Sertakova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Innovations and Technologies for Traumatology and Orthopedics, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, e-mail: anastasiya-sertakova@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4375-0405>

Vladimir Yu. Ulyanov – Dr. Sc. (Med.), Docent, Deputy Director for Science and Innovations, Research Institute of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, e-mail: v.u.ulyanov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9466-8348>

Dmitry D. Sadchikov – Postgraduate at the Department of Traumatology and Orthopedics, V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, e-mail: disadchikov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5242-3476>