Міністерство освіти і науки України
Київський національний університет імені Тараса Шевченка

ТІХОВА ЄЛИЗАВЕТА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 616.7:615.2/.3:577.125.8

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗУ ЩУРІВ

03.00.04 – біохімія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2018

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі біохімії Навчально-наукового центру (ННЦ) «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка МОН України

Науковий керівник:	доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **Дворщенко Катерина Олександрівна,** Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, завідувач Науково-дослідної лабораторії «Біохімії» ННЦ «Інститут біології та медицини»
Офіційні опоненти:	доктор біологічних наук, професор **Копильчук Галина Петрівна,** Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України, завідувач кафедри біохімії та біотехнології Інституту біології, хімії та біоресурсів; доктор біологічних наук, старший науковий співробітник **Літовка Ірина Георгіївна,** Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, провідний науковий співробітник відділу клінічної фізіології сполучної тканини

Захист відбудеться « 29 » жовтня 2018 року о 16:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.24 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, просп. Академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології та медицини», ауд. 434

Поштова адреса: 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», спеціалізована вчена рада Д 26.001.24

З дисертацією можна ознайомитись у Науковій бібліотеці імені М. Максимовича Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м. Київ, вул. Володимирська, 58

Автореферат розіслано « 26 » вересня 2018 року

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради **Н.Г. Ракша**

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. За даними статистики Всесвітньої організації охорони здоров'я захворювання опорно-рухового апарату займають третє місце за розповсюдженням серед населення та перше місце – серед причин тимчасової непрацездатності людей. Згідно даних літератури [Deeny M. C., 2015; Malempati C., 2017; Prodinger B., 2017] ці хвороби зустрічаються у кожної четвертої людини, а після 60-ти років – у 97% населення. Серед порушень опорно-рухового апарату важливе місце займають дегенеративно-дистрофічні захворювання суглобів, основним з яких є остеоартроз (ОА). Основною причиною хвороби є порушення обмінних процесів у суглобі через травми, вроджені вади розвитку опорно-рухового апарату, дисплазії, мутації в генах колагену 2 типу, запальні захворювання суглобів, зайву вагу, виконання роботи, що пов'язана з важкою фізичною працею і ряд інших чинників [Aury-Landas J., 2016; Pan Q., 2016; Nazarinasab M., 2017; Schmitt J., 2017; Takahashi K., 2017].

Сформованій суглобовій патології передують місцеві біохімічні порушення внутрішньосуглобових структур, які суттєво випереджають клінічні прояви остеоартрозу. Серед механізмів формування остеоартрозу сьогодні обговорюється розвиток окисного стресу в хрящовій тканині та загальний запальний аспект патогенезу цього захворювання, які можуть призвести до порушення метаболізму сполучної тканини, запальних і дегенеративних змін хряща [Sokolove J., 2013; de l'Escalopier N., 2016; Goldring M. B., 2016; Gao J., 2017]. Наукові дослідження про взаємозв'язок між розвитком ОА та станом окисно-антиоксидантної рівноваги обмежуються вивченням цих процесів у синовіальній рідині та сироватці крові. У хрящовій тканині дані дослідження є досить фрагментарними і, в більшості випадків, стосуються вивчення культури хондроцитів *in vitro*, що не дає повного уявлення про механізми протікання вільнорадикальних процесів у хрящовій тканині в організмі при даній патології. Зокрема, при остеоартрозі в хрящовій тканині залишаються не дослідженими інтенсивність утворення активних форм кисню, процесів окиснення ліпідів і білків та стан антиоксидантної системи.

Дегенеративні порушення суглобів в першу чергу пов'язані зі змінами структури хрящової тканини суглобової поверхні та недостатністю основного полісахарида хряща – хондроїтина сульфату (ХС). Тому застосування препаратів, які містять сульфатовану форму хондроїтина є доцільним при захворюваннях суглобів. Однак, біодоступність цієї речовини при пероральному вживанні досягає лише 13% [Lopes E. B., 2017]. В зв'язку з цим викликають інтерес ін'єкційні форми лікарських препаратів на основі хондроїтина сульфату. Вивчення цих питань, їх експериментальне обґрунтування є надзвичайно важливим для теорії і практики лікування остеоартрозів, запобігання ускладнень захворювання.

Дана дисертація присвячена комплексному вивченню інтенсивності протікання вільнорадикальних процесів при монойодацетат-індукованому остеоартрозі у хрящовій тканині суглоба та крові, а також дослідженню дії на ці процеси хондропротектора на основі хондроїтина сульфату.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота була виконана у науково-дослідній лабораторії «Біохімії» відділення біологічних і біомедичних технологій Навчально-наукового центру «Інститут біології

та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка у рамках бюджетних науково-дослідних тем №11БФ036-01 «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакції організму за умов розвитку різних патологій» (2011-2015 рр., № д/р 0111U004648) та № 16БФ036-01 «Механізми регуляції метаболічних процесів в організмі за умов розвитку патологічних станів» (2016-2018 рр. № д/р 0116U002527).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було вивчити біохімічні механізми розвитку пошкодження хрящової тканини щурів за умов монойодацетат-індукованого остеоартрозу та при дії хондропротектора на основі хондроїтина сульфату.

Відповідно до мети дисертаційного дослідження поставлено наступні завдання:

1. Оцінити ступінь розвитку запалення у щурів при остеоартрозі.
2. Визначити інтенсивність вільнорадикальних процесів у хрящовій тканині та сироватці крові щурів за умов остеоартрозу.
3. Оцінити стан антиоксидантної системи у хрящовій тканині та сироватці крові щурів при експериментальному остеоартрозі.
4. Дослідити рівень експресії мРНК генів, залучених у деградацію хрящової тканини за умов остеоартрозу.
5. З'ясувати механізми корегуючої дії хондропротектора (на прикладі препарату на основі ХС) щодо відновлення хрящової тканини колінного суглобу щурів при монойодацетат-індукованому остеоартрозі.

Об'єкт дослідження: біохімічні механізми пошкодження хрящової тканини щурів з експериментальним монойодацетат-індукованим остеоартрозом та відновлювальні процеси в хрящі при дії хондропротектора.

Предмет дослідження: маркери запалення, стан окисно-антиоксидантної системи, рівень експресії мРНК генів у хрящовій тканині колінного суглобу щурів за умов експериментального остеоартрозу та при введенні хондропротекторного препарату і його антирадикальні, протизапальні, імуномодулюючі властивості.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено комплексне дослідження біохімічних показників взаємозв'язку запалення з процесами вільнорадикального окиснення та функціонуванням системи антиоксидантного захисту у хрящовій тканині колінного суглобу щурів на моделі монойодацетат-індукованого (МІА) остеоартрозу. Виявлено, що при МІА-індукованому ОА у крові активується імуноцитокінова система: зростає рівень прозапальних (ІЛ-1β, ФНП-α) та антизапального (ІЛ-10) цитокінів, що супроводжується зростанням простагландину Е2 та вмісту молекул низької і середньої молекулярної маси, які є індикатором розвитку ендогенної інтоксикації та проявом прогресії запалення. Показано зсув окисно-антиоксидантної рівноваги в напрямку інтенсифікації прооксидантних процесів та розвитку окисного стресу на фоні зниження антиоксидантних властивостей хрящової тканини щурів при експериментальному ОА. Зокрема, у хрящовій тканині при МІА-індукованому ОА зростає вміст супероксидного радикалу, перекису водню, підвищується ксантиноксидазна активність, зростає вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук, шиффових основ) та збільшується рівень продуктів окисної модифікації білків (альдо- і кетопохідних нейтрального та основного характеру). Встановлено, що при експериментальному ОА у хрящовій тканині зростає супероксиддисмутазна та каталазна активності та

знижується активність глутатіон-залежних ферментів (глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази, глутатіонредуктази) та вміст відновленого глутатіону на фоні зростання вмісту окисненого глутатіону. Також інтенсифікація вільнорадикальних процесів виявлена у сироватці крові щурів з експериментальним ОА, а саме, зростання активних форм кисню, продуктів перекисного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків, порушення роботи антиоксидантної системи. Доведено збільшення рівня експресії генів, що залучені до розвитку запалення (*Ptgs2, Nos2, Tgfb1)* та зниження рівня експресії генів, що відповідають за будову матриксу (*Col2a1, Acan*) хрящової тканини у щурів за умов експериментального ОА. Розширено наукові дані про особливості імуномоделюючої та антиоксидантної дії хондропротекторного препарату на основі хондроїтина сульфату в регенерації хрящової тканини при МІА-індукованому остеоартрозі.

Практичне значення одержаних результатів. Результати роботи розширюють уявлення про молекулярні та біохімічні механізми ураження та відновлення хрящової тканини колінного суглобу за умов остеоартрозу. Експериментально доведено ефективність застосування хондропротекторного препарату на основі хондроїтина сульфату для відновлення окисно-антиоксидантного гомеостазу хрящової тканини та крові щурів при МІА-індукованому остеоартрозі. Результати дисертації можуть бути використані у практичній травматології і ортопедії та у навчальному процесі під час підготовки студентів біологічних та медичних спеціальностей.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто здійснено пошук та опрацювання фахової літератури за темою дослідження, аналіз сучасного стану проблеми, проведення експериментів, обробка, статистичне та теоретичне обґрунтування результатів дослідження. Формування ідеї та мети роботи, постановка завдань, моделювання експерименту, планування методичних підходів, узагальнення результатів дослідження та редагування дисертаційної роботи здійснено спільно з науковим керівником. Автор висловлює глибоку вдячність д.б.н., проф. Л.І. Остапченко та д.б.н., проф. Т.М. Береговій з ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка за консультативну допомогу в проведенні даних досліджень. Всі дані, отримані у співавторстві, відображені у спільних публікаціях.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові положення дисертаційної роботи були представлені на XIII міжнародній науковій конференції молодих науковців «Шевченківська весна» (Київ, 2015), XIV міжнародній науковій конференції молодих науковців «Шевченківська весна» (Київ, 2016), The XII international scientific and practical conference «Fundamental and applied science» (Sheffield, England, 2016), XIII міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2017), XII Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Наука и образование - 2017» (Астана, Казахстан, 2017), IV Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів і молодих учених «Інновації та перспективи сучасної медицини» (Чернівці, 2017), Third Kyiv International Symposium Smooth Muscles Physiology, Biophysics & Pharmacology (Київ – Львів, 2017).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 14 наукових праць, з яких 5 наукових статей у фахових виданнях, що входять до переліку, затвердженому МОН

України, стаття у виданні, що входить до міжнародної наукометричної бази, а також 8 матеріалів і тез доповідей на всеукраїнських та міжнародних наукових конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису результатів власних досліджень та їх обговорення, розділу з узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, що включає 262 найменування та додатку. Дисертаційна робота викладена на 169 сторінках машинописного тексту (з яких основна частина займає 133 сторінки), ілюстрована 14 рисунками та містить 14 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень

У дослідах використовували білих нелінійних статевозрілих щурів-самців із початковою масою 180-240 г, які утримувались в умовах акредитованого віварію ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв) з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [Страсбург, 1986]. Тварини отримували стандартний корм для гризунів та дехлоровану водопровідну воду.

Усіх тварин розділяли на чотири експериментальні групи. Першій групі тварин, Контроль, в перший день вводили в коліно крізь колінну зв'язку 0,05 мл 0,9% розчину NaCl. Другій групі тварин, ХС (контроль на введення препарату), вводили в перший день в коліно крізь колінну зв'язку 0,05 мл 0,9% розчину NaCl і внутрішньом'язево препарат «Драстоп», основною складовою якого є хондроїтина сульфат натрію, 1 раз на добу протягом 25 діб. Дегенеративно-дистрофічні зміни колінного суглобу, група ОА (остеоартроз), моделювали шляхом введення щурам в перший день в коліно 3 мг монойодацетату натрію (МІА), розчиненого у 0,05 мл 0,9% розчину NaCl [Ковалев Г. А., 2010; Baragi V. M., 2009]. Четвертій групі тварин, ОА+ХС, вводили в перший день в коліно 3 мг монойодацетату натрію, розчиненого у 0,05 мл 0,9% розчину NaCl, та внутрішньом'язево препарат «Драстоп» 1 раз на добу протягом 25 діб. Введення МІА та 0,9% розчину NaCl в коліно проводили під наркозом тіопенталом натрію внутрішньочеревно в дозі 60 мг/кг в об'ємі 0,5 мл/тварину. Тварин умертвляли на 30 добу після початку експерименту згідно протоколу етичного комітету, після чого швидко робили забір крові та гіалінових хрящів колінних суглобів для подальших досліджень. Загальна кількість тварин, залучених до експериментальних досліджень, становить 112 особини. Всі дослідження виконано відповідно до Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21 лютого 2006 р. Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

Гістологічний аналіз зрізів хрящів щурів проводився за стандартною методикою [Mescher A., 2009]. Для фарбування парафінових зрізів використовували метод подвійного фарбування гематоксиліном і еозином за Бьомером [Лили Р., 1969].

Гістологічні препарати аналізували при збільшенні мікроскопа ×100 (Olympus BX-41). Вміст цитокінів (інтерлейкін (ІЛ)-1β, ІЛ-12B p40, ІЛ-4, ІЛ-10, фактор некрозу пухлин (ФНП-α)) визначали імуноферментним методом [Towbin H., 1994]. Рівень молекул низької та середньої молекулярної маси визначали скриніноговим методом [Габриэлян Н., 1985]. Вміст супероксидного радикалу визначали за утворенням ХТТ-формазану [Able A., 1998]. Вміст пероксиду водню вимірювали у системі сорбітол-ксиленол оранж [Jiang Z., 1990]. Ксантиноксидазну активність оцінювали за накопиченням сечової кислоти із використанням ксантину в якості субстрату [Hashimoto S., 1974]. Вміст дієнових кон'югатів та шиффових основ визначали спектрофотометрично та флуориметрично у верхній фазі гептан-ізопропанольного екстракту [Колесова О., 1984, Гаврилов В., 1988]. Рівень ТБК-активних продуктів визначали у безбілковій фракції із додаванням тіобарбітурової кислоти (ТБК) [Стальная И., 1977]. Вміст продуктів окисної модифікації білків визначали за утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів нейтрального та основного характеру [Дубинина Е., 1995]. Супероксиддисмутазну (СОД) активність оцінювали за здатністю СОД конкурувати із нітросинім тетразолієм за супероксидні радикали [Чевари С., 1985]. Каталазну активність вимірювали за кількістю незруйнованого пероксиду водню у пробі [Королюк М., 1988]. Вміст відновленого (GSH) та окисленого глутатіону (GSSG) визначали спектрофлуориметрично з використанням ортофталевого альдегіду [Hissin P., 1976]. Глутатіонпероксидазну (ГЛП) активність оцінювали за зменшенням вмісту GSH в реакції з реактивом Елмана [Власова С., 1990]. Глутатіонредуктазну (ГЛР) активність вимірювали за зменшенням оптичної густини проб в результаті окиснення НАДФН [Власова С., 1990]. Глутатіонтрансферазну (ГЛТ) активність визначали за швидкістю утворення кон'югату GSH з 1-хлор-2,4-динітробензолом [Власова С., 1990]. Рівень загальних, білок-зв'язаних та небілкових SH-груп вимірювали за методом Елмана [Ellman G., 1959]. Рівень експресії генів індуцибельної нітрооксидсинтази (*Nos2*), циклооксигенази (*Ptgs2*), трансформуючого фактора росту бета (*Tgfb1*), колагену тип II альфа 1 (*Col2a1*), аггрекану (*Acan*) та бета-актину (*Actb*) вимірювали методом напівкількісної зворотно-транскрипційної полімеразної ланцюгової реакції із денситометрією [Sambrook J., 1989, Konturek P., 1998].

Дані перевіряли на нормальне розподілення за допомогою тесту Шапіро-Уілка. Подальший обрахунок відбувався за допомогою односпрямованого дисперсійного аналізу (one-way ANOVA) із пост-тестом Тукея. Отримані результати наведені у вигляді середнього арифметичного ± середньоквадратичне відхилення (дисперсія) – SD. Результати вважали значущими, коли $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Оцінка ступеню запалення у щурів за умов монойодацетат-індукованого остеоартрозу та при дії хондропротектора. Гістологічний аналіз хрящової тканини колінного суглоба показав, що у щурів з МІА-індукованим остеоартрозом розвивається деградація хрящової тканини і субхондральної кісткової тканини, спостерігається розвиток гіперпластичних, запальних та деструктивно-дистрофічних змін, що відповідає загальним уявленням про патоморфологічні особливості розвитку остеоартрозу. При введенні хондроїтина сульфату щурам з МІА-індукованим

остеоартрозом вираженість дегенеративних змін суглоба була зменшена. Поверхні суглобів були гладкими, відновлювалася зональність хондроцитів та структура матриксу, зникав запальний інфільтрат, стан синовіальної тканини відповідав нормі.

Інформативним показником ступеню запалення як в організмі в цілому, так і у певному органі є цитокіновий профіль [Bhatia M., 2005; Liaskou E., 2012]. Встановлено, що в сироватці крові щурів з експериментальним ОА збільшується рівень прозапальних цитокінів: концентрація ФНП-α зростає в 2,4 раза ($p \leq 0,05$), а ІЛ-1β – у 1,7 раза ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем (табл. 1). При цьому змін в концентрації ІЛ-12В р40 не виявлено. При введенні препарату на основі ХС щурам з ОА рівень ФНП-α в сироватці крові знижується в 1,4 раза ($p \leq 0,05$) в порівнянні з щурами з експериментальним остеоартрозом. Концентрація ІЛ-1β при застосуванні ХС зменшується в 1,3 раза ($p \leq 0,05$) відповідно, щодо групи щурів з ОА. Змін концентрації ІЛ-12В р40 не виявлено. Таким чином, під дією зазначеного препарату на основі ХС рівень прозапальних цитокінів частково зменшується (табл. 1).

Таблиця 1

Концентрація цитокінів у сироватці крові щурів при остеоартрозі, пг × мл$^{-1}$ (M ±m, n = 7)

Показник / Групи тварин	ФНП-α	ІЛ-1β	ІЛ-12В р40
Контроль	75,12 ± 6,23	112,54 ± 10,92	310,54 ± 29,43
Хондроїтина сульфат	79,31 ± 7,44	115,73 ± 11,21	307,23 ± 28,71
Остеоартроз	183,13 ± 15,71*	185,32 ± 17,64*	310,62 ± 30,54
Остеоартроз + хондроїтина сульфат	129,42 ± 12,13$^{*/\#}$	138,14 ± 13,23$^{\#}$	275,31 ± 26,92

* – $p \leq 0,05$ відносно контролю; # – $p \leq 0,05$ – відносно групи щурів з ОА

При вивченні концентрації протизапальних цитокінів в сироватці крові щурів з ОА встановлено зростання концентрації ІЛ-10 в 1,8 раза ($p \leq 0,05$), при цьому рівень цитокіну ІЛ-4 знаходився в межах контрольних значень (табл. 2). Отримані результати свідчать про компенсаторну активацію антизапальної системи при остеоартрозі колінного суглоба щурів. При введенні препарату на основі хондроїтина сульфату концентрація ІЛ-10 в сироватці крові щурів з МІА-індукованим ОА знижується в 1,3 раза ($p \leq 0,05$) у порівнянні з щурами з експериментальним остеоартрозом. Виявлено, що хондропртектор не впливає на рівень цитокінів в сироватці крові контрольних щурів (табл. 2).

Таблиця 2

Концентрація протизапальних інтерлейкінів у сироватці крові щурів при остеоартрозі, пг × мл$^{-1}$ (M ±m, n = 7)

Показник / Групи тварин	ІЛ-4	ІЛ-10
Контроль	5,15 ± 0,51	35,23 ± 3,33
Хондроїтина сульфат	5,22 ± 0,48	39,51 ± 3,71
Остеоартроз	5,48 ± 0,51	63,24 ± 5,97*
Остеоартроз + хондроїтина сульфат	4,91 ± 0,46	47,08 ± 4,54*/#

* – p≤0,05 відносно контролю; # – p≤ 0,05 – відносно групи щурів з ОА

Медіатором запалення є простагландин E_2, який виступає маркером порушення гомеостазу в організмі. При МІА-індукованому ОА у сироватці крові зареєстровано збільшення концентрації простагландину Е2 в 1,6 раза (p≤0,05) у порівнянні з контролем (рис.1).

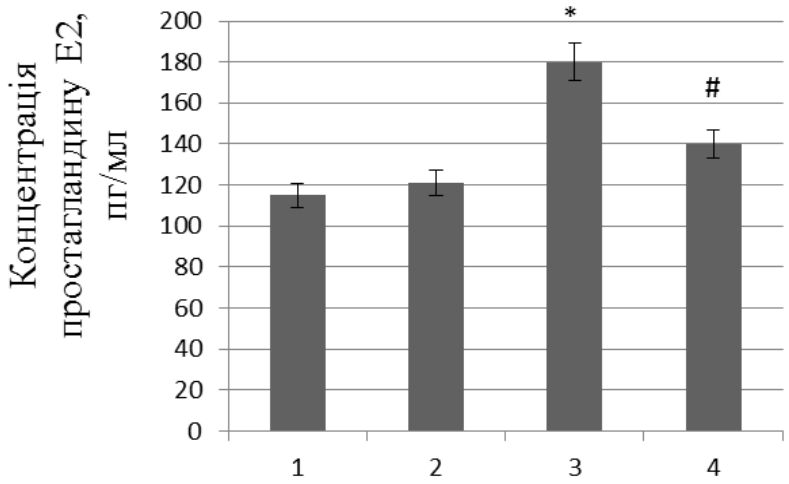

Рис. 1. Концентрація простагландину Е2 в сироватці крові щурів при остеоартрозі (M ± m, n = 7): 1 – контроль; 2 – хондроїтина сульфат; 3 – остеоартроз; 4 – остеоартроз + хондроїтина сульфат

* – p≤0,05 відносно контролю; # – p≤ 0,05 – відносно групи щурів з ОА

При введенні хондропртектора концентрація простагландину Е2 зменшується в 1,3 раза (p≤0,05) щодо групи щурів з експериментальним ОА. Показано, що ХС не впливає на рівень досліджуваного ейкозаноїду в сироватці крові контрольної групи тварин (рис. 1).

Одним з провідних патогенетичних синдромів патологічних станів є ендогенна

інтоксикація (ЕІ). В даний час розвиток ЕІ пов'язують з накопиченням в організмі молекул низької та середньої молекулярної маси (МНСММ) – класу сполук з молекулярною масою до 5000 Да. Встановлено, що у сироватці крові щурів з експериментальним ОА вміст МНСММ зростає у 1,9 раза, порівняно з контролем (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст молекул низької та середньої молекулярної маси у сироватці крові щурів при остеоартрозі, ум. од. × мг білка$^{-1}$ (M ±m, n = 7)

Групи тварин	Показник
Контроль	6,74 ± 0,65
Хондроїтина сульфат	7,01 ± 0,68
Остеоартроз	12,63 ± 1,24*
Остеоартроз + хондроїтина сульфат	9,02 ± 0,84$^{\#}$

* – p≤0,05 відносно контролю; # – p≤ 0,05 – відносно групи щурів з ОА

Після введення препарату на основі ХС даний показник знижується у 1,4 раза порівняно з групою МІА-індукованим ОА. Показано, що хондропртектор не впливає на рівень МНСММ в сироватці крові контрольних щурів (табл. 3). Отже, результати дослідження показали розвиток ендогенної інтоксикації у щурів через 30 днів після моделювання ОА. Препарат на основі хондроїтина сульфату виявися ефективним щодо пригнічення розвитку ЕІ.

Наступним етапом дослідження було визначити рівень експресії мРНК генів *Ptgs2, Nos2, Tgfb1*, які залучені у розвиток запалення. Встановлено, що у хрящовій тканині щурів з експериментальним ОА рівень експресії мРНК гена *Ptgs2* зростає в 8 разів (p≤0,001) в порівнянні з контролем (рис. 2). Виявлено, що ХС не впливає на рівень досліджуваного показника в хрящовій тканині контрольної групи. При застосуванні препарату на основі ХС рівень відповідної мРНК знижується в 3,9 (p≤0,001) раза порівняно з групою тварин з ОА (рис. 2).

Рівень експресії гена *Nos2* в групі тварин з МІА-індукованим ОА є вищим у 5,8 разів (p≤0,001) порівняно з контролем. Рівень експресії цього гена в контрольній групі щурів, яким вводили лише хондропротектор достовірно не відрізняється від контрольних тварин. При введенні ХС щурам з ОА рівень відповідної мРНК знижується в 2,8 (p≤0,001) раза відносно групи тварин з МІА-індукованим ОА. Рівень експресії гена *Tgfb1* в групі тварин з патологією збільшується в 1,7 раза (p≤0,001) порівняно з контролем. Виявлено, що хондропртектор не впливає на рівень експресії гена *Tgfb1* контрольних щурів. При введенні ХС щурам з МІА-індукованим

ОА рівень відповідної мРНК знижується в 1,3 ($p \leq 0,01$) раза порівняно з групою тварин з ОА (рис. 2).

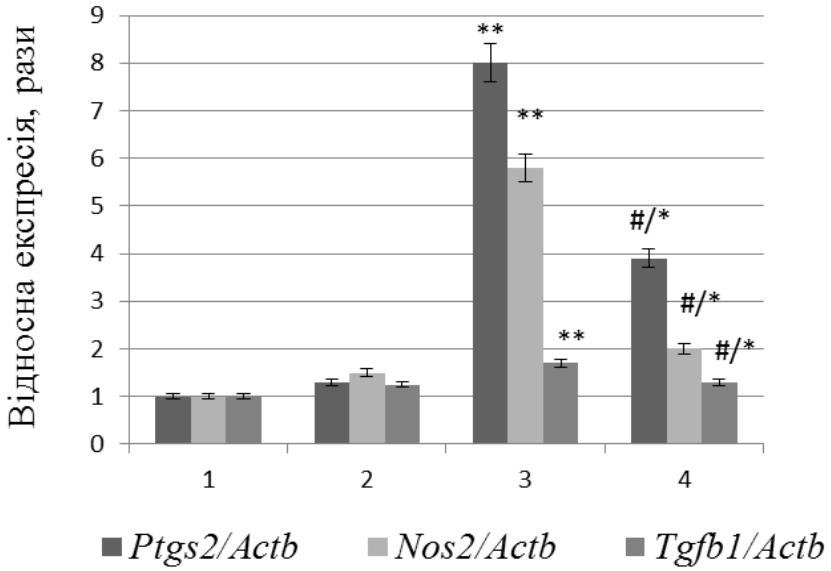

Рис. 2. Рівень експресії мРНК генів *Ptgs2, Nos2, Tgfb1* в хрящах колінного суглоба щурів при остеоартрозі (M ± m, n = 7): 1 – контроль; 2 – хондроїтина сульфат; 3 – остеоартроз; 4 – остеоартроз + хондроїтина сульфат

* – $p \leq 0,01$, ** – $p \leq 0,001$ – відносно контролю; # – $p \leq 0,001$ – відносно групи щурів з ОА

Отже, результати дослідження показали розвиток системного запалення в організмі щурів з МІА-індукованим ОА. Введення препарату на основі ХС щурам з експериментальним ОА сприяє зниженню прояву запальних реакцій в організмі.

Інтенсивність вільнорадикальних процесів у сироватці крові та хрящовій тканині щурів при експериментальному остеоартрозі та при дії хондропротектора. Розвиток запального процесу супроводжується активацією вільнорадикальних процесів [Germanou E.I., 2013, Collins J.A., 2016]. В ході проведених експериментів встановлено, що у групі щурів з МІА-індукованим ОА в сироватці крові зростає вміст супероксидного радикалу у 2,3 раза, перекису водню – у 2,4 раза відповідно, порівняно з контролем. Виявлено, що хондропртектор не впливає на рівень АФК контрольних щурів. Після введення препарату на основі ХС тваринам з ОА вміст супероксидного радикалу та перекису водню знижується в 1,6 раза відносно відповідних показників групи з експериментальним остеоартрозом.

Встановлено, що у групі щурів з МІА-індукованим остеоартрозом у хрящовій тканині щурів зростає вміст супероксидного радикалу в 3,1 раза, перекису водню – в 1,7 раза відповідно, порівняно з контролем (рис. 3). Після введення препарату на основі хондроїтина сульфату тваринам з експериментальним ОА знижується вміст супероксидного радикалу – в 1,6 раза та перекису водню – в 1,4 раза відносно показників групи щурів з остеоартрозом (рис. 3).

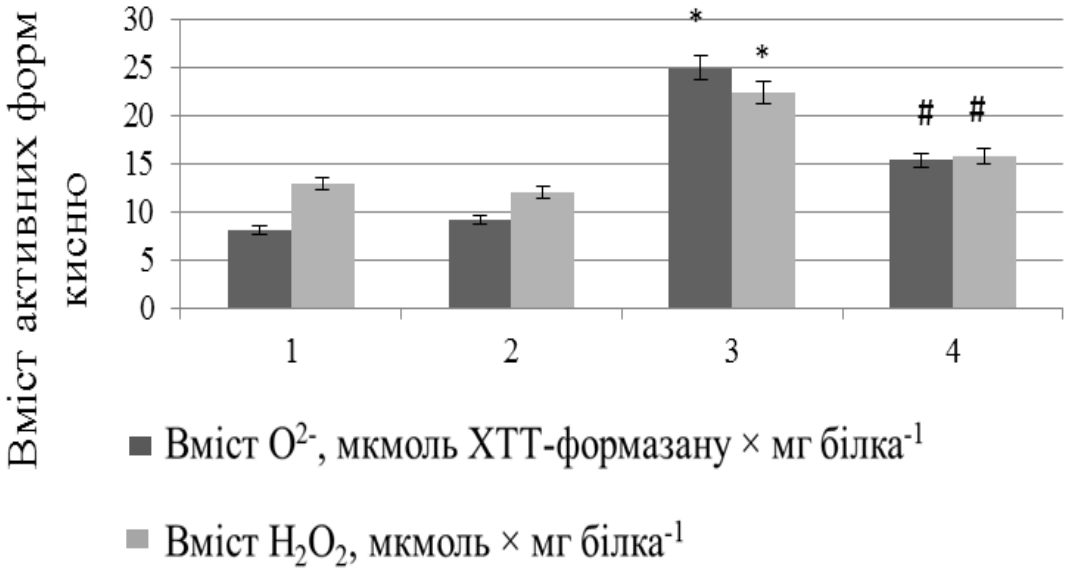

Рис. 3. Вміст активних форм кисню у хрящовій тканині щурів при остеоартрозі (M ± m, n = 7): 1 – контроль; 2 – хондроїтина сульфат; 3 – остеоартроз; 4 – остеоартроз + хондроїтина сульфат

* – $p < 0,05$ – відносно контролю; # – $p < 0,05$ – відносно групи щурів з ОА

Показано, що у групі щурів з МІА-індукованим ОА в хрящовій тканині щурів ксантиноксидазна активність зростає в 3,2 раза порівняно з контролем. ХС не впливає на рівень досліджуваного показника в хрящовій тканині контрольної групи. Після введення ХС тваринам з експериментально викликаним ОА ксантиноксидазна активність знижується в 2 рази відносно відповідних показників групи з ОА.

Статичними показниками інтенсифікації вільнорадикальних (ВР) процесів в організмі є вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів ПОЛ та окисної модифікації білків (ОМБ) [Blair I., 2008, Grimsrud P., 2008, Gueraud F., 2010]. Встановлено, що при експериментальномі ОА у сироватці крові зростає вміст продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів – в 2,6 раза, ТБК-активних продуктів – в 2,1 раза, шиффових основ – в 1,7 раза відносно контролю. Показано, що ХС не впливає на рівень досліджуваних параметрів в сироватці крові контрольної групи тварин. При застосуванні ХС в сироватці крові знижується вміст дієнових кон'югатів і ТБК-активних продуктів – в 1,6 раза та вміст шиффових основ – в 1,5 раза відносно групи з ОА.

Встановлено зростання вмісту продуктів ПОЛ у хрящовій тканині щурів з МІА-індукованим ОА: дієнових кон'югатів – в 2 рази, ТБК-активних продуктів – в 2,3 раза, шиффових основ – в 2,1 раза відносно контролю (табл. 5).

При введенні ХС контрольним щурам рівень досліджуваних параметрів ПОЛ знаходився в межах контрольних значень. При застосуванні препарату на основі ХС у хрящовій тканині знижується вміст продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів – в 1,7 раза, ТБК-активних продуктів – в 1,5 раза та шиффових основ – в 1,6 раза відносно групи з ОА (табл. 5).

Таблиця 5

Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у хрящовій тканині щурів при остеоартрозі (M±m, n=7)

Показник / Групи тварин	Дієнові кон'югати, нмоль × мг білка$^{-1}$	ТБК-активні продукти, нмоль × мг білка$^{-1}$	Шиффові основи, ум. од. × мг білка$^{-1}$
Контроль	279,88 ± 11,20	65,21 ± 6,18	8,06 ± 0,42
Хондроїтина сульфат	304,99 ± 13,40	70,83 ± 6,95	8,81 ± 0,39*
Остеоартроз	570,14 ± 22,81*	149,97 ± 12,36*	16,91 ± 0,68*
Остеоартроз + хондроїтина сульфат	336,54 ± 13,46$^{\#}$	98,35 ± 9,51$^{\#}$	10,71 ± 0,43$^{\#}$

* – $p < 0,05$ – відносно контролю; # – $p < 0,05$ – відносно групи щурів з ОА

Встановлено, що у групі щурів з МІА-індукованим остеоартрозом в сироватці крові зростає вміст продуктів ОМБ: в 1,5 раза для альдегідних та в 1,6 раза для кетонних продуктів нейтрального характеру; в 1,5 раза для альдо- та в 1,4 раза для кетопохідних основного характеру, відповідно, порівняно з контролем. Показано, що ХС не впливає на рівень досліджуваних показників ОМБ в сироватці крові контрольної групи тварин.

Після введення ХС тваринам з експериментальним ОА знижується вміст нейтральних альдегідних та кетонних продуктів – в 1,3 та 1,4 раза, відповідно; вміст основних альдо- та кетопохідних основного характеру – в 1,4 та 1,2 раза, відповідно, відносно показників групи з остеоартрозом.

В ході проведеного експерименту виявлено, що у групі щурів з МІА-індукованим остеоартрозом в хрящовій тканині зростає вміст продуктів ОМБ: в 1,6 раза для альдегідних та кетонних продуктів нейтрального характеру; в 1,4 раза для альдо- та кетопохідних основного характеру, відповідно, порівняно з контролем (табл. 6).

Показано, що ХС не змінює хімічну структуру білків хрящової тканини контрольної групи тварин. Після введення препарату на основі ХС тваринам з експериментальним ОА знижується вміст нейтральних альдегідних та кетонних продуктів – в 1,2 та 1,4 раза, відповідно; вміст основних альдо- та кетопохідних основного характеру – в 1,2 та 1,3 раза, відповідно, відносно показників групи з остеоартрозом (табл. 6).

Таблиця 6

Вміст продуктів окисної модифікації білків у хрящовій тканині щурів при остеоартрозі, ум.од. × мг білка$^{-1}$ (M ± m, n = 7)

Показник / Групи тварин	Продукти нейтрального характеру		Продукти основного характеру	
	356 нм, альдопохідні	370 нм, кетопохідні	430 нм, альдопохідні	530 нм, кетопохідні
Контроль	0,052 ± 0,005	0,048 ± 0,005	0,045 ± 0,005	0,043 ± 0,004
Хондроїтина сульфат	0,054 ± 0,005	0,049 ± 0,005	0,049 ± 0,005	0,049 ± 0,005
Остеоартроз	0,084 ± 0,008*	0,077 ± 0,008*	0,063 ± 0,006*	0,059 ± 0,006*
Остеоартроз + хондроїтина сульфат	0,069 ± 0,007$^{\#}$	0,054 ± 0,005$^{\#}$	0,051 ± 0,005$^{\#}$	0,046 ± 0,005$^{\#}$

* – $p < 0,05$ – відносно контролю; # – $p < 0,05$ – відносно групи щурів з ОА

Інтенсивність вільнорадикальних процесів залежить від активності роботи антиоксидантної системи, яка підтримує активність протікання процесів вільнорадикального окиснення на фізіологічному рівні, що дозволяє утримувати редокс-гомеостаз клітин [Pamplona R., 2011]. Встановлено, що у сироватці крові щурів з МІА-індукованим остеоартрозом супероксиддисмутазна активність зменшується в 1,6 раза, а каталазна активність зростає у 1,6 раза порівняно з контролем. Хондроїтина сульфат не впливає на рівень досліджуваних ферментів в сироватці крові контрольних тварин. Після дії препарату на основі хондроїтина сульфату у сироватці крові щурів з остеоартрозом супероксиддисмутазна активність зростає в 1,5 раза, каталазна активність знижується в 1,4 рази порівняно з тваринами з остеоартрозом.

Показано, що у хрящовій тканині щурів з МІА-індукованим остеоартрозом зростає супероксиддисмутазна активність – в 4 рази, а каталазна активність – в 4,7 раза порівняно з контролем. Хондроїтина сульфат не впливає на рівень досліджуваних ферментів у хрящовій тканині контрольної групи. Після введення препарату на основі хондроїтина сульфату знижується активність супероксиддисмутази – в 1,9 раза, каталази – в 3,1 раза порівняно з групою з остеоартрозом (табл. 7).

Таблиця 7

Активність антиоксидантних ферментів у хрящовій тканині щурів при остеоартрозі (M±m, n=7)

Показник / Групи тварин	Супероксиддисмутазна активність, ум. од. × хв$^{-1}$ х мг білка$^{-1}$	Каталазна активність, нмоль × хв$^{-1}$ × мг білка$^{-1}$
Контроль	0,321 ± 0,029	14,21 ± 1,25
Хондроїтина сульфат	0,383 ± 0,035	12,92 ± 1,23
Остеоартроз	1,281 ± 0,105*	67,49 ± 6,38*
Остеоартроз + хондроїтина сульфат	0,672 ± 0,064$^{*/\#}$	21,87 ± 2,09$^{*/\#}$

* – $p < 0,05$ – відносно контролю; # – $p < 0,05$ – відносно групи щурів з ОА

Встановлено, що у групі щурів з МІА-індукованим остеоартрозом в сироватці крові знижуються активності ферментів глутатіонової системи – ГЛП-на активність знижується у 1,4 раза, ГЛТ-на активність – в 1,3 раза, ГЛР-на – в 1,2 раза відносно контролю. За даних експериментальних умов у сироватці крові вміст відновленого глутатіону знижується в 1,4 раза, а вміст окисленого зростає в 1,3 раза відносно контролю. ХС не впливає на рівень досліджуваних показників в сироватці крові контрольної групи тварин. Після введення ХС тваринам з експериментальним ОА зростає активність ферментів глутатіонової системи: ГЛП-на активність – в 1,3 раза, ГЛТ-на активність – в 1,4 раза, ГЛР-на – в 1,7 раза відносно групи щурів з ОА. При дії препарату на основі ХС у сироватці крові щурів з експериментальним ОА вміст відновленого глутатіону зростає в 1,5 раза, при цьому вміст окисленого глутатіону не змінюється відносно відповідних показників групи з остеоартрозом.

Показано, що у групі щурів з МІА-індукованим остеоартрозом в хрящовій тканині знижуються активності ферментів глутатіонової системи: ГЛП-на активність – в 1,8 раза, ГЛТ-на активність – в 1,7 раза, ГЛР-на активність в 2 рази відносно контролю. За даних експериментальних умов у хрящовій тканині вміст відновленого глутатіону знижується в 1,9 раза, а вміст окисленого зростає в 1,7 раза порівняно з контролем (табл. 8). Виявлено, що хондропртектор не впливає на рівень показників глутатіонової системи контрольних щурів. Після введення ХС тваринам з експериментальним ОА виявлено підвищення активностей ферментів глутатіонової системи: ГЛП-на та ГЛТ-на активності – в 1,4 раза, ГЛР-на активність – в 1,6 раза відносно показників щурів з остеоартрозом. При дії препарату на основі ХС у хрящовій тканині щурів з остеоартрозом вміст відновленого глутатіону підвищуться в 1,5 раза, вміст окисленого знижується в 1,3 раза відносно показників групи з остеоартрозом (табл. 8).

Таблиця 8

Показники глутатіонової системи у хрящовій тканині щурів при остеоартрозі (M ± m, n = 7)

Групи тварин / Показник	Контроль	Хондроїтина сульфат	Остеоартроз	Остеоартроз + хондроїтина сульфат
ГЛП-на активність, нмоль GSH×хв$^{-1}$ ×мг білка$^{-1}$	1,64 ± 1,15	11,23 ± 1,09	6,41 ± 0,62*	9,01 ± 0,83
ГЛТ-на активність, нмоль ×хв$^{-1}$ ×мг білка$^{-1}$	3,12 ± 0,28	2,97 ± 0,29	1,84 ± 0,17*	2,53 ± 0,22$^{\#}$
ГЛР-на активність, нмоль НАДФН×хв$^{-1}$ ×мг білка$^{-1}$	0,14 ± 0,01	0,15 ± 0,01	0,07 ± 0,01*	0,11 ± 0,01$^{\#}$
Глутатіон відновлений, нмоль ×мг білка$^{-1}$	7,21 ± 0,69	6,94 ± 0,68	3,84 ± 0,37*	5,76 ± 0,53$^{\#}$
Глутатіон окиснений, нмоль ×мг білка$^{-1}$	2,48 ± 0,23	2,41 ± 0,22	4,17 ± 0,39*	3,28 ± 0,31$^{\#}$

* – $p < 0,05$ – відносно контролю; # – $p < 0,05$ – відносно групи щурів з ОА

Таким чином, при МІА-індукованому остеоартрозі порушується антиоксидантний баланс у сироватці крові та хрящовій тканині, що свідчить про загальне послаблення антиоксидантної системи та неспроможність її компенсувати інтенсифікацію вільнорадикальних процесів за даних умов. При застосуванні препарату на основі хондроїтина сульфату біохімічні прояви окисного стресу стають менш вираженими, активності захисних систем відновлюються, що вказує на позитивний вплив препарату на окисно-відновний гомеостаз при МІА-індукованому остеоартрозі щурів.

Показники структурних компонентів хрящової тканини у щурів за умов експериментального остеоартрозу та при дії хондропротектора. Матрикс хрящової тканини складається, головним чином, з фібрил колагену ІІ типу, що перетинаються з колагеном ІХ типу, великих сульфатованих (в основному аггрекан) і дрібних протеогліканів, гіалуронової кислоти, катіонів і води. При остеоартрозі змінюється структура хрящової тканини, а наслідкові мутації генів цих компонентів призводять до порушення функцій суглобів. Тому в роботі було проведено аналіз експресії генів колагену ІІ та аггрекану. Встановлено, що у хрящовій тканині щурів з МІА-індукованим ОА рівень експресії мРНК гена *Col2a1* знижується в 4,1 раза ($p \leq 0,001$) відносно контролю (рис. 4). ХС не впливає на рівень експресії цього гена в хрящовій тканині контрольної групи. При введенні ХС у хрящовій тканині щурів з ОА рівень відповідної мРНК зростає в 3,3 ($p \leq 0,001$) раза відносно тварин з остеоартрозом.

Показано, що у хрящовій тканині рівень експресії гена *Acan* у тварин з МІА-індукованим остеоартрозом знижується в 2 раза ($p \leq 0,001$) порівняно з контролем

(рис. 4). ХС не впливає на рівень експресії цього гена в хрящовій тканині контрольної групи. При введенні препарату на основі ХС рівень відповідної мРНК зростає в 1,6 (p≤0,001) раза відносно тварин з остеоартрозом.

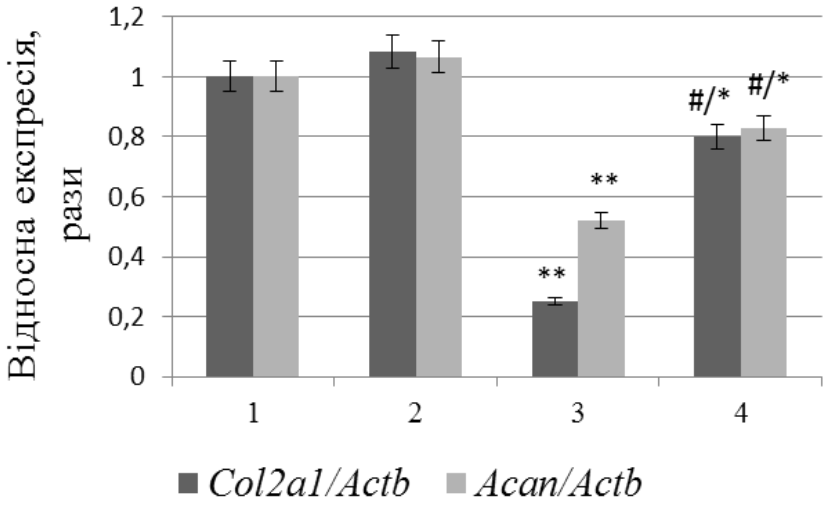

Рис. 4. Рівень експресії мРНК гена *Col2a1* та *Acan* у хрящовій тканині щурів при остеоартрозі (M ± m, n = 7): 1 – контроль; 2 – хондроїтина сульфат; 3 – остеоартроз; 4 – остеоартроз + хондроїтина сульфат

** – p ≤ 0,001, * – p ≤ 0,05 – відносно контролю; # - p ≤ 0,001 – відносно групи щурів з ОА

Отже, при МІА-індукованому остеоартрозі пригнічується експресія мРНК основного компоненту хряща – колагену ІІ типу та аггрекану, що узгоджується з гістологічними даними, на яких помічено деградацію міжклітинної речовини та втрату волокнами впорядкованого розташування. Хондроїтина сульфат як коректор метаболізму здатен відновлювати рівень експресії мРНК колагену ІІ типу та аггрекану в хрящах та покращувати стан суглобів при остеоартрозі.

ВИСНОВКИ

Отримані результати дослідження доповнюють існуючі на сьогодні уявлення щодо біохімічних механізмів розвитку пошкодження хрящової тканини колінного суглобу щурів за умов монойодацетат-індукованого остеоартрозу. Показано важливу роль окисного стресу у формуванні дегенеративно-дистрофічних змін у суглобі. Виявлено, що хондропротектор на основі хондроїтина сульфату проявляє антизапальну та антиоксидантну дію на організм щурів при монойодацетат-індукованому остеоартрозі.

1. Виявлено ознаки запалення із помірною лейкоцитарною інфільтрацією колінних суглобів щурів та показано зростання рівня молекул низької та середньої молекулярної маси, концентрації медіаторів запалення (ІЛ-1β, ФНП-α, простагландину Е2) при одночасному зростанні рівня протизапального цитокіну ІЛ-10 у сироватці крові та збільшення рівня експресії генів, залучених до розвитку запалення

(*Ptgs2, Nos2, Tgfb1*) у хрящовій тканині щурів при монойодацетат-індукованому остеоартрозі.

2. Показано інтенсифікацію вільнорадикальних процесів, а саме зростання вмісту супероксидного радикалу, перекису водню, продуктів перекисного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів, ТБК-активних сполук, шиффових основ) та окисної модифікації білків на фоні підвищення ксантиноксидазної активності у хрящовій тканині та сироватці крові щурів за умов остеоартрозу.

3. Виявлено порушення антиоксидантної системи у хрящовій тканині та в сироватці крові щурів при експериментальному остеоартрозі, а саме, в хрящовій тканині виявлено зростання супероксиддисмутазної та каталазної активностей в 4 та в 4,7 раза на фоні виснаження глутатіон-залежної ланки антиоксидантного захисту; в сироватці крові спотерігалося зниження супероксиддисмутазної активності в 1,6 раза та зростання каталазної активності в 1,6 раза на фоні пригнічення активності глутатіонової системи.

4. Показано зниження рівня експресії генів, що відповідають за будову хрящової тканини за умов остеоартрозу, а саме *Col2a1* – в 4,1 раза та *Acan* – в 2 рази порівняно з контролем.

5. Виявлено, що введення хондропротекторного препарату на основі хондроїтина сульфату призводить до зниження запалення, відновлення окисно-антиоксидантної рівноваги та регенерації хрящової тканини колінного суглобу щурів при монойодацетат-індукованому остеоартрозі.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дворщенко К, Берник О, Тіхова Є, Вовк А, Короткий О. Окисна модифікація білків сироватки крові щурів за умов експериментального запалення задньої кінцівки щурів. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. 2015;2(19):76-78. *(Особистий внесок здобувача – пошук джерел літератури по обраній темі дослідження, планування експерименту, дослідження окисної модифікації білків сироватки крові щурів, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку).*

2. Тіхова ЄВ, Берник ОО, Савчук ОМ, Дворщенко КО, Остапченко ЛІ. Інтенсивність вільнорадикальних процесів у хрящовій тканині щурів з колаген-індукованим артритом. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. 2016;2(21):27-30. (*Особистий внесок здобувача – пошук джерел літератури по обраній темі дослідження, планування експерименту, дослідження вільнорадикальних процесів у хрящовій тканині щурів, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку).*

3. Тіхова ЄВ, Дворщенко КО, Короткий ОГ, Верещака ВВ. Дія хондроїтинсульфату натрію на вільнорадикальні процеси у хрящовій тканині щурів при остеоартрозі. Scientific Journal «ScienceRise: Biological Science». 2017;4(7):26-30. *(Особистий внесок здобувача – пошук джерел літератури по обраній темі дослідження, планування експерименту, дослідження вільнорадикальних процесів у хрящовій тканині щурів, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку)*.

4. Tikhova Y, Dvorshchenko KO, Dranitsina AS, Grebinyk DM, Korotkyi OG. and Ostapchenko LI. Prooxidant-Antioxidant Status and PTGS2, NOS2 Genes

Expression In Rat Cartilage With Osteoarthritis And After The Treatment Of Chondroitin Sulfate. Research journal of pharmaceutical biological and chemical sciences. 2017;8(4):994-1001. *(Особистий внесок здобувача – пошук джерел літератури по обраній темі дослідження, планування експерименту, дослідження прооксидантно – антиоксидантного статусу в хрящах щурів, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку).*

5. Тіхова Є, Тимошенко М, Ковельська Ю, Дворщенко К. Стан глутатіонової системи у сироватці крові щурів при експериментальному артозі та при введенні хондроїтина сульфату. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Серія: Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2017;1(22):47-50. *(Особистий внесок здобувача – пошук джерел літератури по обраній темі дослідження, планування експерименту, дослідження стану глутатіонової системи сироватки крові щурів, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку).*

6. Тіхова ЄВ, Дворщенко КО, Короткий ОГ, Фалалєєва ТМ, Берегова Т.В. Стан суглобових хрящів при артрозі та після введення тест-зразка «Драстоп». Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. 2017;1(30):99-101. *(Особистий внесок здобувача – пошук джерел літератури по обраній темі дослідження, планування експерименту, аналіз отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку)*

7. Тіхова ЄВ, Ашпін МК, Воєйков АІ, Табурець ОВ, Дворщенко КО. Перекисне окиснення ліпідів у сироватці крові щурів при гострому запаленні у суглобах. В: XIII Міжнародна наукова конференція молодих науковців «Шевченківська весна 2015: Біологія». Київ: Київський національний університет імені Тараса Шевченка. 2015:22.

8. Тіхова ЄВ, Дворщенко КО, Ашпін МК, Воєйков АІ, Короткий ОГ, Остапченко Л.І. Дія хондропротектора на окисно-антиоксидантний баланс у сироватці крові за умов каррагінан-індукованого запалення задньої кінцівки щурів. В: Науково-практична конференція «Мультипробіотики в профілактиці та лікуванні найбільш поширених захворювань». Київ: Київський національний університет імені Тараса Шевченка. 2015:21.

9. Тіхова ЄВ, Берник ОО, Вовк АА, Проценко ЮА, Компанець ІВ, Дворщенко КО. Окисна модифікація білків сироватки крові щурів при гострому запаленні суглобів. В: Міжнародна міждисциплінарна наукова конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «Шевченківська весна 2016». Київ: Київський національний університет імені Тараса Шевченка. 2016:194-195.

10. Тіхова ЄВ, Вовк АА, Короткий ОГ, Дворщенко КО. Окисна модифікація білків у сироватці крові щурів при експериментальному артриті. В: XI Международная научно-практическая конференция «Фундаментальная и прикладная наука – 2016». Sheffield, Science and education ltd. 2016: 30-32.

11. Tikhova Y, Korotkyi O, Kovelska Y, Dvorshchenko K. Positive effect of chondroitin sulfate on prooxidant-antioxidant balance in rat cartilage tissue in the treatment of osteoarthritis. XIII міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології», 25 – 27 квітня 2017: матер.конф. Львів, Україна. 2017:73.

12. Тихова ЕВ, Ашпин НК, Короткий АГ, Дворщенко ЕА. Окислительная модификация белков в суставе крыс с коллаген- индуцированным артритом. XII Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Наука и образование - 2017». Астана. Евразийский национальный университет имени Л. Н. Гумилёва. 2017:104-1046.

13. Тіхова ЄВ, Ашпін МК, Короткий ОГ, Тимошенко МО. Дія хондропротекторного препарату на стан глутатіонової системи у сироватці крові щурів з експериментальним артрозом. IV Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів і молодих вчених «Іновації та перспективи сучасної медицини» BIMCO, 5 – 7 квітня, 2017: матер.конф. Чернівці, Україна. 2017:58.

14. Tikhova Y, Vovk A, Korotkyi O, Dranitsina A, Dvorshchenko K. Effect of chodroprotector on cartilage tissue repairing during experimental osteoarthritis in rats. In: Third Kyiv International Symposium Smooth Muscles Physiology, Biophysics & Pharmacology: from genes and molecules to functions, disorders and their novel treatment opportunities. Kyiv – Lutsk, Taras Shevchenko National University of Kyiv. 2017:74.

АНОТАЦІЯ

Тіхова Є.В. Біохімічні показники розвитку експериментального остеоартрозу щурів. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2018.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню біохімічних змін в сироватці крові та хрящовій тканині щурів з експериментальним монойодацетат-індукованим остеоартрозом та відновлювальних процесів у хрящі при дії хондропротектора. В ході роботи вперше було досліджено комплексне порушення окисно-антиоксидантного балансу в сироватці крові та хрящовій тканині, проведено аналіз експресії генів, пов’язаних зі структурою матриксу та розвитком окисного стресу, доведено відновлення біохімічних показників окиснення-відновлення хрящової тканини у щурів з монойодацетат-індукованим остеоартрозам після терапії хондроїтина сульфатом. В роботі було становлено позитивний вплив препарату на основі хондроїтина сульфату на вміст продуктів окиснення ліпідів, білків, рівень активних форм кисню, активність антиоксидантних систем та експресію мРНК генів, пов’язаних зі структурою матриксу та функціонуваннм клітин хрящової тканини.

Доведено ефективність застосування хондропротекторного препарату «Драстоп» для відновлення окисно-антиоксидантного гомеостазу хрящової тканини.

Ключові слова: остеоартроз, хондроїтина сульфат, вільнорадикальні процеси, антиоксидантна система.

АННОТАЦИЯ

Тихова Е.В. Биохимические показатели развития экспериментального остеоартроза крыс. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. – Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2018.

Диссертационная работа посвящена исследованию биохимических изменений в сыворотке крови и хрящевой ткани крыс с экспериментальным монойодацетатом-индуцированным остеоартрозом и восстановительных процессов в хряще при воздействии хондропротектора. В ходе работы впервые были исследованы комплексное нарушение окислительно-антиоксидантного баланса в сыворотке крови и хрящевой ткани, проведен анализ экспрессии генов, связанных со структурой матрикса и развитием окислительного стресса, доказано восстановления биохимических показателей окисления-восстановления хрящевой ткани у крыс с монойодацетатом-индуцированным остеоартроз после терапии хондроитина сульфатом. В работе было становлении положительное влияние препарата на основе хондроитина сульфата на содержание продуктов окисления липидов, белков, уровень активных форм кислорода, активность антиоксидантных систем и экспрессию мРНК генов, связанных со структурой матрикса и функционуваннм клеток хрящевой ткани.

Результаты диссертации могут быть использованы в практической травматологии.

Ключевые слова: остеоартроз, хондроитина сульфат, свободнорадикальные процессы, антиоксидантная система.

SUMMARY

Tikhova Ye.V. Biochemical indices of development of experimental osteoarthrosis of rats. - Manuscript.

A dissertation submitted to acquire the degree of Candidate of Science in Biology, specialty 03.00.04 – Biochemistry. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2018.

Among the disorders of the locomotor system, an important place is occupied by degenerative-dystrophic diseases of the joints, the main of which is osteoarthritis. Among the mechanisms of formation of osteoarthritis today is the development of oxidative stress in cartilage tissue and the general inflammatory aspect of the pathogenesis of this disease, which can lead to a disruption of the metabolism of connective tissue, inflammatory and degenerative changes in the cartilage. Scientific research on the relationship between the development of osteoarthritis and the state of oxidative-antioxidant balance in cartilage tissue are limited and fragmentary. In particular, a complex glutathione system, an oxidation modification of proteins and lipids in MIA-induced osteoarthritis in rats has not been investigated. Often, osteoarthritis affects the joints of the brush, the first plyusnefalangovy joint of the foot, joints of the cervical and lumbar spine, knee and hip joints. However, the severity of the disturbance of the musculoskeletal system occupy the first place in the hip, knee and ankle joints, as well as the shoulder joint. Thus, osteoarthritis is a group of diseases of the joints that manifest themselves as progressive cartilage tissue dystrophy followed by damage to the connective tissue and bone tissue, which leads to a gradual deterioration in the quality of life of the patients and their disability.

As drugs of symptomatic slow action most drugs are used on the basis of chondroitin sulfate and hyaluronic acid. Glucosamine preparations do not cause side effects from the cardiovascular system, and after the course of treatment, the analgesic effect persists, unlike the effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs.

To date, it has been established that dystrophic changes in cartilage tissue are associated with a decrease in the content of chondroitin sulfate, which is a natural component of the cartilage intercellular substance, along with hyaluronic acid and glucosamine sulfate. Chondroitin sulfate is a sulfated proteoglycan in which sulfate is covalently attached to the chondroitin molecule. It supports the elasticity and density of the cartilage. Therefore, the study of drugs based on chondroitin sulfate is promising in the prevention and treatment of joint diseases. Chondroprotectors based on chondroitin sulfate have been used in medicine for a long time, but the raw material for them is a mixture of chondroitin sulfate molecules of different lengths and variations in the position of sulfated groups, as well as different degree of purification, which causes different effects that need to be kept in mind when prescribing original drugs and generics.

The dissertation is devoted to the study of biochemical changes in blood serum and cartilage tissues of rats with experimental monoiodacetate induced osteoarthritis and restorative processes in cartilage under the action of chondroprotector. It was established that free radical processes are involved in the biochemical mechanisms of damaging the cartilage tissue of the knee joint of the rats under the conditions of monoiodacetate-induced osteoarthritis in the background of inflammation, which is manifested by the growth of the content of active forms of oxygen, xanthine oxidase activity, products of peroxidation of lipids and proteins against the background of an antioxidant defense (growth of superoxide dismutase and catalase activity, decrease of glutathione peroxidase, glutathione transferase, glutathione reductase active dren, reduced glutathione content and increased levels of oxidized glutathione). In the course of work for the first time complex disturbance of oxidative-antioxidant balance in serum of blood and cartilaginous tissue was investigated, an analysis of expression of genes related to the structure of the matrix and the development of oxidative stress was performed. The restoration of biochemical indices of oxidation-restoration of cartilage tissue in monoiodacetate-induced rats osteoarthritis after chondroitin sulfate therapy. The effect of the chondroitin sulfate preparation on the content of the lipid and protein oxidation products, the level of active forms of oxygen, the activity of antioxidant systems and the expression of mRNA genes associated with the matrix structure and the functioning of the cartilage tissue cell were positive.

The results of the work broaden the understanding of the molecular and biochemical mechanisms of lesion and restoration of the cartilage tissue of the knee joint under conditions of experimental osteoarthritis. The efficiency of the chondroprotective drug «Drastop» for the restoration of oxidative antioxidant homeostasis of cartilage tissue has been proved. The results of the dissertation can be used in practical traumatology and orthopedics and in the educational process during the preparation of students of biological and medical specialties.

Key words: osteoarthritis, chondroitin sulfate, free radical processes, antioxidant system.