

## Дозозависимое влияние бетаметазона на суставной хрящ (экспериментальное исследование)

А.Н. Нуриахметов<sup>1,2</sup>, И.Ф. Ахтямов<sup>1,2</sup>, Д.Э. Цыплаков<sup>1</sup>, А.М. Абдуллах<sup>1</sup>, Т.Ю. Нуриахметова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань, Россия

<sup>2</sup>Государственное автономное учреждение здравоохранения

«Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан», г. Казань, Россия

## Dose-dependent effect of betamethasone on the articular cartilage (experimental study)

A.N. Nuriakhmetov<sup>1,2</sup>, I.F. Akhtiamov<sup>1,2</sup>, D.E. Tsyplakov<sup>1</sup>, A.M. Abdullah<sup>1</sup>, T.Yu. Nuriakhmetova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

<sup>2</sup>Republican Clinical Hospital, Kazan, Russian Federation

**Введение.** Инъекции глюкокортикостероидов широко применяются в клинической практике. Одним из представителей данной группы является бетаметазон. Его эффективность при внутрисуставном введении неоспорима. Существуют особые указания о дозировке и частоте применения препарата. К сожалению, распространена практика введения глюкокортикостероидов с нарушением рекомендаций производителя и в сочетании с анестетиками. Вместе с тем бытует мнение о неблагоприятном влиянии на хрящевую ткань как непосредственно раствора бетаметазона, так и при его использовании в указанной комбинации. **Цель.** Оценить влияние еженедельного внутрисуставного введения бетаметазона на основе гистологического исследования препаратов коленных суставов. **Материалы и методы.** Проведены морфологические исследования препаратов правых коленных суставов трёх основных групп кроликов: с одно-, трёх- и шестикратным еженедельным введением бетаметазона и группы сравнения (интактные левые коленные суставы). **Результаты.** Гистологические препараты группы сравнения и основной группы с однократным введением препарата не имели каких-либо изменений в строении диартрозов. В суставах животных, которым были осуществлены трёхкратные еженедельные внутрисуставные инъекции бетаметазона, наблюдались дистрофические и некротические изменения, затрагивающие все изучавшиеся морфологические компоненты (в сравнении с группой с однократным введением площадь явлений дистрофии и некроза хрящевой ткани была больше на  $10,05 \pm 0,75\%$  ( $p < 0,05$ ), субхондральной кости – на  $8,11 \pm 0,5\%$  ( $p < 0,001$ ), синовиальной оболочки – на  $6,25 \pm 0,32\%$  ( $p < 0,05$ )). В группе с шестикратным введением препарата отмечались ещё более выраженные изменения. Площадь некротических изменений хряща оказалась на  $6,39 \pm 0,75\%$  больше, чем в группе с трёхкратным введением ( $p < 0,001$ ), субхондральной кости – на  $11,18 \pm 0,5\%$  ( $p < 0,001$ ), синовиальной оболочки – на  $6,12 \pm 0,32\%$  ( $p < 0,001$ ). **Заключение.** Воспалительная клеточная инфильтрация структур сустава во всех наблюдениях отсутствовала, что свидетельствует об асептической природе некроза тканей. Получены свидетельства связи между увеличением частоты внутрисуставных инъекций бетаметазона и выраженностью дистрофических и некротических изменений морфологических компонентов сустава.

**Ключевые слова:** глюкокортикостероиды, бетаметазон, внутрисуставное введение

**Introduction** Glucocorticosteroid injections have been widely used in clinical practice. Betamethasone is one of the agents of this group of drugs. Its efficacy and therapeutic effect with intra-articular administration are undeniable. There are special instructions on the dosage and frequency of use of the drug but unfortunately there are cases of its wrong administration. There is also an evidence of an adverse effect on cartilage both of the drug itself and its combination with local anesthetics. **Aim** Evaluation of the results of different weekly intra-articular protocols of betamethasone administration on histological preparations of rabbit knee joints. **Methods** Histological preparations of the right knee joints of three groups of rabbits were studied: after one, three, and six administrations of betamethasone per week and the control intact left knee joints. **Results** Histological preparations of the control group and the group with a single weekly administration of the drug did not have any changes in the structure of diarthrosis. Dystrophic and necrotic changes affecting all morphological components were observed in the joints of animals that received intra-articular injections of betamethasone three times a week (compared to a single injection, the area of dystrophy and necrosis of the cartilage was greater by  $10.05 \pm 0.75\%$  ( $p < 0.05$ ), of subchondral bone by  $8.11 \pm 0.5\%$  ( $p < 0.001$ ), and of synovium by  $6.25 \pm 0.32\%$  ( $p < 0.05$ ). The group with six injections of the drug per week had the most pronounced changes. The area of necrotic changes of the cartilage was greater by  $6.39 \pm 0.75\%$  than in the group with three injections per week ( $p < 0.001$ ), of subchondral bone by  $11.18 \pm 0.5\%$  ( $p < 0.001$ ), of synovium by  $6.12 \pm 0.32\%$  ( $p < 0.001$ ). **Discussion** Inflammatory cell infiltration of joint structures was absent in all cases. It indicates an aseptic nature of tissue necrosis. Evidence has been obtained between the increase in the frequency of intra-articular injections of betamethasone and the severity of dystrophic and necrotic changes in all morphological components of the joint.

**Keywords:** glucocorticosteroids, betamethasone, intra-articular injection

Внутрисуставные инъекции лекарственных препаратов играют важную роль в комплексном лечении пациентов с патологией суставов. Применение данного метода способствует стабилизации стадии остеоартроза (ОА) и оказывает положительное воздействие на состояние суставных компонентов. Использование глюкокортикостероидов для внутрисуставного введения снижает болевой синдром и вторичное воспаление у пациентов с ОА, ревматоидным артритом и другими артропатиями. Метод широко распространен в травматологии и ортопедии, ревматологии, неврологии. Одним из лекарственных препаратов, используемых в интраартикулярной терапии, является двухкомпонентный синтетический

глюкокортикостероид бетаметазон. Данный препарат обладает противовоспалительным, противоревматическим, иммунодепрессивным и антиаллергическими свойствами. Препарат представляет собой комбинацию двух солей бетаметазона – бетаметазон натрия фосфат (БНФ), обеспечивающий быстрый терапевтический эффект (в течение 2–4 ч после введения) за счет растворимости в воде, и бетаметазон дипропионат (БДП), который обуславливает пролонгированное действие (4 и более недель). Бетаметазон обладает определенными трибологическими свойствами, оказывая смазывающее действие на суставные поверхности после смешивания с синовиальной жидкостью. Стоит отметить, что бета-

Дозозависимое влияние бетаметазона на суставной хрящ (экспериментальное исследование) / А.Н. Нуриахметов, И.Ф. Ахтямов, Д.Э. Цыплаков, А.М. Абдуллах, Т.Ю. Нуриахметова // Гений ортопедии. 2021. Т. 27, № 1. С. 80–86. DOI 10.18019/1028-4427-2021-27-1-80-86

Nuriakhmetov A.N., Akhtiamov I.F., Tsyplakov D.E., Abdullah A.M., Nuriakhmetova T.Yu. Dose-dependent effect of betamethasone on the articular cartilage (experimental study). *Genij Ortopedii*, 2021, vol. 27, no 1, pp. 80–86. DOI 10.18019/1028-4427-2021-27-1-80-86

метазон обладает высоким индексом противовоспалительной активности (равен 30) и отличается мелкокристаллической структурой (размером 5,3 мкм), которая обеспечивает оптимальный профиль безопасности. Бетаметазон рекомендован при таких заболеваниях костно-мышечной системы как ОА, ревматоидный артрит, бурсит, эпикондилит, фасциит, заболевания стоп и др.

Вместе с тем имеются сведения о цитотоксическом эффекте на хрящевую ткань при использовании ГКС в комбинации с местными анестетиками [1]. J.L. Drago et al. [2] выявили значительное снижение жизнеспособности хондроцитов на 9 и 14-й день после однократного введения 1 мг БНФ бетаметазона ацетата (БА), несмотря на культивирование хондроцитов с применением постоянной инфузионной помпы для создания эффекта метаболизма внутрисуставной жидкости.

В недавнем исследовании М.А. Кабалык и соавт. [3] провели сравнительную оценку влияния раствора бетаметазона из расчёта 0,1 мг/кг на фоне экспериментально моделированного повреждения хряща и описали негативные изменения структур сустава в виде истончения суставного хряща, нарушения клеточной иерархии и фенотипа хондроцитов, истончения собственной пластинки субхондральной кости. Однако при этом бетаметазон несколько сдерживал деградацию суставно-

го хряща по сравнению с контролем, очевидно за счёт более быстрого изменения синтетической активности хондроцитов. Наблюдалось снижение патологического ангиогенеза за счёт ингибирования эндотелиального фактора роста эндотелия сосудов.

D. Davis et al. [4] исследовали хондроциты после 30-минутного воздействия растворов 0,2, 0,6, 1, 3 и 6 мг/мл БНФ и БА без бензалкония хлорида (консерванта, используемого в клинических комбинированных препаратах бетаметазона) и не выявили значительной клеточной гибели во всех группах даже на 7-й день наблюдения. При этом авторы обнаружили выраженную клеточную смерть хондроцитов при воздействии минимальной дозировки бензалкония хлорида (0,01 мг/мл), что, возможно, объясняет сильный разброс результатов исследований *in vivo*.

Существующие особые рекомендации к применению бетаметазона и возможность побочных эффектов послужили причиной изучения в эксперименте вопроса влияния на суставные элементы в случаях его частого применения.

**Цель исследования:** оценить влияние кратного еженедельного внутрисуставного введения бетаметазона на основе гистологического исследования препаратов хрящевой ткани коленных суставов в эксперименте.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пятнадцать взрослых кроликов породы Серый Веллан, самцы и самки, весом 2950–3300 г (в среднем 3200 г) были разделены на три основные группы по 5 животных в каждой. Первой группе была проведена однократная инъекция бетаметазона в правый коленный сустав. Животным второй группы было осуществлено трёхкратное еженедельное интраартикулярное введение препарата, а третьей – шестикратное. Левые коленные суставы всех животных были интактны и использовались в качестве контроля в группе сравнения.

Животные содержались в клетках, адекватных для вида, и питались экологически чистыми продуктами. Исследование соответствует международным и национальным нормативным актам обращения с лабораторными животными.

Для эксперимента использовались одноразовые перчатки, иглы и шприцы 1 мл с разметкой с шагом 0,1 мл. После предварительного бритья кожный покров правого коленного сустава кролика обрабатывался 70 % спиртовым раствором хлоргексидина. Затем проводилась внутрисуставная инъекция. Дозировка лекарственного препарата для введения кроликам была пропорциональна (1/20) используемой для внутрисуставного введения в коленные суставы человека со средним весом 65 кг. Каждый флакон препарата, содержащий 1 мл раствора, состоящий из бетаметазона дипропионата и бетаметазона динатрий фосфата, был разведен в 9 мл 0,9 % физиологического раствора. Из полученного раствора 0,5 мл (0,25 мг дипропионата и 0,1 мг фосфата) использовались для введения, что соответствует 1/20 дозы, используемой для внутрисуставных инъекций в коленные суставы человека. Инъекции проводились еженедельно, согласно схеме, назначенной каждой группе исследования.

Всем кроликам была произведена эвтаназия через 7 дней с момента последнего введения препарата в соответствующей группе. Для эвтаназии животных сначала анестезировали 100 мг/кг кетамина и 8 мг/кг ксилазина

внутримышечно, а затем выполнялась внутрисердечная инъекция 10 мл 19,1 % раствора хлорида калия.

Изготовление гистологических препаратов проводили по методике, разработанной для костной ткани [5, 6]. Для этого осуществлялась фиксация материала в 10 % нейтральном формалине, затем следовала промывка в проточной водопроводной воде в течение 24 часов и декальцинация в смеси из 100 мл 90 % муравьиной кислоты, 80 мл 40 % соляной кислоты и 820 мл водопроводной воды. Жидкость меняли каждые 48 часов. Декальцинация продолжалась в среднем 10–15 дней. После промывки в течение 24 часов в водопроводной воде материал обезвоживали в батарее спиртов возрастающей концентрации 70 % (3 порции), 96 % (две порции), 100 % (одна порция), где выдерживали 1 сутки в каждой порции.

Обезвоженные образцы последовательно помещали в раствор спирта и хлороформа 1:1 (3–5 часов), две порции хлороформа (по 1 часу) и помещали в термостат при 37 °С в смесь хлороформа и парафина 1:1 (2–3 часа). Затем в термостате при 56 °С материал пропитывался в двух порциях парафина (1 час в первой и 24 часа во второй).

По окончании проводки осуществлялась заливка в парафин, охлаждение и изготовление срезов толщиной 7–10 мкм на микротоме «Leica SM 2000R». Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по ван Гизону.

Микроскопическое изучение гистологических препаратов проводилось опытным гистологом с использованием микроскопа «Axioscop-Zeiss AG». Для определения площадей структурных компонентов сустава применяли морфометрическую сетку случайного шага С.Б. Стефанова [7]. Сетку накладывали непосредственно на микропрепарат и под малым увеличением (окуляр ×7, объектив – ×10) подсчитывали количество ее пересечений, приходящихся на каждую из изучаемых структур: субхондральной кости, хряща, синовиальной оболочки и суставной полости. Положение сетки на гистологическом срезе

несколько раз произвольно меняли, каждый раз повторяя подсчет. Полученное в результате подсчета общее число пересечений сетки, приходящихся на весь срез, принимали за 100 %. Затем в проценты соответственно пере-

водили количество пересечений сетки, приходящихся отдельно на каждую из изучаемых структур. Полученные данные были обработаны статистически с вычислением критерия Стьюдента и величины  $p$  [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При микроскопическом исследовании гистологических препаратов интактных левых коленных суставов животных (группа сравнения) отсутствовали какие-либо изменения морфологических компонентов сустава, что говорит о нормальном гистологическом строении. В норме суставной хрящ относится к категории гиалинового и состоит из трех слоев: поверхностного (тангенциальная зона), промежуточного (промежуточная зона) и глубокого (радиальная зона). Кровеносные и лимфатические сосуды в хрящевой выстилке сустава отсутствуют. Поверхность суставного хряща ровная, гладкая, без каких-либо выпуклостей или неровностей. Тангенциальная зона представлена бесклеточной пластинкой и уплощенными хондроцитами. В промежуточной зоне расположены округлые хондроциты и изогенные группы хондроцитов. Радиальная зона составлена из тяжелой хондроцитов, слоя гипертрофированных (дистрофически измененных) хондроцитов и пограничной линии (участок минерализации). Ниже, непосредственно перед костью, расположен кальцифицированный гиалиновый хрящ (рис. 1, А).

Субхондральная кость – преимущественно компактная с участками губчатого строения (рис. 1, И).

Суставная капсула (сумка) состоит из двух слоев – наружного (фиброзного, волокнистого), связанного с надкостницей (рис. 1, В), и внутреннего (синовиальная оболочка). Последняя состоит из синовиальной интимы (плоские синовиальные клетки – синовиоциты) и субинтимального фиброваскулярного слоя с большим количеством кровеносных сосудов и включений жировой ткани (рис. 1, Г). Поверхность синовиальной оболочки гладкая с наличием отростков (ворсин) (рис. 1, Д). В месте соединения с хрящевой выстилкой (переходная зона) синовиальные клетки постепенно заменяются хондроцитами. Доля площади изученных структур от общей площади гистологического среза представлена в таблице 1.

В группе кроликов с однократным введением бетаметазона существенных изменений в коленном су-

ставе также не наблюдалось. Сохранялось нормальное строение суставной капсулы с неизменным наружным фиброзным слоем и внутренним, представленным синовиальной оболочкой. Поверхность синовиальной оболочки была гладкая, с наличием ворсин, и выстлана плоскими синовиоцитами (рис. 1, Е). На соответствующих участках суставной капсулы в ней определялись три морфологических типа – фиброзный, ареолярный и жировой (рис. 1, Ж, З, И). Явления дистрофии и некроза наблюдались на  $1,56 \pm 0,32$  % от общей площади гистологического среза ( $p < 0,05$ ). Субхондральная кость во всех наблюдениях была практически интактной ( $1,14 \pm 0,75$  %,  $p < 0,001$ ).

В группе животных с трёхкратным введением препарата имелись изменения, захватывающие все структурные компоненты сустава. Нормальное гистологическое строение определялось лишь на отдельных участках (рис. 2, А). В большинстве случаев суставная поверхность хряща имела неровную выстилку с наличием дефектов, образованных за счет очагов некроза и деструкции, которые иногда чередовались с участками пролиферации хрящевой ткани. В сравнении с группой с однократным введением площадь явлений дистрофии и некроза была больше на  $10,05 \pm 0,75$  % ( $p < 0,05$ ). Зачастую при наличии значительного поражения хряща в процесс вовлекалась субхондральная кость (рис. 2, Б). При этом в подлежащей кости имелись очаги некроза, деструкции и лизиса костных trabeculae (рис. 2, В, Г). В сравнении с предыдущей группой площадь явлений дистрофии и некроза субхондральной кости была больше на  $8,11 \pm 0,5$  % ( $p < 0,001$ ).

Синовиальная оболочка была утолщена и отека. Отмечалось выраженное полнокровие ее сосудов и периваскулярный отек (рис. 2, Д). В некоторых случаях определялись очаги деструкции синовиальной оболочки (рис. 2, Е) с площадью на  $6,25 \pm 0,32$  % больше, чем при однократном введении ( $p < 0,05$ ).

Таблица 1

Площади структурных компонентов интактных коленных суставов и суставов после введения бетаметазона (дипроспана) (в % от общей площади гистологического среза,  $M \pm m$  (95 % ДИ))

|                                         | Неизменная субхондральная кость                   | Субхондральная кость с явлениями дистрофии и некроза | Неизменный суставной хрящ                         | Суставной хрящ с явлениями дистрофии и некроза | Неизменная синовиальная оболочка                 | Синовиальная оболочка с явлениями дистрофии и некроза | Суставная полость                              |
|-----------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Контроль (интактные суставы)            | $39,86 \pm 0,09$                                  | 0                                                    | $29,96 \pm 0,13$                                  | 0                                              | $20,14 \pm 0,21$                                 | 0                                                     | $10,05 \pm 0,02$                               |
| После 1-кратного введения дипроспана    | $39,34 \pm 0,25^{**}$<br>(95 % ДИ -0,78; -0,24)   | 0                                                    | $29,33 \pm 0,08^{***}$<br>(95 % ДИ -0,78; -0,47)  | $1,14 \pm 0,19^{***}$<br>(95 % ДИ 0,94; 1,33)  | $19,12 \pm 0,25^{***}$<br>(95 % ДИ -1,36; -0,68) | $1,56 \pm 0,24^{**}$<br>(95 % ДИ 1,31; 1,81)          | $9,50 \pm 0,26^{**}$<br>(95 % ДИ -0,81; -0,28) |
| После 3-х кратного введения дипроспана  | $27,98 \pm 3,70^{***}$<br>(95 % ДИ -15,19; -7,55) | $8,11 \pm 0,47^{***}$<br>(95 % ДИ 7,63; 8,59)        | $21,78 \pm 0,75^{**}$<br>(95 % ДИ -8,33; -6,77)   | $10,05 \pm 1,71^{**}$<br>(95 % ДИ 7,15; 10,69) | $14,62 \pm 1,39^{**}$<br>(95 % ДИ -5,96; -3,04)  | $7,81 \pm 0,61^{**}$<br>(95 % ДИ 5,57; 6,93)          | $9,65 \pm 1,24$<br>(95 % ДИ -1,16; 1,46)       |
| После 6-ти кратного введения дипроспана | $21,27 \pm 1,38^{**}$<br>(95 % ДИ -10,78; -2,64)  | $19,29 \pm 1,50^{***}$<br>(95 % ДИ 9,56; 12,80)      | $8,17 \pm 0,58^{***}$<br>(95 % ДИ -14,59; -12,63) | $16,44 \pm 1,61^{***}$<br>(95 % ДИ 3,97; 8,81) | $7,87 \pm 0,40^{***}$<br>(95 % ДИ -8,24; -5,25)  | $13,93 \pm 0,75^{***}$<br>(95 % ДИ 5,12; 7,12)        | $13,02 \pm 3,1$<br>(95 % ДИ -0,09; 6,82)       |

Примечание: 95 % ДИ – 95 % доверительный интервал для разности, величина  $p$  и 95 % доверительный интервал указаны для сравнения с предыдущей группой (с меньшим количеством инъекций); \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$ .

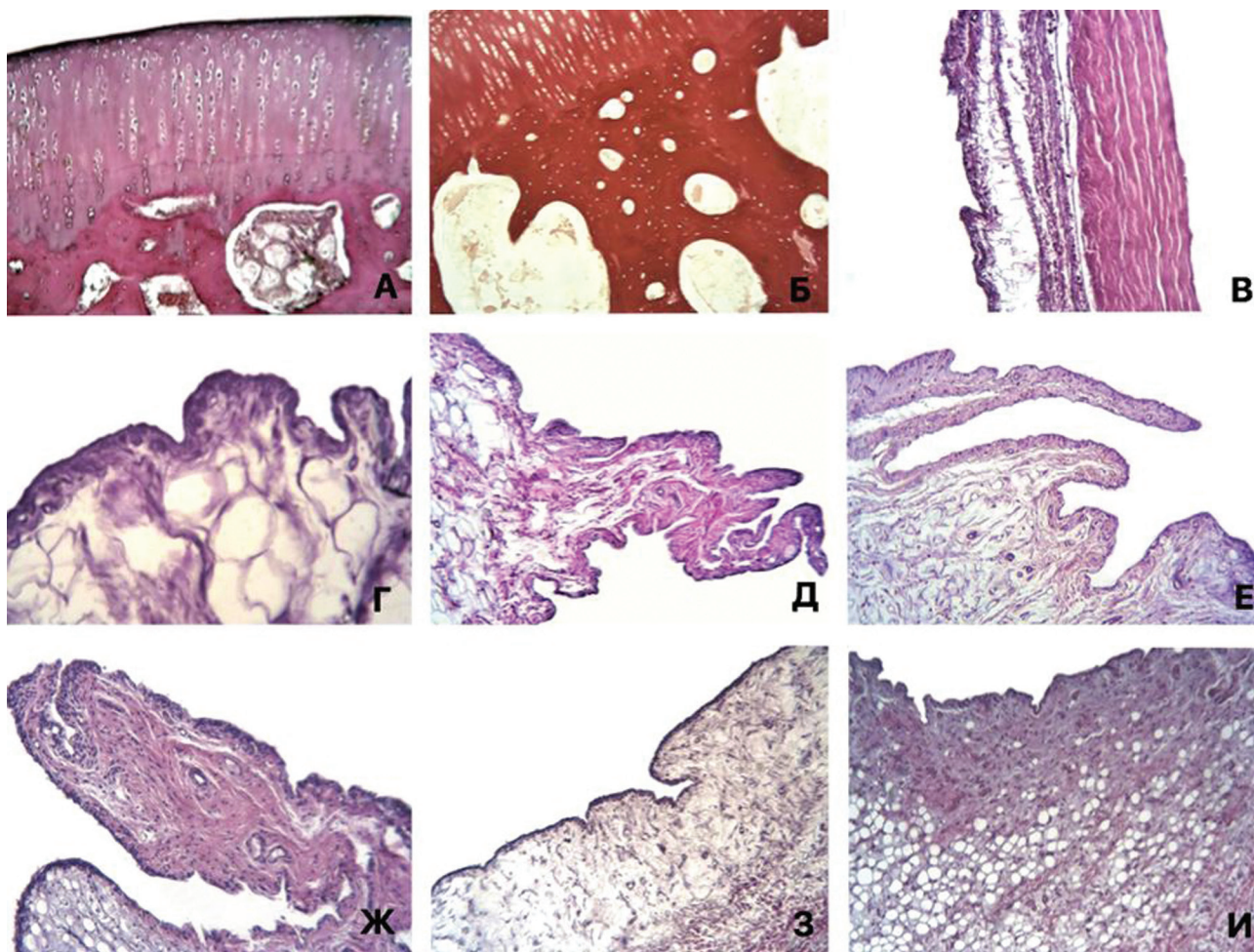


Рис. 1. Гистологическая структура сустава при однократном введении бетаметазона: А – нормальная гистологическая структура суставного хряща; Б – субхондральная компактная кость сустава с участками губчатого строения; В – наружный фибро-волокнистый слой суставной капсулы; Г – неизменная синовиальная оболочка; Д – ворсины синовиальной оболочки; Е – нормальная гистологическая структура синовиальной оболочки и ее ворсин; Ж – синовиальная оболочка фиброзного типа; З – синовиальная оболочка ареолярного типа; И – синовиальная оболочка жирового типа; А, В, Д, Е, Ж, З, И – окраска гематоксилином и эозином  $\times 200$ ; Б – окраска по ван Гизону,  $\times 200$ ; Г – окраска гематоксилином и эозином  $\times 400$

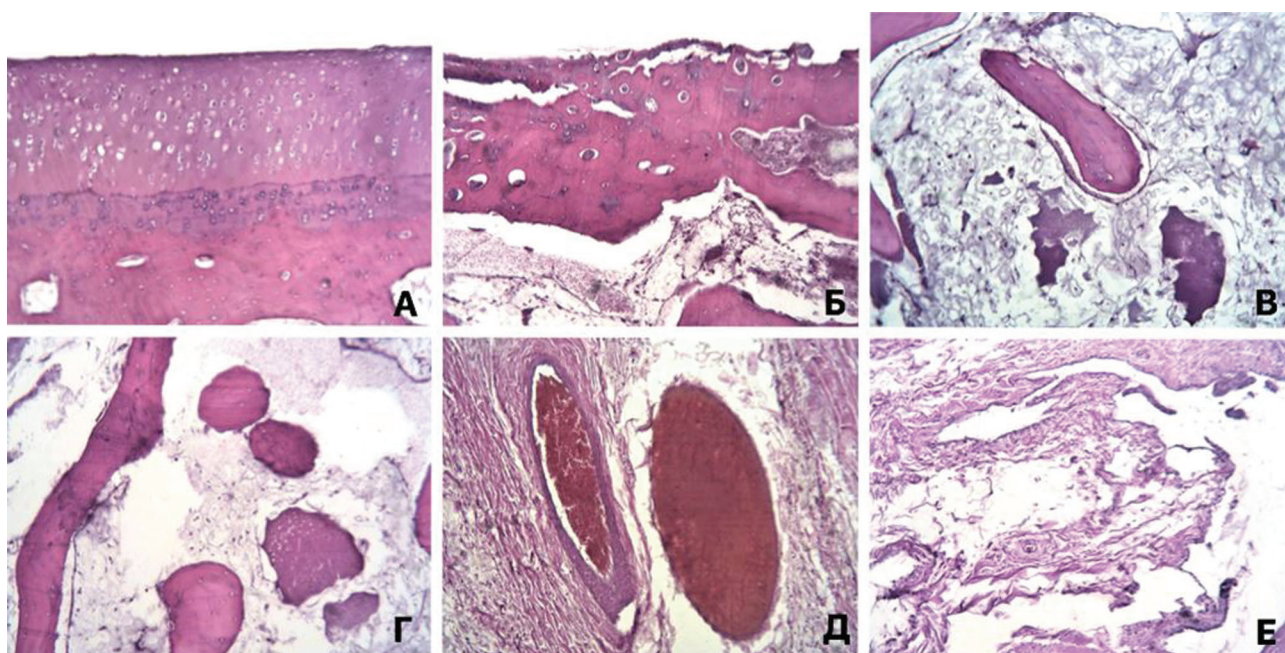


Рис. 2. Изменения в структурных компонентах сустава при трёхкратном введении бетаметазона: А – сохранение нормальной гистологической структуры на отдельном участке сустава; Б – деструкция суставного хряща с вовлечением субхондральной кости; В, Г – некроз, деструкция и лизис костных трабекул субхондральной кости; Д – полнокровные сосуды и периваскулярный отек синовиальной оболочки; Е – очаг деструкции синовиальной оболочки. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$

Важно отметить, что у второй группы ни в одном случае не выявлялось какой-либо воспалительной клеточной инфильтрации структур сустава, что свидетельствует об асептической природе некротических изменений.

Морфологические изменения в третьей группе с шестикратным введением бетаметазона носили более выраженный характер. Наблюдались структурные изменения каждого из слоев. Неизменными оставались только единичные структуры коленных суставов (рис. 3, А).

Суставной хрящ во всех случаях был подвержен некрозу, его слои при этом не определялись (рис. 3, Б). Площадь некротических изменений оказалась на  $6,39 \pm 0,75$  % больше, чем в группе с трехкратным введением ( $p < 0,001$ ). Имелись участки деструкции

разной степени выраженности (рис. 3, В), часто с глубоким проникновением в подлежащую кость. В последней при этом обнаруживались обширные некротические участки с деструкцией и лизисом костной ткани (рис. 3, Г) – на  $11,18 \pm 0,5$  % больше, чем в предыдущей группе ( $p < 0,001$ ).

Синовиальная оболочка не только содержала отдельные участки деструкции, но и была подвержена некрозу, захватывающему целые ворсины (рис. 3, Д) – на  $6,12 \pm 0,32$  % большая площадь, чем при трехкратном введении ( $p < 0,001$ ).

В то же время, как и во второй группе, отсутствовала воспалительная клеточная инфильтрация структурных компонентов сустава.

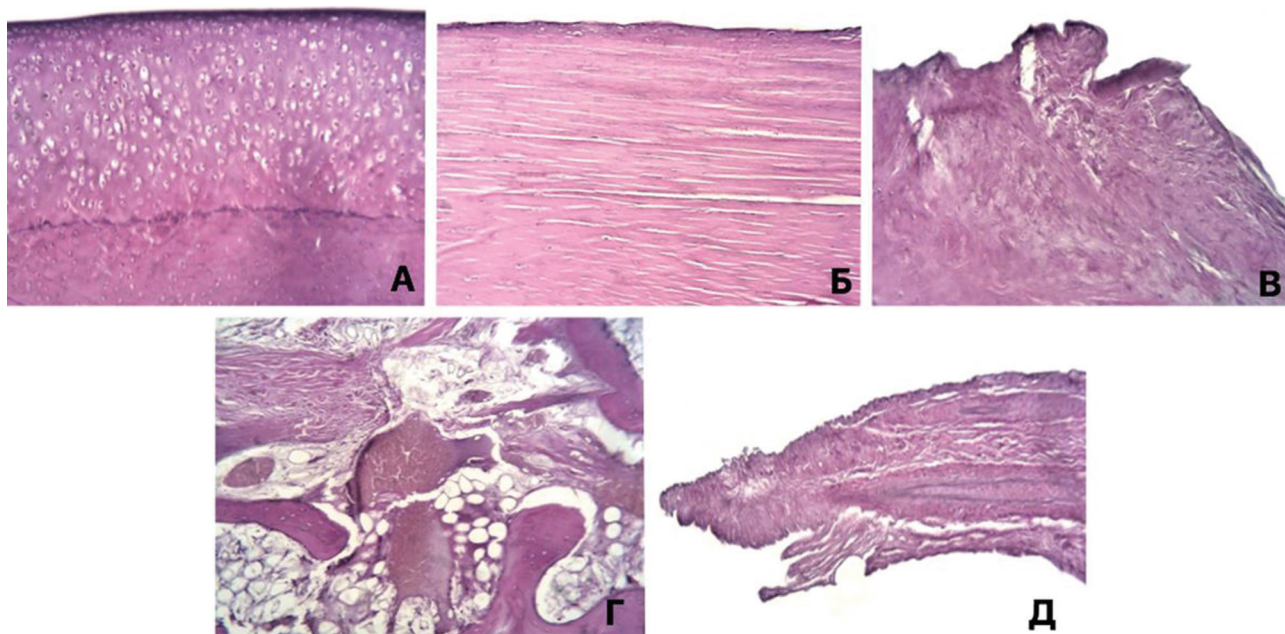


Рис. 3. Морфологические изменения сустава при шестикратном введении бетаметазона: А – неизменный отдельный фрагмент сустава. Структурные изменения каждого из слоев с сохранением гистологической структуры лишь на единичных участках; Б – тотальный некроз суставного хряща; В – деструкция поверхности некротически измененного суставного хряща; Г – обширный некротический участок субхондральной кости с деструкцией и лизисом костных трабекул; Д – некроз ворсины синовиальной оболочки. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 200$

## ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании выявлена прямая корреляция между числом еженедельных интраартикулярных введений препарата и выраженностью разрушения суставных структур. Есть основания полагать, что многократные внутрисуставные инъекции бетаметазона с коротким интервалом между ними приводят к дистрофическим и некротическим изменениям всех морфологических компонентов сустава с их последующей деструкцией. Вместе с тем, отсутствие воспалительной клеточной инфильтрации подтверждает, что некроз тканей носит асептический характер.

В ранее проведенных *in vivo* исследованиях был продемонстрирован дозозависимый эффект ГКС на суставной хрящ. Так, А.М. Lutfi et al. [8] в 1978 году выявили прогрессирующее повреждение суставного хряща на 10 и 20-й неделе после 10 внутрисуставных инъекций комбинированного препарата бетаметазона (3 мг БНФ и 3 мг БА с 0,2 мг бензалкония) на протяжении 20 недель. М.В. Albano et al. [9] продемонстрировали дозозависимое снижение концентрации протеогликанов суставного хряща в результате многочисленных инъекций бетаметазона

(6 и 8 инъекций с суммарной дозой препарата  $> 2,1$  мг). В целом, в большинстве публикаций при низкой дозировке ( $< 2,1$  мг) бетаметазон не вызывал значительного повреждения хряща или клеточной смерти, а при более высоких дозировках ( $> 2,1$  мг) наблюдались хондротоксичность, потеря хрящевых белков и прогрессирующее повреждение. Однако имеются и свидетельства негативного влияния на жизнеспособность хондроцитов даже однократного введения 1 мг бетаметазона [2].

В нашем исследовании доза бетаметазона в пропорционально разведенном физиологическом растворе при однократном введении составила 0,35 мг (0,25 мг дипропионата и 0,1 мг фосфата), следовательно, только дозы бетаметазона более 1 мг привели к негативным последствиям в отношении структуры суставного хряща и синовиальной оболочки.

Ограничением нашего исследования являлось то, что у нас не было контрольной группы сравнения с иницированным ОА. Согласно исследованиям, влияние ГКС на здоровый сустав и сустав, пораженный ОА, различаются. Последствия применения ГКС для струк-

туры суставного хряща зависят от основного заболевания и фенотипических особенностей хондроцитов. ОА сопровождается фенотипическим переключением хондроцитов вследствие активации сигнальных путей, индуцированных механическим стрессом и воспалением. Под их воздействием хондроциты приобретают фенотип гипертрофированных клеток ростовой пластинки с возобновлением пролиферации и гипертрофической дифференцировкой. При этом наблюдается стимуляция деградации и синтеза матрикса под влиянием различных воспалительных медиаторов, что сопровождается преобладанием катаболических процессов, приводящих к потере матрикса [10, 11].

Кроме того, такое фенотипическое переключение хондроцитов и связанная с ним дегенерация хряща дополнительно стимулируются вторичными воспалительными процессами в синовиальной оболочке и субхондральной кости, что также вносит свой вклад в прогрессирование ОА [12–15].

Исследования *in vitro* подтверждают, что основные фармакологические эффекты кортикостероидов на гомеостаз хрящевого матрикса могут быть классифицированы как антианаболические и антикатаболические, причем антикатаболические эффекты проявляются при более низких концентрациях, чем те, которые влияют на синтез матрикса [16]. В здоровом хряще скорость обновления матрикса низкая, и катаболические процессы не активированы, несмотря на то, что они играют роль в нормальном ремоделировании хряща. Исследования *in vivo* на животных при отсутствии вос-

паления или нестабильности суставов показывают, что в нормальном процессе ремоделирования преобладают антианаболические эффекты кортикостероидов, такие как подавление синтеза коллагена II, что ведёт к прогрессирующей дегенерации матрикса, которая зависит от дозы и продолжительности [8, 9, 17–22].

В контексте ОА кортикостероиды подавляют дегенерацию матрикса путем прямого ингибирования усиленных катаболических процессов (таких как повышенная экспрессия матриксной металлопротеиназы) и косвенно через множественные противовоспалительные эффекты, препятствующие фенотипическим изменениям хондроцитов, вызванным воспалением [16]. Существуют исследования, проведенные на моделях ОА у различных видов животных и подтверждающие хондропротективное действие кортикостероидов в контексте ОА как следствие уменьшения структурного повреждения сустава с восстановлением биосинтеза матрикса и снижением потерь протеогликана [23–28].

Таким образом, влияние кортикостероидов на целостность хрящевого матрикса зависит от контекста: хондропротективные эффекты наблюдаются в воспалительной среде ОА, где хондроциты подверглись опосредованному воспалением фенотипическому изменению, а ремоделирование матрикса усилено и смещено в сторону деградации. В нормальном здоровом хряще, где ремоделирование матрикса сбалансировано и присутствует стандартный фенотип хондроцитов, антианаболические эффекты кортикостероидов могут приводить к хондротоксичности [29].

## ВЫВОДЫ

Однократное внутрисуставное введение дипроспана существенно не нарушает морфологическую структуру коленного сустава. Трехкратное введение препарата приводит к дистрофическим и некротическим изменениям всех структурных компонентов сустава ( $p < 0,05$ ), которые значительно усугубляются при шестикратном введении и приводят к его выраженной деструкции ( $p < 0,001$ ). Некроз носит асептический характер, поскольку воспалительная клеточная инфильтрация во всех наблюдениях отсутствует.

Применение препарата бетаметазона является эффективным и безопасным в случае точного расчета терапевтической дозы и соблюдения частоты и длитель-

ности лечения: период лечения должен быть как можно короче при умеренной частоте введения. Вопрос о том, какое количество препарата и как часто можно вводить в суставы различного размера, остается актуальным и по сей день. Существуют некоторые общие рекомендации, касающиеся соотношения между размером сустава и количеством вводимого препарата, однако они требуют дальнейшего изучения в крупных рандомизированных исследованиях.

Исходя из результатов нашего исследования, не рекомендуется интраартикулярное введение бетаметазона с коротким (менее 2–3 недель) промежутком времени между инъекциями.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Increased chondrocyte death after steroid and local anesthetic combination / B. Farkas, K. Kvell, T. Czömpöly, T. Illés, T. Bárdos // Clin. Orthop. Relat. Res. 2010. Vol. 468, No 11. P. 3112–3120. DOI: 10.1007/s11999-010-1443-0
2. The chondrotoxicity of single-dose corticosteroids / J.L. Drago, C.M. Dania, H.J. Kim // Knee Surg. Sports Traumatol. Arthrosc. 2012. Vol. 20, No 9. P. 1809–1814. DOI: 10.1007/s00167-011-1820-6
3. Молекулярные и клеточные эффекты внутрисуставного введения бетаметазона при экспериментальном остеоартрите / М.А. Кабалык, В.А. Невзорова, В.С. Дубов, М.А. Цыганков, Т.С. Коваленко // Гений ортопедии. 2020. Т. 26, № 1. С. 65–71. DOI 10.18019/1028-4427-2020-26-1-65-71
4. In vitro cytotoxic effects of benzalkonium chloride in corticosteroid injection suspension / D. Davis, M. Cyriac, D. Ge, Z. You, F.H. Savoie // J. Bone Joint Surg. Am. 2010. Vol. 92, No 1. P. 129–137. DOI: 10.2106/JBJS.H.01561
5. Коржевский Д.Э. Краткое изложение основ гистологической техники для врачей и лаборантов-гистологов. СПб. : Крофт, 2005. 48 с.
6. Пахт А.В., Манисер Н.М. Особенности обработки костной ткани // Библиотека патологоанатома. 2008. Вып. 89: Избранные вопросы патологоанатомической техники. С. 6–11.
7. Стефанов С.Б. Морфометрическая сетка случайного шага как средство ускоренного измерения элементов морфогенеза // Цитология. 1974. Т. 16, № 6. С. 785–787.
8. Lutfi A.M., Kosel K. Effects of intra-articularly administered corticosteroids and salicylates on the surface structure of articular cartilage // J. Anat. 1978. Vol. 127, pt. 2. P. 393–402.
9. Computerized photocolometric analysis of the effects of intraarticular betamethasone on the proteoglycan concentration of leporine knee cartilage matrix: influence of the number of intraarticular injections / M.B. Albano, G.P. Skroch, S.O. Ioshii, X.S. Grahels, P.G. de Alencar, J.E. Matias // Rev. Col. Bras. Cir. 2009. Vol. 36, No 3. P. 256–260.

10. Inflammation-induced chondrocyte hypertrophy is driven by receptor for advanced glycation end products / D.L. Cecil, K. Johnson, J. Rediske, M. Lotz, A.M. Schmidt, R. Terkeltaub // J. Immunol. 2005. Vol. 175, No 12. P. 8296-8302. DOI: 10.4049/jimmunol.175.12.8296
11. Pitsillides A.A., Beier F. Cartilage biology in osteoarthritis – lessons from developmental biology // Nat. Rev. Rheumatol. 2011. Vol. 7, No 11. P. 654-663. DOI: 10.1038/nrrheum.2011.129
12. Martel-Pelletier J., Pelletier J.P. New insights into the major pathophysiological processes responsible for the development of osteoarthritis // Semin. Arthritis Rheum. 2005. Vol. 34, No 6, Suppl. 2. P. 6-8. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2004.03.003
13. Loeser R.F. Aging processes and the development of osteoarthritis // Curr. Opin. Rheumatol. 2013. Vol. 25, No 1. P. 108-113. DOI: 10.1097/BOR.0b013e32835a9428
14. Samuels J., Krasnokutsky S., Abramson S.B. Osteoarthritis: a tale of three tissues // Bull. NYU Hosp. Jt. Dis. 2008. Vol. 66, No 3. P. 244-250.
15. Scanzello C.R. Pathologic and pathogenic processes in osteoarthritis: the effects of synovitis // HSS J. 2012. Vol. 8, No 1. P. 20-22. DOI: 10.1007/s11420-011-9228-x
16. Richardson D.W., Dodge G.R. Dose-dependent effects of corticosteroids on the expression of matrix-related genes in normal and cytokine-treated articular chondrocytes // Inflamm. Res. 2003. Vol. 52, No 1. P. 39-49. DOI: 10.1007/s000110300012
17. Ishikawa K. Effect of intra-articular corticosteroid on the meniscus. A histological and histochemical study in rabbit knees // J. Bone Joint Surg. Am. 1981. Vol. 63, No 1. P. 120-130.
18. Behrens F., Shepard N., Mitchell N. Alterations of rabbit articular cartilage by intra-articular injections of glucocorticoids // J. Bone Joint Surg. Am. 1975. Vol. 57, No 1. P. 70-76.
19. Changes in articular cartilage after intra-articular injections of methylprednisolone acetate in horses / S. Chunekamrai, L.P. Krook, G. Lust, G.A. Maylin // Am. J. Vet. Res. 1989. Vol. 50, No 10. P. 1733-1741.
20. Mankin H.J., Conger K.A. The acute effects of intra-articular hydrocortisone on articular cartilage in rabbits // J. Bone Joint Surg. Am. 1966. Vol. 48, No 7. P. 1383-1388.
21. The effects of intra-articular methylprednisolone and exercise on the mechanical properties of articular cartilage in the horse / R.C. Murray, R.M. DeBowes, E.M. Gaughan, C.F. Zhu, K.A. Athanasiou // Osteoarthritis Cartilage. 1998. Vol. 6, No 2. P. 106-114. DOI: 10.1053/joca.1997.0100
22. Salter R.B., Gross A., Hall J.H. Hydrocortisone arthropathy – an experimental investigation // Can. Med. Assoc. J. 1967. Vol. 97, No 8. P. 374-377.
23. Pelletier J.P., Martel-Pelletier J. Protective effects of corticosteroids on cartilage lesions and osteophyte formation in the Pond-Nuki dog model of osteoarthritis // Arthritis Rheum. 1989. Vol. 32, No 2. P. 181-193. DOI: 10.1002/anr.1780320211
24. Intra-articular injections with methylprednisolone acetate reduce osteoarthritic lesions in parallel with chondrocyte stromelysin synthesis in experimental osteoarthritis / J.P. Pelletier, F. Mineau, J.P. Raynauld, J.F. Woessner Jr., Z. Gunja-Smith, J. Martel-Pelletier // Arthritis Rheum. 1994. Vol. 37, No 3. P. 414-423. DOI: 10.1002/art.1780370316
25. The in vivo effects of intraarticular corticosteroid injections on cartilage lesions, stromelysin, interleukin-1, and oncogene protein synthesis in experimental osteoarthritis / J.P. Pelletier, J.A. DiBattista, J.P. Raynauld, S. Wilhelm, J. Martel-Pelletier // Lab. Invest. 1995. Vol. 72, No 5. P. 578-586.
26. Huebner K.D., Shrive N.G., Frank C.B. Dexamethasone inhibits inflammation and cartilage damage in a new model of post-traumatic osteoarthritis // J. Orthop. Res. 2014. Vol. 32, No 4. P. 566-572. DOI: 10.1002/jor.22568
27. Intra-articular injection of cross-linked hyaluronic acid-dexamethasone hydrogel attenuates osteoarthritis: an experimental study in a rat model of osteoarthritis / Z. Zhang, X. Wei, J. Gao, Y. Zhao, L. Guo, C. Chen, Z. Duan, P. Li, L. Wei // Int. J. Mol. Sci. 2016. Vol. 17, No 4. P. 411. DOI: 10.3390/ijms17040411
28. Lu Y.C., Evans C.H., Grodzinsky A.J. Effects of short-term glucocorticoid treatment on changes in cartilage matrix degradation and chondrocyte gene expression induced by mechanical injury and inflammatory cytokines // Arthritis Res. Ther. 2011. Vol. 13, No 5. P. R142. DOI: 10.1186/ar3456
29. Local effects following single and repeat intra-articular injections of triamcinolone acetonide extended-release: results from three nonclinical toxicity studies in dogs / N. Bodick, T. Williamson, V. Strand, B. Senter, S. Kelley, R. Boyce, R. Lightfoot-Dunn // Rheumatol. Ther. 2018. Vol. 5, No 2. P. 475-498. DOI: 10.1007/s40744-018-0125-3

Рукопись поступила 07.05.2020

#### Сведения об авторах:

1. Нуриахметов Айнура Нафикович,  
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия,  
ГАУЗ РКБ МЗ РТ, г. Казань, Россия,  
Email: jouric@yandex.ru
2. Ахтямов Ильдар Фуатович, д. м. н., профессор,  
ФГБОУ ВО "Казанский ГМУ" Минздрава России, г. Казань, Россия,  
ГАУЗ «РКБ МЗ РТ», г. Казань, Россия,  
E-mail: yalta60@mail.ru
3. Цыплаков Дмитрий Эдуардович, д. м. н., профессор,  
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия,  
Email: dr.allakazan@yandex.ru
4. Абдуллах Ал Мухит,  
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия,  
Email: munnarussia@gmail.com
5. Нуриахметова Татьяна Юрьевна,  
ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России, г. Казань, Россия,  
Email: tatiananuriakhmetova@gmail.com

#### Information about the authors:

1. Ainur N. Nuriakhmetov,  
Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation,  
Republican Clinical Hospital, Kazan, Russian Federation,  
Email: jouric@yandex.ru
2. Ildar F. Akhtyamov, MD, Ph.D., Professor,  
Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation,  
Republican Clinical Hospital, Kazan, Russian Federation,  
Email: yalta60@mail.ru
3. Dmitry E. Tsyplakov, M.D., Ph.D., Professor,  
Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation,  
Email: dr.allakazan@yandex.ru
4. Al M. Abdullah,  
Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation,  
Email: munnarussia@gmail.com
5. Tatyana Yu. Nuriakhmetova,  
Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation,  
Email: tatiananuriakhmetova@gmail.com