

Белова С.В., Норкин И.А., Пучиньян Д.М.

Влияние биополимера хондроитинсульфата на репаративную регенерацию соединительной ткани

ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России, 410002, г.Саратов, ул. им. Н.Г. Чернышевского, 148

Цель исследования — изучение лечебного эффекта внутрисуставного способа введения препарата «муко-сат» с целью стимуляции процессов репаративной регенерации соединительной ткани коленных суставов у кроликов с экспериментальным артритом. Установлено, что внутрисуставное введение хондроитинсульфата (препарат «муко-сат») оказывает стимулирующее действие на процессы репаративной регенерации соединительной ткани, которое проявляется положительными изменениями в состоянии соединительноткан-ных элементов ткани суставов, снижением содержания гликозаминогликанов в сыворотке крови и нормализацией состава их углеводного компонента, что, вероятно, связано со стимуляцией биосинтеза собственных нормальных гликозаминогликанов в тканях коленных суставов животных.

Ключевые слова: соединительная ткань, репаративная регенерация, внутрисуставное введение, экспериментальный артрит, хондроитинсульфат

Belova S.V., Norkin I.A., Puchinyan D.M.

The effect of the biopolymer chondroitin sulfate on reparative regeneration of connective tissue

The research objective is a study of an intra-articular method of introduction of the preparation «mukosat» for stimulation of reparative regeneration of connective tissue of knee joints in rabbits with an experimental arthritis. It is ascertained that intra-articular introduction of chondroitin sulfate (the preparation «mukosat») acts as a stimulus for reparative regeneration of connective tissue thus showing up positive changes in the status of connective tissue elements of joints: decrease in glycosaminoglycan content in blood serum and normalization of the composition of glycosaminoglycan carbohydrate component. It probably depends on stimulation of biosynthesis of autologous normal glycosaminoglycans in tissues of animal knee joints.

Key words: connective tissue, reparative regeneration, intra-articular introduction, experimental arthritis, chondroitin sulfate

Воспалительно-деструктивные изменения в соединительной ткани суставов — основной патогенетический механизм ревматоидного артрита [1]. Как правило они обнаруживаются уже на ранней стадии активного синовита, до образования паннуса, являющегося морфологической основой тканевой деструкции [2, 3]. Прогрессирующие изменения в структуре соединительной ткани характеризуются нарушением обмена протеогликанов — функционально важных биополимеров ее экстрацеллюлярного матрикса [4, 5], деструкции нормальных гликозаминогликанов и нарушением их синтеза в фибробластах [6, 7].

В арсенале средств лечения больных ревматоидным артритом не последнее место занимает локальная

терапия. На фармацевтическом рынке широко представлены препараты, в состав которых входят компоненты соединительной ткани, в частности, гиалуроновая кислота, глюкозамин сульфат, хондроитинсульфат. К таким препаратам относится «муко-сат», действующим началом которого является биополимер хондроитинсульфат, введение последнего осуществляется внутримышечно. Принимая во внимание свойство хондроитинсульфата активировать метаболические процессы в соединительной ткани, представляется актуальным изучение действия внутрисуставного введения препарата, как способа непосредственного воздействия на пораженные аутоиммунным процессом суставные структуры.

Цель исследования — изучение внутрисуставного способа введения препарата «муко-сат» для стимуляции репаративной регенерации соединительной ткани коленных суставов у кроликов с экспериментальным артритом.

Для корреспонденции: Белова Светлана Вячеславовна, д.биол.н., ст. науч. сотр. отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований, e-mail: sarniito_bsv@mail.ru

Методика

Исследование проведено на 38 кроликах «Шиншила Русская» в стандартных условиях вивария. Кролики с экспериментальным артритом [8], были распределены на 3 группы: опытную (18 кроликов с внутрисуставным введением препарата «муколат» в дозе 0,1 мл один раз в 3 дня, общим курсом 5 инъекций), группу сравнения (10 кроликов с внутрисуставным введением 0,9%-ного раствора хлорида натрия в той же дозе и в те же сроки, что и препарат и контрольную группу из 10 интактных кроликов. В качестве биополимера хондроитинсульфата использовали лекарственный препарат «муколат», представляющий собой 10%-ный раствор хондроитинсульфата, естественного компонента соединительной ткани, который получают из трахеи хрящевой ткани крупного рогатого скота.

Оценивали общее состояние экспериментальных животных, определяли окружность и объем движений в обоих коленных суставах.

Локальные изменения в пораженных коленных суставах животных оценивали по уровню общего цитоза и качественному составу клеточных элементов суставного содержимого, метаболические — по общему содержанию гликозаминогликанов, рассчитываемому по уровню уроновых кислот и по гексоз в сыворотке крови [9].

Эффективность внутрисуставного введения препарата подтверждалась результатами гистоморфометрического исследования тканей коленных суставов (пе-

риартикулярные ткани, синовиальная оболочка, мениски, хрящ и субхондральная кость) с полуколичественной оценкой в баллах общепринятых признаков их поражения [10]. Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы «MedStat», предназначенной для обработки результатов медицинских и биологических наблюдений.

Эксперименты на животных проводили согласно рекомендациям Европейской конвенции по защите животных.

Результаты и обсуждение

Признаки экспериментального артрита у кроликов по клиническим и лабораторным характеристикам проявляли сходные свойства с ревматоидным артритом у людей. При клиническом обследовании отмечалось снижение аппетита и двигательной активности у опытных животных в сравнении с интактными, увеличение окружности пораженного коленного сустава.

В содержимом сустава с синовитом был повышен цитоз с негативными изменениями качественного состава клеточных элементов (табл. 1). В сыворотке крови было выявлено повышение содержания гликозаминогликанов (табл. 2).

Гистоморфометрические исследования показали утолщение и разрыхление синовиальной оболочки пораженных суставов с единичными точечными кровоизлияниями. Микроскопически у всех животных в синовиальной оболочке суставов наблюдалась очаговая пролифе-

Таблица 1

Общий цитоз и клеточный состав суставного содержимого коленных суставов кроликов ($M \pm m$)

Показатели	Интактные кролики (n = 10)	Кролики с артритом (n = 28)	Опытная группа (n = 18)	Группа сравнения (n = 10)
Цитоз, $\times 10^9/\text{л}$	0,15 \pm 0,01	2,21 \pm 0,09*	0,62 \pm 0,08**	2,30 \pm 0,06***
Нейтрофилы, частота встречаемости, %	9,51 \pm 0,11	42,13 \pm 0,84*	12,35 \pm 0,61**	46,40 \pm 0,52***
Лимфоциты, частота встречаемости, %	8,43 \pm 0,09	39,67 \pm 0,46*	12,88 \pm 0,52**	40,19 \pm 0,07***
Макрофаги, частота встречаемости, %	0	37,08 \pm 0,40*	0,91 \pm 0,06**	41,15 \pm 0,80***
Рагоцитоподобные клетки, частота встречаемости, %	0	30,21 \pm 0,54*	0,80 \pm 0,06**	32,87 \pm 0,68***

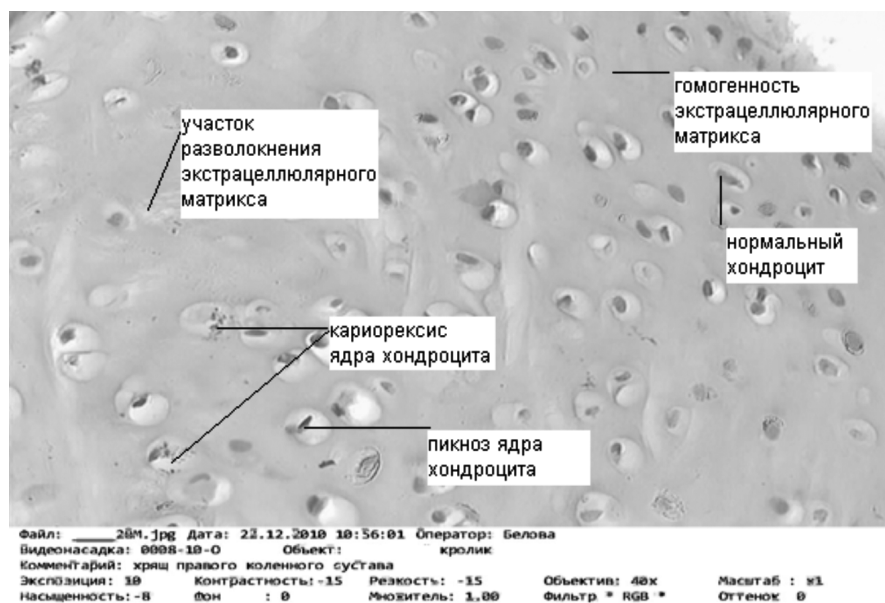
Примечание. * — значимая разница показателей между интактными кроликами и кроликами с экспериментальным артритом; ** — между кроликами с экспериментальным артритом до и после лечения; *** — между кроликами опытной группы и группы сравнения.

Таблица 2

Показатели метаболизма соединительной ткани в сыворотке крови у экспериментальных животных, ($M \pm m$)

Показатель	Интактные кролики (n = 10)	Кролики с артритом (n = 28)	Опытная группа (n = 18)	Группа сравнения (n = 10)
Гликозаминогликаны (уроновые кислоты, $\text{г} \times 10^{-2}/\text{л}$)	1,71 \pm 0,10	2,62 \pm 0,08*	1,93 \pm 0,08**	3,50 \pm 0,09***
Гликозаминогликаны (гексозы, $\text{г} \times 10^{-2}/\text{л}$)	2,58 \pm 0,11	4,18 \pm 0,09*	3,20 \pm 0,08**	4,45 \pm 0,09***

Примечание. В табл. 1 и 2: * — значимые различия между группами «интактные» и «экспериментальный артрит»; ** — «экспериментальный артрит» до и после лечения; *** — экспериментальный артрит: «опытная группа» и «группа сравнения».



Микрофото хряща коленного сустава кролика после внутрисуставных инъекций препарата «муколат». Окраска гематоксилином и эозином. Ув. об. 20, ок. 10.

рация синовиоцитов, у некоторых особей встречались участки с поверхностным некрозом и отложениями фибрина, отмечалась диффузная лимфоидно-гистиоцитарная и плазмоцитарная инфильтрация субинтимального слоя, с незначительным содержанием фибробластов. В менисках определялись единичные плазматические клетки, наблюдалась пролиферация фибробластов. На поверхности хряща имелись небольшие участки с разрыхленным и частично утраченным поверхностным слоем, хондроциты были в состоянии дистрофии, наблюдалась потеря биополимеров гликозаминогликанов. Субхондральная кость характеризовалась истончением субхондральной костной пластинки и трабекул, что свидетельствовало о потере костного вещества.

После окончания курса внутрисуставных инъекций препарата «муколат» отмечалось улучшение лабораторных показателей параллельно с нормализацией клинической картины заболевания. Был существенно снижен уровень цитоза в суставном содержимом, однако полной нормализации не отмечалось. Определение качественного состава клеточных элементов показало уменьшение количества нейтрофилов, лимфоцитов и макрофагов и отсутствие рагоцитоподобных клеток (табл. 1). В сыворотке крови определялось статистически значимое снижение содержания гликозаминогликанов (табл. 2).

Положительное влияние препарата на процессы репаративной регенерации соединительной ткани подтверждали данные гистоморфометрического исследования, которые показали, что макроскопически параартикулярные ткани не были изменены, при микроскопии обнаруживалась незначительная пролиферация пиронинофиль-

ных фибробластов. При макроскопическом исследовании определялось некоторое разрыхление синовиальной оболочки без кровоизлияний на её поверхности, при микроскопии выявлялась незначительная гиперплазия ворсин и пролиферация кроющих клеток, при этом имелись участки отложения фибрина, как на поверхности, так и между синовиоцитами. Мениски при макро- и микроскопии не были изменены. Суставной хрящ макроскопически имел нормальную структуру. При микроскопическом исследовании его поверхностный слой сохранялся, наблюдались единичные участки разрыхления и разволокнения. В ориентации зон нарушений не отмечалось. Упорядоченно расположенные хондроциты не имели признаков дистрофии. Субхондральная кость, как при макроскопическом, так и при микроскопическом исследовании без признаков патологии.

Полученные результаты свидетельствуют о слабо выраженных признаках неспецифического хронического продуктивного воспаления и подтверждают данные клинко-лабораторного исследования в плане терапевтической эффективности внутрисуставного введения препарата «муколат».

В группе сравнения у животных отмечалось ухудшение клинических проявлений заболевания и данных лабораторного исследования.

Известно, что клетки хрящевой ткани способны к интерстициальному росту. При этом происходит нарастание ткани хряща изнутри, что может обеспечить репаративную регенерацию поврежденных соединительнотканых структур суставного хряща. В данной работе изучалась возможность стимуляции репаративной регенерации соединительной ткани коленных суставов

у кроликов с экспериментальным артритом. Препарат «муколат» обладает способностью подавлять активность ферментов, участвовавших в деградации хрящевой ткани. В ходе проведения эксперимента было установлено регулирующее воздействие хондроитинсульфата на метаболизм соединительной ткани и, в частности, на обмен протеогликанов, что сопровождалось снижением содержания гликозаминогликанов в сыворотке крови и нормализацией состава их углеводного компонента.

Таким образом, внутрисуставное введение хондроитинсульфата (препарат «муколат») оказывал стимулирующее влияние на процессы репаративной регенерации соединительной ткани, что проявлялось положительными изменениями состояния соединительнотканых элементов суставов, вероятно, за счет активации биосинтеза собственных нормальных гликозаминогликанов в тканях коленных суставов животных.

Данные исследования положены в основу нового способа внутрисуставного введения хондроитинсульфата — препарата «муколат» в условиях экспериментального артрита у кроликов (Патент РФ №2347572).

Список литературы

1. Насонов Е.Л. Ранний ревматоидный артрит. *Медицинский вестник*. 2006; 13(356): 9-10.
2. Мазуров В.И., Лила А.М. Ранний артрит. Клиническая ревматология. *Руководство для врачей*. СПб.: Фолиант; 2005.
3. Brafee D.D., Pierre-Jerome C., Kettner N.W. Clinical and radiological manifestations of the rheumatoid wrist. A comprehensive review. *J. Manipul. Physiol. Ther.* 2003; 26 (5): 325-9.
4. Ершов К.И., Русова Т.В., Фаламеева О.В., Садовой М.А., Айзман Р.И. Протеогликаны плечевой кости крыс wistar разного возраста. *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2008; 6 (1): 21-5.
5. Русова Т.В., Рыкова В.И., Корель А.В., Зайдман А.М. Структура протеогликанов пластинки роста тел позвонков у больных идиопатическим сколиозом. *Бюллетень Сибирского отделения РАМН*. 2007; 1: 80-3.
6. Garcia S., Mera A., Gomez-Reino J.J., Conde C. Poly(ADP-ribose) polymerase suppression protects rheumatoid synovial fibroblasts from Fas-induced apoptosis. *Rheumatology*. 2009; 48(5): 483-9.
7. Noh E.M., Kim J.S., Hur H. et al. Cordycepin inhibits IL-1 β -induced MMP-1 and MMP-3 expression in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Rheumatology*. 2009; 48(1): 45-8.

8. Pettipher E.R., Henderson B., Moncada S. Higgs G.A. Leucocyte infiltration and cartilage proteoglycan loss in immune arthritis in the rabbit. *Br. J. Pharmacol.* 1988; 95: 169-76.

9. Карякина Е.В. Клиническое значение определения гликозаминогликанов сыворотки крови и синовиальной жидкости при ревматоидном артрите. *Вопр. ревматологии*. 1982; 4: 31-4.

10. Шехтер А.Б., Крель А.А., Ращупкин З.П. Оценка морфологических проявлений синовита у больных ревматоидным артритом. *Методические рекомендации*. М.; 1985.

Поступила 10.01.14

References

1. Nasonov E.L. Early rheumatoid arthritis. *Meditsinskiy vestnik*. 2006; 13(356): 9-10. (in Russian)
2. Mazurov V.I., Lila A.M. Early arthritis. Clinical rheumatology. [Ranniy artrit. Klinicheskaya revmatologiya]. *Rukovodstvo dlya vrachey*. SPb.: Foliant; 2005. (in Russian)
3. Brafee D.D., Pierre-Jerome C., Kettner N.W. Clinical and radiological manifestations of the rheumatoid wrist. A comprehensive review. *J. Manipul. Physiol. Ther.* 2003; 26 (5): 325-9.
4. Ershov K.I., Rusova T.V., Falameeva O.V., Sadovoy M.A., Ayzman R.I. Proteoglycans of a humeral bone of rats of wistar of different age. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya medicina*. 2008; 6 (1): 21-5. (in Russian)
5. Rusova T.V., Rykova V.I., Korel' A.V., Zaydman A.M. Structure of proteoglycans of a plate of growth of bodies of vertebrae at patients with idiopathic scoliosis. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya RAMN*. 2007; 1: 80-3. (in Russian)
6. Garcia S., Mera A., Gomez-Reino J.J., Conde C. Poly(ADP-ribose) polymerase suppression protects rheumatoid synovial fibroblasts from Fas-induced apoptosis. *Rheumatology*. 2009; 48(5): 483-9.
7. Noh E.M., Kim J.S., Hur H., Park B.H., Song E.K., Hon M.K. et al. Cordycepin inhibits IL-1 β -induced MMP-1 and MMP-3 expression in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Rheumatology*. 2009; 48(1): 45-8.
8. Pettipher E.R., Henderson B., Moncada S. Higgs G.A. Leucocyte infiltration and cartilage proteoglycan loss in immune arthritis in the rabbit. *Br. J. Pharmacol.* 1988; 95: 169-76.
9. Karyakina E.V. Clinical value of definition of glycosaminoglycan of serum of blood and synovia liquid at rheumatoid arthritis. *Vopr. revmatologii*. 1982; 4: 31-4. (in Russian)
10. Shekhter A.B., Krel' A.A., Rashchupkin Z.P. Estimation of morphological manifestations of a synovitis at patients with rheumatoid arthritis. [Otsenka morfologicheskikh proyavleniy sinovita u bolnykh revmatoidnym artritom] *Metodicheskie rekomendatsii*. M.; 1985. (in Russian)

Received 10.01.14

Сведения об авторах:

Норкин Игорь Алексеевич, д.м.н., проф., директор ФГБУ «СарНИИТО»

Пучиньян Даниил Миронович, д.м.н., проф., и.о. гл. науч. сотр. отдела фундаментальных и клинико-экспериментальных исследований