



УДК 616.72-018.3:615.361.018.5.013.8

© 2009

А. К. Гулевский, академик НАН Украины **В. И. Грищенко**,
Е. Г. Иванов

Эффект стимуляции метаболизма в хрящевой ткани после механической травмы под влиянием низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови

Досліджено вплив низькомолекулярної фракції (до 5 кДа) кордової крові (ФКК) на метаболізм полісахаридних компонентів матриксу та білків сполучної тканини хряща після механічної травми. Встановлено, що внутрішньом'язове введення ФКК значно стимулює накопичення у регенераті хряща основних компонентів матриксу: гексозаміну, гексуранових кислот, гіалуронової кислоти, хондроїтинсульфатів та гепарину, а також найважливіших структурних білків.

В настоящее время установлено, что скорость репаративной регенерации хрящевой ткани определяется интенсивностью протекающих в ней процессов метаболизма [1–3]. Однако при прочих равных условиях, она прежде всего зависит от метаболизма полисахаридных элементов матрикса и соединительнотканых белков, формирующих остов хрящевой ткани [3, 4]. В качестве препаратов, стимулирующих метаболизм вышеуказанных компонентов хрящевой ткани, в современной медицине чаще всего используются хондропротекторы, такие как глюкозамин гидрохлорид, хондроксид, терафлекс, афлутоп, полученные из хрящевой ткани [5–7]. На наш взгляд, не менее перспективными в комплексном лечении травмы хряща являются препараты, полученные из других природных источников, в частности, из кордовой крови, которая обладает огромным биологическим потенциалом, обусловленным специфическим набором биомолекул, способных поддерживать и активировать клеточный метаболизм, а также их сбалансированностью [8–10]. В этом плане наиболее интересным является изучение активности низкомолекулярной (до 5 кДа) фракции, выделенной из криогемолізата кордовой крови коров (ФКК), которая, по аналогии с уже известными препаратами актовегином и солкосерилом, полученными из онтогенетически близкого источника — крови молочных телят, может обладать выраженной биологической активностью.

В связи с вышеизложенным целью нашего исследования являлось изучение влияния низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) кордовой крови коров на метаболизм полисахаридных компонентов матрикса и белков соединительной ткани хряща после механической травмы.

Материалы и методы. Выделение фракции с компонентами молекулярной массы до 5 кДа из кордовой крови крупного рогатого скота осуществлялось по методу [10]. Исследование выполнено на 45 крысах-самцах линии Vistar массой 290–310 г. Контрольными сроками эксперимента были приняты 7, 14, 21 и 28-е сутки с момента моделирования механического повреждения хряща коленного сустава. 45 животных были разделены на три группы: здоровые животные; животные, не получавшие лечения (контроль), и экспериментальные животные, которым в течение 21 сут вводили ФКК в дозе 1,17 мг на 100 г массы тела.

Механическое повреждение хряща осуществляли наконечником бормашины. Размер отверстия в хряще составлял 4 мм вглубь и 0,7 мм в диаметре. Проведена оценка состояния синтеза следующих гликозаминогликановых и протеогликановых компонентов по соответствующим методам: гексозамина [11], гексуроновых кислот [12], оксипролина [13], гиалуроновой кислоты, гепарина и хондроитинсульфатов (гликозаминогликаны), а также тирозина [3]. Данные статистически обрабатывали в программе Microsoft excel 2003 по критерию Манна-Уитни [14].

Результаты исследований и их обсуждение. Как известно, интенсивность регенерации хряща во многом определяется активностью хондроцитов, синтезирующих компоненты его матрикса: гексозамин, гексуроновые кислоты, гиалуроновая кислота, гепарин и хондроитинсульфаты, а также активностью фибробластов, синтезирующих соединительнотканые элементы регенерата хряща [2–4, 15].

Сравнение динамики накопления в регенерате хряща гликозаминогликановых компонентов — гепарина, хондроитинсульфатов и гиалуроновой кислоты, показало, что под влиянием ФКК происходит существенная стимуляция синтеза этих компонентов хряща (рис. 1, а, б). Нормализация содержания хондроитинсульфатов и гиалуроновой кислоты наблюдается уже к 28-м суткам, в то время как у животных, которым вводили физиологический раствор, данный показатель к этому сроку регенерации ниже в 3,5 и в 5,8 раза соответственно. Эффект ФКК относительно содержания гепарина менее значителен, но и в этом случае во все сроки эксперимента его содержание у животных опытной группы в среднем в 1,9 раза выше, чем у животных, не получавших лечения (см. рис. 1, в).

Сходная картина имела место относительно динамики накопления протеогликановых компонентов хряща. Согласно полученным данным (рис. 2, а) у животных, получавших инъекции ФКК, содержание гексозамина в регенерате хряща уже на 7-е сутки эксперимента достоверно не отличается от такового в хряще здоровых животных, а на 28-е сутки количество этого компонента в хрящевой ткани даже достоверно выше, чем у здоровых животных. В то же время у животных, не получавших лечения, содержание гексозамина в регенерате хряща ниже, чем в хряще здоровых животных: на 7-е и 14-е сутки регенерации в 3,1 и 3,3 раза, а на 21-е и 28-е сутки — в 1,8 и 1,7 раза соответственно.

Динамика накопления гексуроновых кислот (см. рис. 2, б) в регенерате хряща животных, получавших инъекции ФКК, также значительно лучше, чем у животных, не получавших лечения. На протяжении всего периода исследования содержание гексуроновых кислот в опытной группе в 2,5 раза выше, чем у животных контрольной группы. Хотя следует отметить, что этот показатель на протяжении всего эксперимента, включая 28-е сутки после травмы хряща, даже у животных, получавших лечение ФКК, в 1,2 раза ниже, чем в хрящевой ткани здоровых животных.

Для полноценного формирования хрящевой ткани чрезвычайно важен синтез белковых компонентов, в частности, коллагеновых и неколлагеновых белков. Этот процесс можно оценить по содержанию соответственно оксипролина и тирозина в щелочном гидролиза-

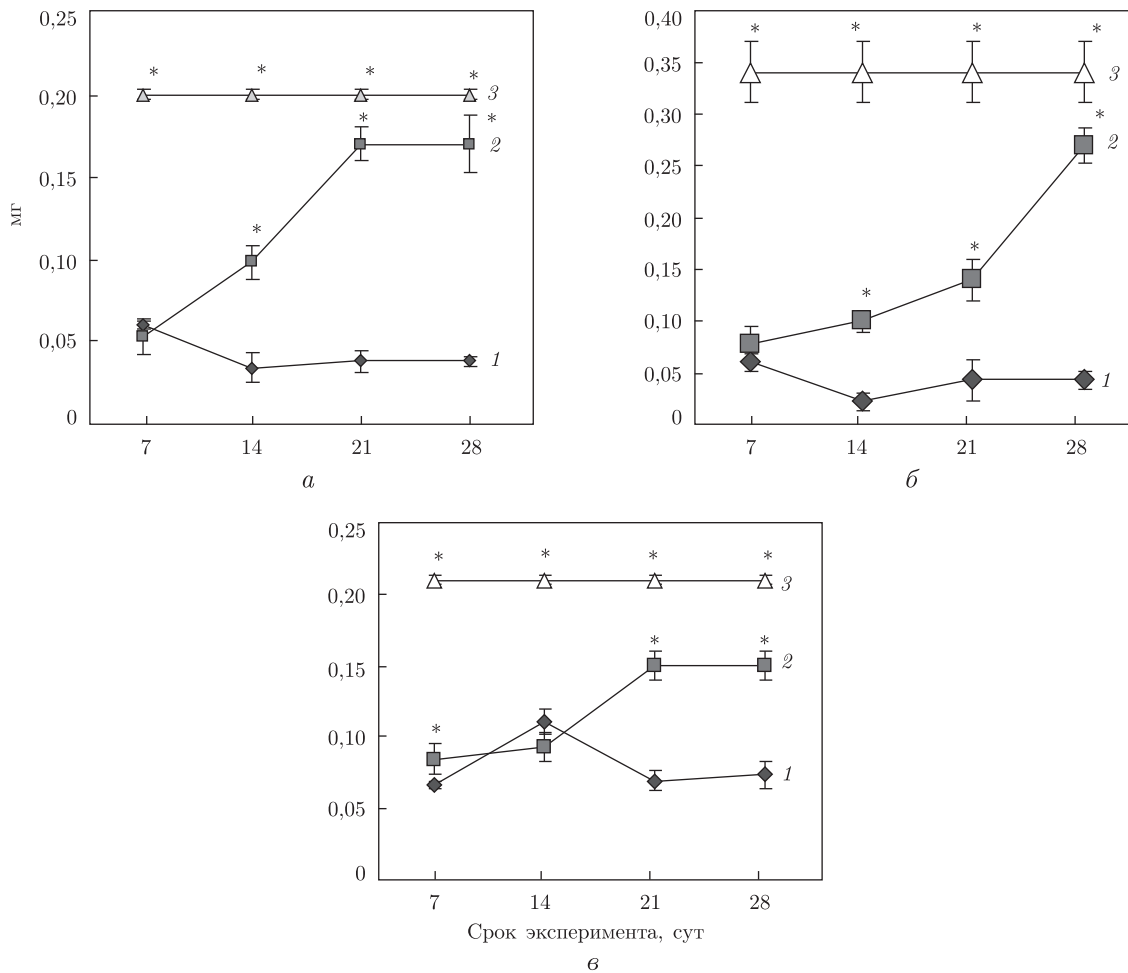


Рис. 1. Влияние ФКК на содержание гликозаминогликановых компонентов матрикса хряща: хондроитин-сульфатов (а), гиалуроновой кислоты (б), гепарина (в).

Здесь и на рис. 2, 3: 1 — группа животных, не получавших лечения; 2 — группа животных, которым в течение 21 сут вводили ФКК; 3 — группа здоровых животных. * — $P < 0,05$ по сравнению с группой животных, не получавших лечения

те [3, 11]. Анализ полученных данных (рис. 3, а) свидетельствует о том, что содержание оксипролина в регенерате хряща опытных животных уже на 7-е сутки достоверно выше, чем в контроле. Положительная динамика накопления оксипролина у животных этой группы по сравнению с контролем наблюдается и в последующие сроки эксперимента. На 28-е сутки содержание оксипролина в хрящевой ткани животных, получавших инъекции ФКК, не отличается от такового у здоровых животных.

В следующей серии экспериментов нами изучалась динамика накопления тирозина в регенерате хрящевой ткани, который в известной мере отражает содержание неколлагеновых белков [1, 3, 12]. Показано, что во все сроки наблюдения содержание этой аминокислоты в регенерате хряща животных, получавших инъекции ФКК, в 2,8 раз выше, чем у животных контрольной группы (см. рис. 3, б). Вместе с тем следует отметить, что даже при лечении ФКК содержание тирозина в регенерате хряща на протяжении всего периода наблюдения ниже, чем в хряще здоровых животных (см. рис. 3, б).

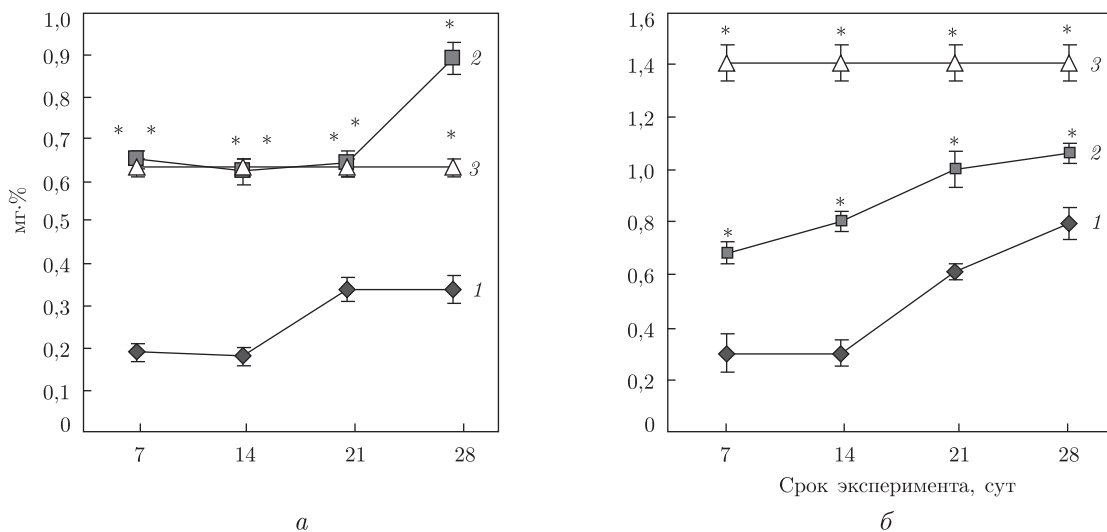


Рис. 2. Влияние ФКК на содержание протеогликановых компонентов матрикса хряща: гексозамина (а), гексуроновых кислот (б)

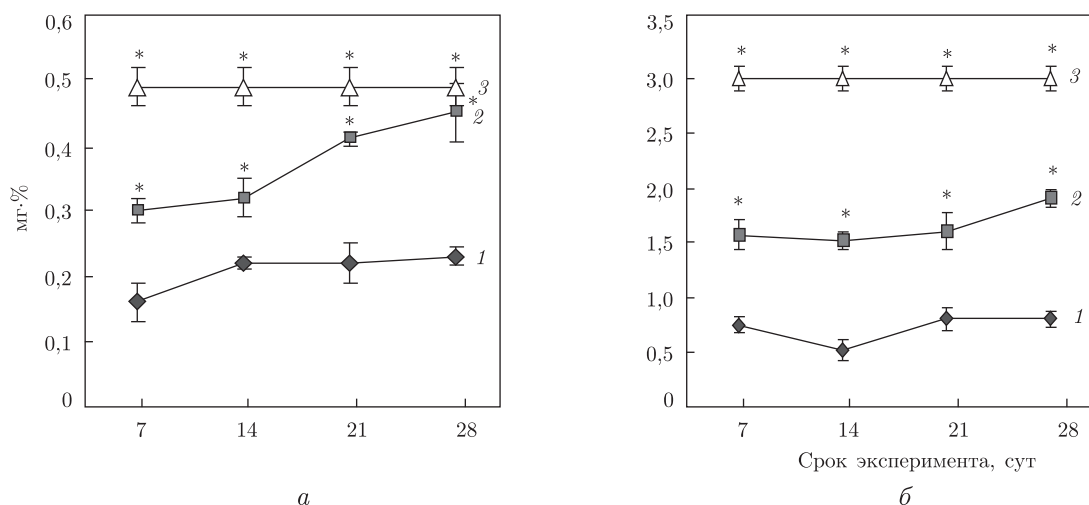


Рис. 3. Влияние ФКК на содержание белковых компонентов матрикса хряща: оксипролина (а), тирозина (б)

Таким образом, в результате проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что внутримышечное введение ФКК существенно стимулирует накопление основных компонентов матрикса в регенерате хряща, а также важнейших аминокислот — оксипролина и тирозина, отражающих содержание коллагеновых и неколлагеновых элементов хряща, что свидетельствует о стимулирующем влиянии ФКК на репаративную регенерацию хряща.

1. Павлова В. Н., Копьева Т. Н., Слущкий Л. И., Павлов Г. Г. Хрящ. — Москва: Медицина, 1988. — 320 с.
2. Риггз Б. Л., Мелтон III Л. Дж. Остеопороз. — Москва; Ст.-Петербург: ЗАО "Изд-во БИНОМ", "Невский диалект", 2000. — 560 с.
3. Слущкий Л. И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. — Ленинград: Медицина, 1969. — 376 с.
4. Jordan J. M., Helmick C. G., Renner J. B. et al. Prevalence of knee symptoms and radiographic and symptomatic knee osteoarthritis in African-Americans and Caucasians: The Johnston County Osteoarthritis Project // J. Rheumatol. — 2007. — 34, No 1. — P. 172–180.

5. *Лила А. М., Мазуров В. П., Шостаков М. С.* Терафлекс в комплексной терапии остеоартроза коленных суставов и остеохондроза позвоночника (результаты клинических исследований) // Рос. мед. журн. – 2005. – **13**, № 24. – С. 1618–1622.
6. *Поворознюк В. В.* Остеопороз: Современные принципы лечения // Новости медицины и фармации. – 2003. – № 4(11). – С. 10–13.
7. *Бур'янов О. А., Соболевський Ю. А., Магомедов С. та ін.* Вивчення хондропротекторної дії та оцінка клінічної ефективності афлутопу при лікуванні хворих на остеоартроз колінного суглоба // Ортопедія травматол. и протезир. – 2007. – № 2. – С. 62–65.
8. *Абакумова О. С., Моїсеева Н. М.* Противиразкова дія ліофілізованої фракції до 5 кДа кордової крові // Зб. тез міжнар. наук. конф. студентів та аспірантів “Молодь та поступ біології”. – Львів, 2007. – С. 463–464.
9. *Моїсеева Н. Н., Трифонова А. В., Тягилева В. П. и др.* Ранозаживляющее и актопротекторное действие лиофилизированной сыворотки кордовой крови // Збір. тез міжвуз. конф. молодих вчених “Медицина третього тисячоліття”. – Харків, 2006. – С. 15–16.
10. *Гулевський О. К., Грищенко В. І., Моїсеева Н. М.* Властивості і перспективи використання кордової крові в клінічній практиці // Укр. журн. гематології та трансфузіології. – 2005. – № 1(4). – С. 5–14.
11. *Voas N. P.* Method for the determination of hexosamin in tissues // J. Biol. Chem. – 1953. – **204**. – P. 553–562.
12. *Dische Z.* A new specific color reaction of hexuronic acids // Ibid. – 1947. – **167**. – P. 189–198.
13. *Stegemann H., Stalder P.* Determination of hydroxiprolin // Clin. Chim. Acta. – 1967. – No 2. – P. 267–273.
14. *Ланач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – Киев: МОРИОН, 2000. – 320 с.
15. *Purser J. L., Renner J. B., Woodard J., Jordan J. M.* Knee and Hip Osteoarthritis and Walking Speed in the Johnston County Osteoarthritis Project // Arthritis and Rheum. – 2006. – **54**, No 9. – P. 153–161.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, Харьков*

Поступило в редакцию 06.02.2009

A. K. Gulevsky, Academician of the NAS of Ukraine V. I. Grischenco, E. G. Ivanov

Effect of simulation of a metabolism in cartilage fabrics after a mechanical trauma under the influence of a low-molecular fraction (to 5 kDa) from cord blood

The influence of low-molecular fraction (to 5 kDa) from cord blood (FCB) on a metabolism from polysaccharide components from matrix and fibers of a connecting fabric of a cartilage after a mechanical trauma is investigated. It is established that the intramuscular introduction of FCB essentially stimulates the accumulation of the basic components of the matrix: hexosamine, uronic acids, hyaluronic acids, chondroitinsulfate, and heparin, as well as the major structural fibers in reclaim from a cartilage.