

**КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ
И МЕТАБОЛИЗМА КОЛЛАГЕНА
ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ АРТРИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

Шутова М.И.¹, Козлов С.А.¹, Захватов А.Н.¹, Кузнецов С.И.¹

¹ ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», медицинский институт, Саранск, Россия (430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевистская, 68), e-mail: dep-general@adm.mrsu.ru

В ходе исследования изучено влияние мексидола и нимулида на процессы липопероксидации и метаболизма коллагена в динамике развития экспериментального посттравматического артрита. При посттравматическом артрите в эксперименте наблюдается повышение уровня продуктов перекисного окисления липидов, оказывающих токсическое действие на ткани сустава, способствуя усилению реактивного воспалительного ответа в травмированном суставе, нарушается метаболизм коллагена с преобладанием избыточного фибриллогенеза, что сопровождается увеличением содержания всех фракций оксипролина в плазме крови лабораторных животных. Установлено, что комбинированное применение внутрисуставной антиоксидантной и пероральной нестероидной противовоспалительной терапии стимулирует антиоксидантную защиту в тканях сустава, снижает содержание продуктов липопероксидации, оказывает положительное влияние на метаболический оборот коллагена, препятствуя развитию дегенеративно-дистрофических процессов.

Ключевые слова: мексидол, нимулид, посттравматический артрит, оксипролин.

**CORRECTION OF THE LIPID PEROXIDATION AND METABOLISM OF COLLAGEN
IN POST-TRAUMATIC ARTHRITIS IN THE EXPERIMENT**

Shutova M.I.¹, Kozlov S.A.¹, Zachvatov A.N.¹, Kuznecov S.I.¹

N. P. Ogarev's Mordovian State University, medical institute, Saransk, Russia (430005 Russia, Republic Mordovia, Saransk of street Bolshevik, 68), e-mail: dep-general@adm.mrsu.ru

In the course of the study the effect of mexidol and nimulid on the processes of lipid peroxidation and metabolism of collagen in the dynamics of the development of experimental post-traumatic arthritis. In post-traumatic arthritis in the experiment, an increase in the level of lipid peroxidation products, providing a toxic effect on the fabric of the joint, to enhance reactive inflammatory response in traumatized joint, disturbed metabolism of collagen with a predominance of excess fibrillogenesis, which is accompanied by an increase in content of all factions of hydroxyproline in the plasma of blood of laboratory animals. It is established that a combined application of intraarticular antioxidant and oral nonsteroidal anti-inflammatory stimulates the antioxidant protection in the tissues of the joints, reduces the content of lipid peroxidation products, has a positive effect on metabolic turnover of collagen, impeding the development of degenerative-dystrophic processes.

Key words: mexidol, nimulid, post-traumatic arthritis, hydroxyproline.

Введение

Посттравматические артрозо-артриты являются актуальной проблемой в современной травматологии и ортопедии в связи с высокой частотой инвалидизации пострадавших [6]. Высокой распространенности заболевания способствуют объективные факторы, ведущие к раннему развитию деструктивно-дистрофических процессов в суставе. В отличие от повреждений других частей тела для суставной травмы характерно наличие процессов,

ограниченных полостью сустава. Этот вариант внутрисуставного воспаления имеет общие признаки с другими острыми воспалительными процессами в полостях организма (перитонит, плеврит и др.), но и существенно отличается от них не только в силу функциональных способностей клеток, участвующих в реакции, но и вследствие ограничений, накладываемых механической ригидностью тканей [2]. Наличие такого пространственного фактора, образующего определенную «буферную» зону в период повреждения и репарации, является одной из принципиальных характеристик внутрисуставного посттравматического воспалительного процесса, предрасполагая к переходу его в хроническую форму [7].

В последнее время большая роль в развитии посттравматических артрозо-артритов отводится активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), продукты которого участвуют в формировании деструктивных изменений всех компонентов сустава [4; 9]. При этом патогенетически обоснованный подход к профилактике посттравматического остеоартроза, предполагающий воздействие на механизмы липопероксидации, в настоящее время отсутствует. В этом плане наше внимание привлек препарат мексидол из группы синтетических антиоксидантов – производных 3-оксипиридина [1].

Учитывая приведенные данные, можно предположить, что использование мексидола станет одним из перспективных путей профилактики деструктивно-дистрофических изменений суставов после их травмы.

Цель исследования: изучить влияние внутрисуставного введения мексидола и перорального применения нестероидных противовоспалительных препаратов на процессы липопероксидации и обмена коллагена при посттравматическом артрите в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 125 белых нелинейных крысах обоего пола массой 180-200 г, содержащихся в стандартных условиях вивария МГУ им. Н.П. Огарева. Экспериментальные исследования проведены в соответствии с правилами лабораторной практики (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 г. № 267), одобрены Локальным этическим комитетом медицинского института МГУ им. Н.П. Огарева. Животные были разделены на 5 серий. I серию составили интактные животные (15 крыс). Во II – контрольной серии, составленной из 30 крыс, в III, IV и V опытных сериях (по 25, 27 и 28 крыс) моделировали повреждение коленного сустава механическим путем. Во II контрольной серии проводилось внутрисуставное введение 0,2 мл физиологического раствора через день. Животным III серии, начиная со дня моделирования травмы, проводился курс лечения нимулидом (нимесулид) через зонд в среднетерапевтической дозе 2 мг/кг ежедневно в течение 10 дней. В IV серии выполнялось внутрисуставное введение антиоксиданта мексидола в дозе 5 мг/кг в

0,2 мл изотонического раствора хлорида натрия через день. Курс лечения составлял 5 инъекций. На животных V серии изучалось комбинированное влияние нимулида в дозе 2 мг/кг и внутрисуставного введения мексидола в дозе 5 мг/кг по указанной выше схеме введения. Повреждение коленных суставов моделировали механическим способом в модификации Г.М. Дубровина и соавторов (удостоверение на рац. предложение № 1628 от 21.09.2004) [3]. Под эфирным наркозом в асептических условиях рассекали кожу, фасцию и капсулу сустава. В полость сустава вводили иглу Дюфо, обточенную под углом 90° и ориентированную на хрящ внутреннего мыщелка бедренной кости. Ввинчивающими движениями перфорировали суставной хрящ до упора в субхондральную кость, затем иглу удаляли. Получение фрагмента суставного хряща контролировали мандреном. Швы на рану накладывали через все слои.

Исследования проводили на 3 и 28 сутки лечения. В динамике опыта животных забивали путем декапитации после предварительного внутрибрюшинного введения раствора тиопентала натрия в дозе 100 мг/кг.

Оценку интенсивности перекисного окисления липидов проводили по накоплению в плазме крови и гомогенатах из суставного хряща вторичного продукта липопероксидации – малонового диальдегида (МДА) при спонтанной и железоиндуцированной (Fe-МДА) липопероксидации. О состоянии антиоксидантной защиты судили по активности в плазме крови и гомогенатах каталазы, инактивирующей перекиси водорода [5].

Состояние обмена коллагена в плазме крови оценивали по содержанию свободного (СО), пептидосвязанного (ПСО) и белковосвязанного оксипролина (БСО) по методу П.Н. Шараева (1990) с использованием парадиметиламинобензальдегида [8].

Полученные результаты подвергнуты стандартной статистической обработке с использованием программ Microsoft Excel 2007 с вычислением средней арифметической – М и ошибки – m. Для сравнения контрольных и исследуемых групп определяли коэффициент достоверности Стьюдента – t. Изменения считали достоверными, если p меньше 0,05 (0,01; 0,001).

Результаты исследования и их обсуждение

При развитии посттравматического артрита на 3-и сутки эксперимента в плазме крови лабораторных животных отмечалось как повышение процессов липопероксидации, так и активация ферментативного звена антиоксидантной системы. Уровни МДА и Fe-МДА выросли в среднем в 2,2 раза. На фоне увеличения концентрации свободнорадикальных продуктов наблюдалось увеличение активности каталазы плазмы в среднем в 2 раза относительно показателей у интактных животных. При оценке процессов ПОЛ на 28-е сутки в контрольной серии наблюдалось недостоверное снижение показателей вторичных

продуктов липопероксидации по сравнению с данными, полученными на 3-и сутки ($p > 0,05$). Уровень же каталазы к концу эксперимента достоверно снижался на 29% ($p < 0,001$) по отношению к показателям 3-х суток контроля.

В тканях сустава наблюдалось истощение ферментов антиокислительной защиты на фоне гиперактивации свободнорадикальных реакций. Так, на 3-и сутки эксперимента отмечалось увеличение содержания МДА и Fe-МДА на 59 и 54% ($p < 0,001$) соответственно относительно показателей интактных животных. Активность каталазы в хрящевой ткани на 3-и сутки эксперимента снижалась на 17% ($p < 0,001$). Хотя в ходе эксперимента уровни продуктов ПОЛ недостоверно снижались, к 28-м суткам они были выше показателей интактных в среднем в 2 раза. Каталазная активность к концу эксперимента составила $0,068 \pm \text{мккат/с}\cdot\text{л}$, что на 45,2% ($p < 0,001$) ниже показателя 3-х суток. Мексидол при внутрисуставном введении и нимулид при пероральном введении достоверно не повлияли на системные показатели оксидантно-антиоксидантой системы (статистически значимых изменений не выявлено). Полученные изменения можно трактовать как реакцию организма на травму. Хотя на фоне лечения темпы снижения продуктов ПОЛ и каталазы выравнивались, не происходило дальнейшего снижения активности каталазы, в то время как уровни МДА и Fe-МДА уменьшались.

В тканях сустава на фоне терапии нимулидом наблюдались следующие изменения. На 3-и сутки эксперимента происходило достоверное снижение уровней МДА и Fe-МДА на 19 и 23,3% ($p < 0,001$) относительно показателей контрольной серии. К концу эксперимента их концентрации снизились на 21,8% ($p_1 < 0,05$) и 22,6% ($p_1 < 0,05$) соответственно по отношению к серии контроля в эти же сроки. Отмечен недостоверный рост активности каталазы на протяжении эксперимента по отношению к контролю в эти же сроки (рис. 1).

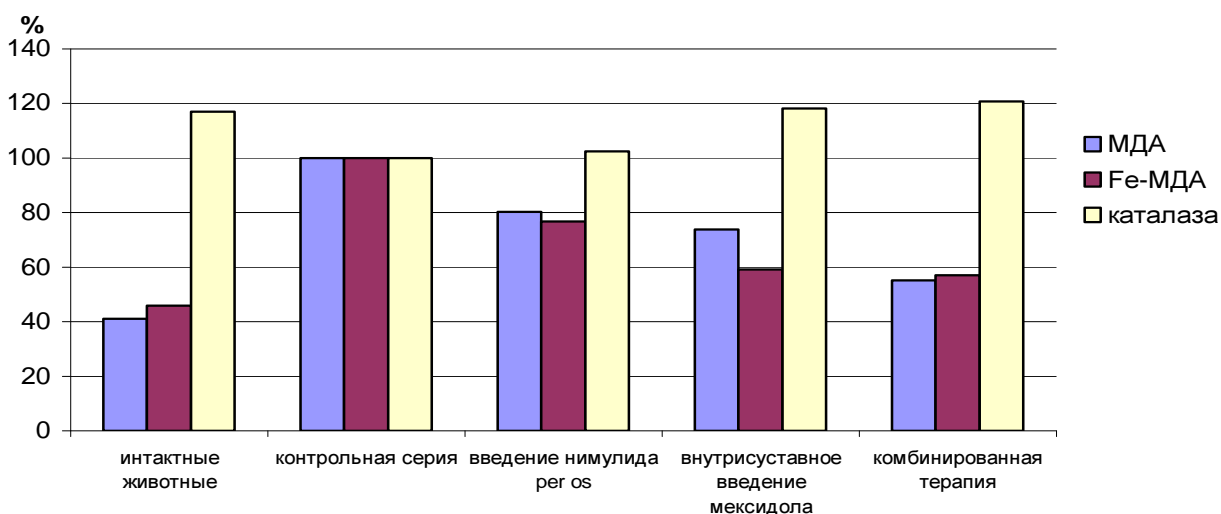


Рис. 1. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в гомогенатах хрящевой ткани на 3-и сутки эксперимента.

При внутрисуставном введении мексидола на 3-и сутки содержание МДА в гомогенатах ткани хряща снижалось на 26,2% ($p < 0,01$), Fe-МДА – на 40,9% ($p < 0,05$) по отношению к данным контрольной серии. Прирост каталазной активности составил 18,3% ($p < 0,05$). На 28-е сутки уровень МДА снизился на 40,6% ($p < 0,001$), Fe-МДА – на 43,9% ($p < 0,001$) по сравнению с данными контрольной серии в эти же сроки. Показатель активности каталазы увеличился на 14,3% ($p < 0,001$).

При комбинированной терапии на 3-и сутки эксперимента происходило снижение содержания продуктов ПОЛ – МДА и Fe-МДА на 44,8 и 43% ($p < 0,001$), отмечался рост активности каталазы на 20,8% ($p < 0,001$) по отношению к данным контрольной серии. К концу эксперимента уровни МДА и Fe-МДА продолжали снижаться и оказались на 46,7 и 50,2% ($p < 0,001$) меньше показателей соответствующих суток контрольной серии. Прирост каталазной активности составил 12,4% ($p < 0,05$) (рис. 2).

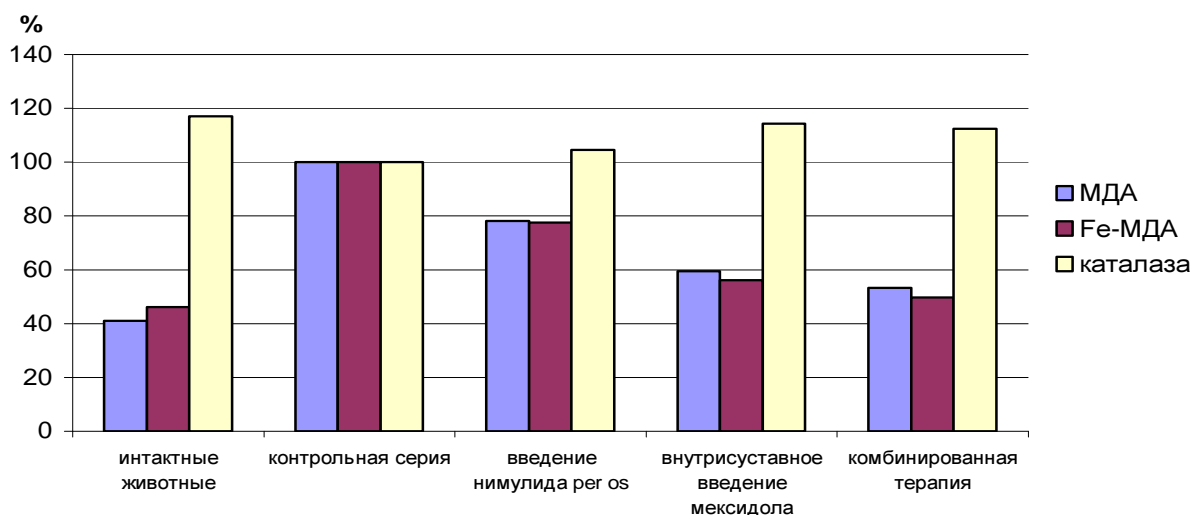


Рис. 2. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в гомогенатах хрящевой ткани на 28-е сутки эксперимента.

Важно отметить, что при сравнении данных, полученных при комбинированной терапии и внутрисуставной антиоксидантной терапии на 28-е сутки эксперимента, достоверных отличий не обнаружено. Это можно объяснить тем, что коррекция процессов липопероксидации и антиоксидантной защиты осуществляется за счет антиоксидантного действия мексидола.

При исследовании обмена коллагена выявлено нарушение его метаболического оборота. Отмечалось значительное увеличение содержания СО и ПСО соответственно в 2,3 и 2 раза ($p < 0,001$) по сравнению с интактными животными. Достоверных изменений содержания БСО не происходило. К 28-м суткам происходило незначительное снижение содержания в крови лабораторных животных II серии СО на 9,6% ($p > 0,05$) по отношению к показателю 3-х суток. Уровень ПСО и БСО к 28-м суткам увеличился в 2,7 ($p_1 < 0,001$) и 2,4 раза ($p < 0,001$)

соответственно по сравнению с аналогичными показателями на 3-и сутки, что связано, по-видимому, с продолжающейся избыточной пролиферацией соединительной ткани и развитием субхондрального склероза сустава.

На фоне нестероидной противовоспалительной терапии нимулидом выявлено повышение в сыворотке крови уровня ПСО на 23,2% ($p < 0,05$), содержание свободной и белковосвязанной фракций оксипролина достоверно не изменялось (рис. 3).

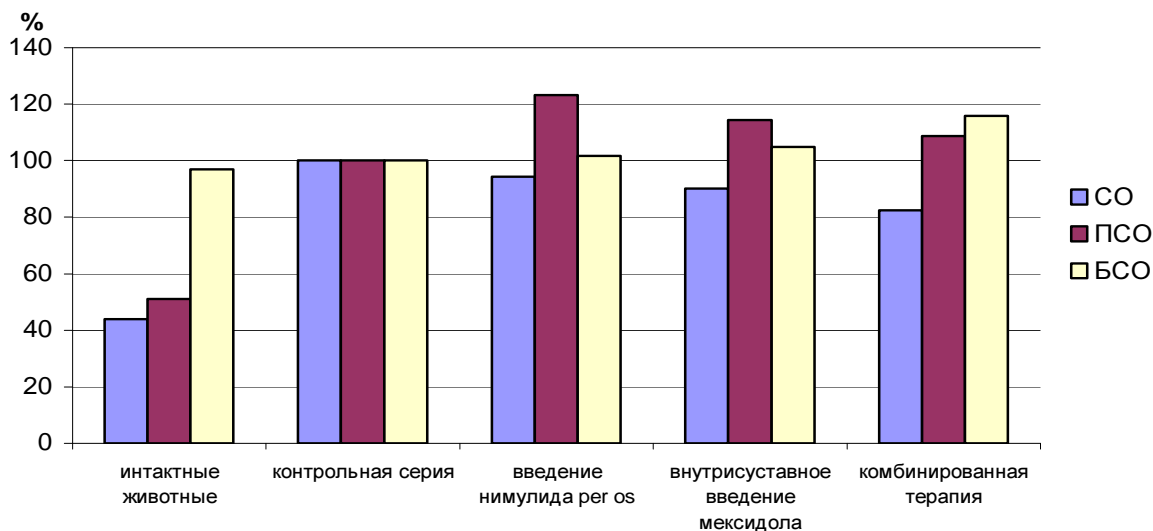


Рис. 3. Содержание фракций оксипролина в плазме крови на 3-и сутки эксперимента.

На 28-е сутки применения нимулида уровень СО относительно данных контрольной серии в те же сроки уменьшился на 19,5% ($p < 0,001$). Применение нестероидного противовоспалительного средства позволило ограничить рост ПСО относительно данных контрольной серии на 47,8% ($p < 0,001$). Уровень БСО повысился, но оказался на 35,2% ($p < 0,001$) меньше уровня контрольной серии.

При внутрисуставном введении мексидола на 3-и сутки содержание СО плазмы крови снижалось на 9% ($p > 0,05$) по отношению к данным контрольной серии. К 28-м суткам отмечалось дальнейшее падение этого показателя на 36% ($p < 0,001$) относительно данных контрольной серии, свидетельствуя об уменьшении деструкции коллагеновых структур тканей сустава. Также произошло снижение ПСО на 67% по сравнению с показателем контрольной серии. Уровень БСО в начале эксперимента достоверно не отличался от показателя контрольной серии, на 28-е сутки его содержание было меньше контрольных данных на 43% ($p > 0,001$).

Комбинированное применение нимулида и мексидола оказывало наиболее выраженный эффект: на 3-и сутки наблюдалось достоверное снижение показателя деструкции коллагена – СО на 17,5% ($p < 0,001$) относительно 3-х суток контроля и происходил рост БСО на 17%

($p < 0,05$), отражающего анаболические процессы в обмене коллагена. Содержание ПСО достоверно не изменялось ($p > 0,05$). На 28-е сутки эксперимента отмечалось дальнейшее снижение свободного оксипролина на 44,2% ($p < 0,001$), ПСО на 75%, БСО на 53,6% соответственно относительно контрольной серии в соответствующие сроки (рис. 4).

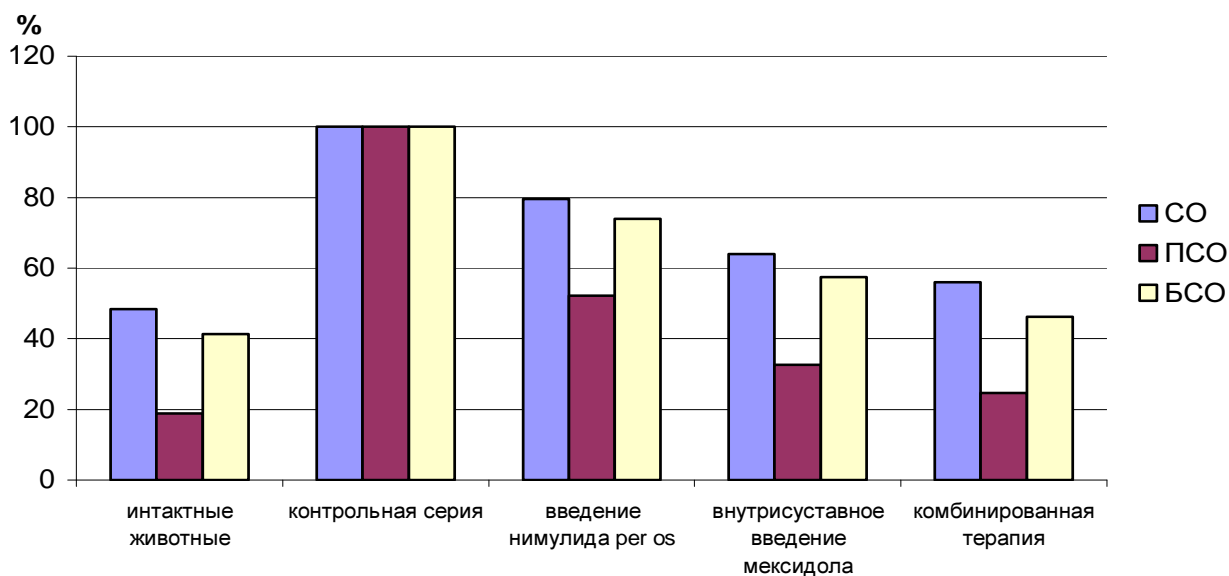


Рис. 4. Содержание фракций оксипролина в плазме крови на 28-е сутки эксперимента.

При посттравматическом артрите в эксперименте в тканях сустава происходит увеличение интенсивности свободнорадикальных реакций на фоне истощения ферментативного звена антиоксидантной системы. Процессы перекисного окисления липидов участвуют в разрушении внеклеточного матрикса, одновременно усиливая синтез его волокон, что проявляется увеличением содержания СО, ПСО и БСО, являющихся продуктами деградации биополимеров соединительной ткани.

Эти изменения связаны с тем, что внеклеточный матрикс суставного хряща обеднен ферментами антиокислительной защиты, этих ферментов в соединительной ткани в несколько раз меньше, чем в других клетках организма. Из этого следует, что при прочих равных условиях клетки соединительной ткани менее устойчивы к кислородной нагрузке, чем другие клетки организма. Такой активности ферментов антиокислительной защиты, по-видимому, вполне достаточно для нормального транспорта кислорода и кровообращения, но при морфофункциональных перестройках ткани слабая защищенность клеток от кислородной нагрузки может стать одной из причин развития неконтролируемого свободнорадикального окисления, а при травме сустава в первую очередь происходит нарушение микроциркуляции, гипоксические расстройства, создающие предпосылки для

активации свободнорадикальных процессов, вызывающих окислительную деструкцию компонентов внеклеточного матрикса и повреждение соединительной ткани.

Выводы. Посттравматический артрит в эксперименте сопровождается интенсификацией свободнорадикальных реакций и истощением ферментативного звена антиоксидантной системы. Процессы перекисного окисления липидов приводят к разрушению некоторых компонентов внеклеточного матрикса, одновременно усиливая синтез патологических коллагеновых волокон, что проявляется увеличением содержания СО, ПСО и БСО, являющихся продуктами деградации биополимеров соединительной ткани.

Комбинированное применение внутрисуставной антиоксидантной и пероральной нестероидной противовоспалительной терапии стимулирует антиоксидантную защиту в тканях сустава, снижает содержание продуктов липопероксидации, оказывает положительное влияние на метаболический оборот коллагена, препятствуя развитию деструктивно-дистрофических процессов.

Список литературы

1. Воронина Т.А. Отечественный препарат нового поколения мексидол, основные эффекты, механизм действия, применение // Москва. – 2003. – С. 5–8.
2. Герасимов А.М. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии / А.М. Герасимов, Л.Н. Фурцева – М. : Медицина, 1986. – С. 122–136.
3. Дубровин Г.М. Обоснование применения миелопида для профилактики посттравматического остеоартроза (экспериментальное исследование) / Г.М. Дубровин, Ю.А. Блинков, С.В. Нетяга, А.А. Нетяга // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2005. – № 2. – С. 60–62.
4. Коваленко В.Н., Борткевич О.П. Остеоартроз: практическое руководство. – Киев : Морион, 2003. – С. 85–124.
5. Конюхова С.Г. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / С.Г. Конюхова, А.А. Маркин, Т.Н. Федорова // Лабораторное дело. – 1989. – № 9. – С. 40–46.
6. Насонова В.А., Фоломеева О.М. Медико-социальные проблемы хронических заболеваний суставов и позвоночника // Терапевтический архив. – 2000. – № 5. – С. 5–8.
7. Павлова В.Н., Копьева Т.Н., Павлов Г.Г. Хрящ. – М. : Медицина, 1988. – С. 225–292.
8. Шараев П.Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1990. – № 5. – С. 283–285.

9. Pinchuk L.S. Tribology and biophysics of artificial joints / L.S. Pinchuk, K.I. Nicolaev, V.A. Goldade // London Health sciences Centre. – 2006. – P. 18–20.

Рецензенты:

Блинов Д.С., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общественного здоровья и здравоохранения ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева», г. Саранск.

Федосейкин И.В., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии с курсами травматологии и ортопедии и глазных болезней медицинского института ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева» г. Саранск.