Ігнат'єв О.М.¹, Турчин М.І.¹, Ульянов В.О.², Єрмоленко Т.О.¹¹Одеський національний медичний університет, м. Одеса, Україна²Волинський національний університет, м. Луцьк, Україна

Морфологічні і морфометричні зміни кісткової тканини при остеопорозі та остеомалаяції

Резюме. Досліджували кісткову тканину (КТ) 56 постменопаузальних жінок (середній вік — $62,30 \pm 2,74$ року), із них 46 пацієнток, які працювали в несприятливих виробничих умовах, мали зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ): остеопороз (ОП) — у 31 жінки, остеомалаяція (ОМ) — у 15; 10 жінок були без метаболічних змін КТ. Фрагмент КТ отримували під час оперативного втручання щодо перелому шийки стегнової кістки. Готували недекальциновані зрізи КТ, функціональну активність ядер клітин КТ визначали за допомогою диференціального методу забарвлення ядер із різною функціональною активністю. Морфологічні зміни при ОП та ОМ мають загальні ознаки та відмінності. Спільним є витончення кісткових балок, розширення каналів остеонів, наявність безклітинних ділянок і безклітинних лакун. Відмінності: при ОМ збільшення товщини та площі остеоїда, менш виражене зменшення оксифілії матриксу, більш висока функціональна активність клітин КТ. Зниження МЩКТ та виникнення низькоенергетичних переломів може бути результатом не тільки ОП, але й ОМ. При призначенні лікування необхідно провести диференційно-діагностичні заходи, що визначають причину зниження кісткової маси.

Ключові слова: постменопауза; остеопороз; остеомалаяція; морфометрія; морфологія

Вступ

Зниження кісткової маси, що супроводжує старіння організму та різні патологічні процеси, є однією з найбільш значущих медико-соціальних проблем сучасної медицини, оскільки воно пов'язане зі зменшенням міцності кісткових структур [1, 2] і, відповідно, зі збільшенням частоти переломів [2, 3].

У широкій клінічній практиці втрату кісткової маси пов'язують з розвитком остеопорозу (ОП). Остеопороз — системне метаболічне захворювання скелета, що характеризується зменшенням кісткової маси, порушенням мікроархітекtonіки кісткової тканини (КТ), що призводить до підвищення ламкості кісток і ризику переломів при мінімальній травмі [4]. Остеопоротичні переломи можуть виникати при падінні з висоти власного зросту, кашлі, чиханні і взагалі без будь-якого травматичного втручання.

Однак існує й інша причина зниження мінеральної щільності кісткової тканини (МЩКТ) — остео-

малаяція (ОМ), яка також супроводжується зменшенням міцності кісткових структур і зростанням ризику переломів у міру розвитку процесу [5–7]. При цьому, незважаючи на однаковий клінічний результат (переломи), морфоструктурні, етіологічні та патогенетичні характеристики ОП та ОМ різняться якісно [8–10].

Остеомалаяція — накопичення на поверхні кістки потовщених шарів немінералізованого остеоїда, що призводить до зниження маси мінералізованої кістки. В результаті, хоча загалом при остеомалаяції загальний обсяг КТ (мінералізованої та немінералізованої) в нормі, жорсткість і механічна компетентність зменшуються, а ризик перелому збільшується [5, 11]. Проте ОМ діагностується лише шляхом використання методів морфологічного контролю [7, 8, 12]. У дорослих людей цей процес часто перебігає безсимптомно [7, 8], так само як і ОП, що являє собою до виникнення перелому «безмовну хворобу».

Остеопороз та ОМ не є взаємовиключними процесами, і втрата кісткової маси в одних пацієнтів може бути викликана ОП, в інших — ОМ, а в третіх — одночасно ОП та ОМ [8].

Мета: вивчити морфологічні та морфометричні зміни кісткової тканини при остеопорозі та остеомаліції.

Матеріали та методи

Досліджували КТ 56 постменопаузальних жінок (середній вік — 62,30 ± 2,74 року) під час ендопротезування з приводу перелому шийки стегнової кістки. Із них 46 пацієнок, які працювали в несприятливих виробничих умовах, мали зниження МЩКТ: ОП — у 31 жінки, ОМ — у 15; 10 жінок були без метаболічних розладів КТ.

Фрагмент КТ забирали під час оперативного втручання. Готували недекальциновані зрізи КТ [13]. Досліджували гістоморфометричні параметри утворення кістки: об'єм остеїда (%) некальцифікованої кістки, поверхня остеобластів — частина (%) загального периметра КТ, вкрита остеобластами, та резорбції кістки: поверхня кістки з ерозіями — частина (%) поверхні кістки, вкрита лакунами резорбції [13, 14].

Функціональну активність ядер клітин КТ визначали за допомогою методу диференціального забарвлення ядер із різною функціональною активністю [13]. У кожному випадку досліджували по 100 клітин КТ.

Постійно гістологічні препарати досліджували методом світлової мікроскопії із застосуванням світлового мікроскопа «CarlZeiss», морфометричні дослідження проводили із застосуванням ліцензійного програмного забезпечення «ВидеоТест-МастерМорфология» (ООО «ВидеоТест»).

Результати та обговорення

В результаті проведених досліджень виявлені відмінності морфометричних показників кісткоутворення та резорбції КТ у хворих на ОП та ОМ. При ОМ товщина остеїда була в 2,2 раза ($p < 0,05$) більшою, ніж у пацієнтів з ОП, і в 1,8 раза ($p < 0,05$), ніж у пацієнтів без метаболічних розладів в КТ. Статистично вірогідних відмінностей товщини остеїда у пацієнтів з ОП і у пацієнтів без метаболічних розладів в КТ не виявлено. Аналогічні зміни спостерігали відносно поверхні остеїда, тобто частини загального периметра губчастої КТ, вкритої остеїдом. Вона була статистично більшою ($p < 0,05$) у пацієнтів з ОМ. В свою чергу, поверхня остеобластів, тобто частина загального периметра губчастої КТ, вкритої активними остеобластами, суттєво не відрізнялася в усіх групах дослідження.

Привертає увагу те, що при ОП більша поверхня КТ вкрита лакунами резорбції, про що свідчила більша на 30,7 % ($p < 0,05$) площа ерозованої поверхні порівняно з пацієнтами з ОМ. У пацієнтів з ОМ та у хворих без метаболічних змін в КТ не спостерігали статистично вірогідних відмінностей в резорбції КТ (табл. 1).

Виявлені також відмінності функціональної активності клітин КТ: у пацієнтів без метаболічних порушень КТ переважали клітини з високою та проміжною функціональною активністю ядер. У пацієнтів з ОМ показники функціональної активності КТ були на рівні пацієнтів без метаболічних порушень у КТ. У пацієнтів з ОП зменшувалась кількість клітин з високою та проміжною функціональною активністю ядер на 18,8 % ($p < 0,05$) та 10,0 % ($p < 0,05$) відповідно порівняно з пацієнтами з ОМ, при цьому збільшувалась кількість клітин з низькою функціональною активністю ядер в 2,1 раза ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблиця 1. Морфометричні характеристики кісткової тканини у пацієнтів з остеопорозом та остеомаліцією (М ± m)

Показник	Пацієнти без метаболічних розладів кісткової тканини (n = 10)	Остеопороз (n = 31)	Остеомаліція (n = 15)
Товщина остеїда, мкм	13,80 ± 0,32	11,20 ± 0,22 ¹	24,30 ± 0,58 ^{1, 2}
Поверхня остеїда, %	16,30 ± 0,44	15,10 ± 0,45	27,10 ± 0,83 ^{1, 2}
Поверхня остеобластів, %	29,10 ± 0,89	28,70 ± 0,93	30,20 ± 0,91
Ерозована поверхня, %	15,70 ± 0,38	23,80 ± 0,48 ¹	16,50 ± 0,42 ²

Примітки: ¹ — $p < 0,05$ порівняно з пацієнтами без метаболічних порушень в кістковій тканині;
² — $p < 0,05$ порівняно з пацієнтами з остеопорозом.

Таблиця 2. Функціональна активність ядер клітин кісткової тканини у пацієнтів з остеопорозом та остеомаліцією (М ± m)

Наявність порушень	Функціональна активність ядер		
	Висока	Проміжна	Низька
Без метаболічних розладів кісткової тканини (n = 10)	41,1 ± 1,5	46,9 ± 1,7	12,00 ± 0,29
Остеопороз (n = 31)	34,2 ± 1,3 ^{1, 2}	41,9 ± 1,4 ^{1, 2}	23,90 ± 0,37 ^{1, 2}
Остеомаліція (n = 15)	42,1 ± 1,8	46,4 ± 1,5	11,50 ± 0,25

Примітки: ¹ — $p < 0,05$ порівняно з пацієнтами без метаболічних порушень в кістковій тканині;
² — $p < 0,05$ порівняно з пацієнтами з остеопорозом.

Рисунок 1. Хвора П., 53 років. Морфологічні ознаки остеопорозу відсутні. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$: 1 — канал остеона; 2 — лакуни з остеocyтами; 3 — спайні лінії; 4 — лакуна резорбції

Рисунок 2. Хвора З., 57 років. Морфологічні ознаки остеопорозу відсутні. Фібробласти. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$: 1 — фібробласти; 2 — кісткова трабекула

Рисунок 3. Хвора С., 66 років. Морфологічні ознаки остеопорозу, витончення трабекул, безклітинні ділянки кісткової тканини. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$: 1 — лакуна резорбції; 2 — безклітинні ділянки; 3 — витончення і мікропереломи трабекул

Рисунок 4. Хвора Л., 61 року. Морфологічні ознаки остеопорозу. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$: 1 — безклітинні ділянки кісткової тканини

Рисунок 5. Хвора С., 65 років. Морфологічні ознаки остеопорозу. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$: 1 — розширений канал остеона; 2 — безклітинні лакуни; 3 — зменшення оксифілії матриксу

Рисунок 6. Хвора Л., 63 років. Морфологічні ознаки остеопорозу і остеомалії. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$: 1 — розширений канал остеона; 2 — безклітинні лакуни

В результаті проведених морфологічних досліджень у пацієнтів без метаболічних розладів виявлено, що губчаста кістка представлена широкими анастомозуючими кістковими балками, які містять нечисленні вузькі судинні канали (рис. 1). У губчастій КТ чітко видно розташовані в лакунах зрілі кісткові клітини — остецити овальної або витягнутої форми, виявлені функціонально активні остеобласти (рис. 2). В окремих ділянках КТ помітні відростки остецитів. У кістковому матриксі чітко простежуються базофільні лінії склеювання, що розділяють кісткові пластинки. Кортикальний шар представлений компактною кісткою з рівномірно розташованими остеокитами, рівномірно оксифільним матриксом.

Губчаста кістка у пацієнтів з ОП суттєво відрізнялася від такої у хворих без метаболічних порушень. У постійних гістологічних препаратах кісток хворих на

ОП спостерігали витончення і зменшення кількості кісткових балок. В окремих ділянках руйнувалось з'єднання кісткових балок між собою, балки мали вигляд округло-овальних структур (рис. 3). Кількість остецитів зменшувалася, місцями вони розташовувалися нерівномірно по площі КТ. Спостерігалися осередки КТ з безклітинними лакунами та взагалі безклітинні ділянки (рис. 4, 5). Канали остеонів були розширені. Матрикс мав слабо оксифільне забарвлення, інтенсивність забарвлення була меншою порівняно з пацієнтами без метаболічних порушень. Базофільні лінії склеювання, на відміну від пацієнтів без метаболічних порушень, погано диференціювалися.

Щодо кортикального шару, то спостерігали ділянки витончення кортикального шару, в деяких випадках з ознаками декомпактизації. Матрикс мав меншу інтенсивність оксифілії, зменшувалась

Рисунок 7. Хвора О., 64 років. Морфологічні ознаки остеопорозу. Забарвлення гематоксилін-еозином, × 400: 1 — остеокласти

Рисунок 8. Хвора С., 61 року. Морфологічні ознаки остеопорозу. Забарвлення гематоксилін-еозином, × 400: 1 — розширений канал остеона; 2 — нашарування остеїда

Рисунок 9. Хвора Б., 60 років. Морфологічні ознаки остеопорозу. Забарвлення гематоксилін-еозином, × 200: 1 — розширений канал остеона; 2 — нашарування остеїда

Рисунок 10. Хвора О., 62 років. Морфологічні ознаки остеопорозу. Забарвлення гематоксилін-еозином, × 200: 1 — розширений канал остеона; 2 — нашарування остеїда

кількість остеоцитів, спостерігались лакуни без остеоцитів, меншою, ніж у пацієнтів без метаболічних порушень, була функціональна активність фібробластів і їх кількість.

На постійних гістологічних препаратах кісток хворих на ОП спостерігали лакуни резорбції КТ (рис. 3).

У пацієнтів з ОМ спостерігали схожі зміни в КТ хворих з ОП (рис. 6). У постійних гістологічних препаратах кісток хворих з ОМ спостерігали витончення і зменшення кількості кісткових балок, розширення каналів остеонів, ділянки витончення кортикального шару. Разом з тим порівняно більшою була оксифілія матриксу, а також меншою поверхня КТ, вкрита лакунами резорбції, ніж у пацієнтів з ОП, спостерігали поодинокі остеокласти (рис. 7).

Основною відмінністю КТ при ОМ порівняно з такою при ОП було збільшення товщини остеоїда (рис. 8, 9), спостерігали нашарування значних мас остеоїда на окремих кісткових балках. Функціональна активність і кількість остеобластів були співставні з показниками хворих без метаболічних порушень (рис. 10).

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено, що ступінь дисбалансу між синтезом матриксу і його мінералізацією визначається особливостями розвитку ОП і ОМ. При ОМ збільшується товщина остеоїда та поверхня КТ, покрита остеоїдом. Функціональна активність остеобластів і навіть резорбція КТ вірогідно не змінюються. Отже, зниження якісних характеристик (міцність) КТ відбувається за рахунок метаболічних порушень. При ОП товщина остеоїда зменшується, а площа поверхні, покрита остеоїдом, вірогідно не змінюється. Функціональна активність остеобластів знижена, резорбція прискорена. У результаті міцність КТ знижується і за допомогою метаболічних змін, і через порушення балансу на клітинному рівні при перебудові КТ.

Зниження МШКТ і виникнення низькоенергетичних переломів може бути результатом не тільки ОП, але й ОМ. При призначенні лікування необхідно провести диференційно-діагностичні заходи, що визначають причину зниження кісткової маси. Біопсія, необхідна для діагностики ОМ, є інвазивною маніпуляцією, потрібна розробка чітких критеріїв, що визначають її виконання у пацієнтів зі зниженням кісткової маси.

Висновки

Морфологічні зміни при ОП і ОМ мають спільні ознаки і відмінності. Спільним є витончення кісткових балок, розширення каналів остеонів, наявність безклітинних ділянок і безклітинних лакун. На відміну від ОП, при ОМ збільшується товщина і площа остеоїда, менш виражене зменшення оксифілії матриксу, спостерігається більш висока функціональна активність клітин КТ.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Список літератури

1. Davison K.S., Kendler D.L., Ammann P., Bauer D.C., Dempster D.W., Dian L., Hanley D.A., Harris S.T., McClung M.R., Olszynski W.P., Yuen C.K. Assessing fracture risk and effects of osteoporosis drugs: bone mineral density and beyond. *American J. Medicine*. 2009. 122(11). 992-997.
2. Поворознюк В.В., Григор'єва Н.В., Корж М.О. та ін. Епідеміологія переломів проксимального відділу стегнової кістки в Україні: результати двох ретроспективних досліджень. *Ортопедия, травматология и протезирование*. 2016. 4. 68-74. DOI: 10.15674/0030-59872016468-74.
3. Hooven F.H., Adachi J.D., Adami S., Boonen S., Compston J., Cooper C., Delmas P., Diez-Perez A., Gehlbach S., Greenspan S.L., LaCroix A., Lindsay R., Neltenbos J.C., Pfeilschifter J., Roux C., Saag K.G., Sambrook P., Silverman S., Siris E., Watts N.B., Anderson F.A. The Global Longitudinal Study of Osteoporosis in Women (GLOW): rationale and study design. *Osteoporos. Int*. 2009. 20(7). 1107-1116.
4. Kanis J., McCloskey E., Johansson H., Cooper C., Rizzoli R., Reginster J. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis International*. 2013. 24(1). 23-57. doi: 10.1007/s00198-012-2074-y.
5. Anumula S., Magland J., Wehrli S.L., Ong H., Song H.K., Wehrli F.W. Multi-modality study of the compositional and mechanical implications of hypomineralization in a rabbit model of osteomalacia. *Bone*. 2008. 2. 405-413.
6. Ascenzi M.-G., Hetzer N., Lomovtsev A., Rude R., Nattiv A., Favia A. Variation of trabecular architecture in proximal femur of postmenopausal women. *J. Biomechanics*. 2011. 44(2). 248-256.
7. Arya V., Jain V. Osteomalacia — what the rheumatologist needs to know. *Indian J. Rheumatology*. 2007. 2(1). 17-22.
8. Аврунин А.С. Остеопороз и остеомалиция — клинико-диагностические проблемы. *Травматология России*. 2014. 4. 67-76.
9. Boivin G., Bala Y., Doublier A., Farlay D., Ste-Marie L.G., Meunier P.J., Delmas P.D. The role of mineralization and organic matrix in the microhardness of bone tissue from controls and osteoporotic patients. *Bone*. 2008. 3. 532-538.
10. Demay M.B., Krane S.M. Disorders of calcification: osteomalacia and rickets. In: *Endocrinology: adult and pediatric*. Saunders. 2010. 70. 1311-1329.
11. Nazarian A., Arroyo F.J.A., Rosso C., Aran S., Snyder B.D. Tensile properties of rat femoral bone as functions of bone volume fraction, apparent density and volumetric bone mineral density. *J. Biomech*. 2011. 44(13). 2482-2488.
12. Whyte M.P., Thakker R.V. Rickets and osteomalacia. *Medicine*. 2009. 37(9). 483-488.
13. Пикалюк В.С., Кутя С.А., Шадура Д.В. Модификация методики гистологического исследования костной ткани. *Морфология*. 2010. 3. 72-76. Режим доступа до журналу: http://www.morphology.dp.ua/_pub/MORPHO-2010-04-03/10pvsikt.pdf
14. Parfitt A.M., Drezner M.K., Glorieux F.H. et al. Bone histomorphometry: standardisation of nomenclature, symbols and units. *J. Bone Min. Res*. 1987. 6. 595-610.

Отримано/Received 11.10.2021

Рецензовано/Revised 25.10.2021

Прийнято до друку/Accepted 29.10.2021 ■

Information about authors

O.M. Ignatiev, Honored Worker of Science and Technology of Ukraine, MD, PhD, Professor, Department of professional pathology and functional diagnosis, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine; e-mail: ignatyev2009@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7538-2854>

Mykola Turchyn, MD, PhD, Associate Professor at the Department of occupational pathology and functional diagnosis, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine; e-mail: trauma7777@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6421-6407>

Vadym Ulianov, MD, PhD, Professor at the Department of histology and medical biology, Volyn National University, Lutsk, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0002-8793-5137>

Tetyana Yermolenko, MD, PhD, Professor at the Department of obstetrics and gynecology, Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine; e-mail: ermolenkota@ukr.net; <https://orcid.org/0000-0002-2806-7376>

Conflicts of interests. Authors declare the absence of any conflicts of interests and their own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript.

O.M. Ignatiev, M.I. Turchyn, V.A. Ulianov, T.A. Yermolenko
Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Morphological and morphometric changes of bone tissue in patients with osteoporosis and osteomalation

Abstract. Bone tissue was studied in 56 postmenopausal women (mean age 62.30 ± 2.74 years), of which 46 patients who worked in unfavorable working conditions had a decreased bone mineral density (BMD) (osteoporosis (OP) — in 31 women, osteomalacia (OM) — in 13); 10 women had no metabolic changes in bone tissue (BT). A BT scan fragment was obtained during surgery for a fracture of the femoral neck. Non-decalcified QD sections were prepared, the functional activity of the QD cell nuclei was determined using the method of differential staining of nuclei with different functional activity. Morphological changes in OP and OM have both common features and differences. The common is the

thinning of the bone rods, the expansion of the canals of osteons, the presence of cell-free areas, and cell-free lacunae. In contrast to OP, OM presents with the thickness and area of the osteoid increase, a less pronounced decrease in oxyphyllin matrix, a higher functional activity of BT cells. A decrease in BMD and the occurrence of low-energy fractures may result not only from OP but also OM. When prescribing treatment, it is necessary to carry out differential diagnostic measures that determine the cause of the decrease in bone mass.

Keywords: postmenopause; osteoporosis; osteomalacia; morphometry; morphology