

DOI: 10.26693/jmbs04.05.078

УДК 616-092:616-06

Савицький І. В.¹, Орел К. С.², М'ястківська І. В.¹, Савицький В. І.¹

ДИНАМІКА ІL-1В ТА АКТИВНОСТІ ІНДУЦИБЕЛЬНОЇ НО-СИНТАЗИ В КРОВІ ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ

¹ Одеський національний медичний університет, Україна² ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту
Міністерства охорони здоров'я України», Одеса, Україна

miastkivska@ukr.net

Частота захворюваності на остеоартроз складає 30–55% серед усіх захворювань кістково-суглобової системи. *Мета* – дослідити взаємозв'язок активності індукцибельної NO-синтази та динаміки інтерлейкіну-1 β при остеоартрозі та дослідити ефективність способів його патогенетичної корекції.

Експерименти проводились на білих щурах самцях лінії Вістар віком до 3-х місяців, масою 180–220 г. Відповідно до поставлених задач дослідження тварини були розподілені на 7 груп. Тварин виводили з експерименту на 7-у та 21-у добу після моделювання патологічного стану. НПЗП, аміногуадин та L-аргінін вводили з початку дослідження. Проводили забір крові для біохімічного дослідження наступних показників: визначали рівень інтерлейкіну-1 β та активність індукцибельної NO-синтази у крові експериментальних тварин. Деструктивно-дистрофічний процес хрящової тканини моделювали шляхом кріпошкодження колінного суглоба. Одноразово виконували внутрішньосуглобну ін'єкцію розчином охолодженого етанолу (Введенський Б. П., Гальченко С. Є., Ковальов Г. О., 2011). Вибір даного способу моделювання обґрунтований тим, що він не потребує хірургічного втручання, дозволяє стандартизувати експериментальне відтворення патологічного процесу, знижує ризик ускладнень та не призводить до пошкодження параартикулярних тканин (Введенський Б. П., Гальченко С. Є., Ковальов Г. О., 2011).

Проведене порівняння результатів групи тварин, яка отримувала стандартну корекцію у поєднанні з розчином донатора оксиду азоту з даними інших груп щурів довело її ефективність. Встановлене підвищення рівню інтерлейкіну-1 β на тлі експериментального остеоартрозу. Виявлене збільшення активності індукцибельної NO-синтази в патогенезі експериментального остеоартрозу, що свідчить як про розвиток запального процесу, так і про прогресування ендотеліальної дисфункції в умовах змодельованої патології. Підтверджено

взаємозв'язок між інтерлейкіном-1 β та активністю індукцибельної синтази оксиду азоту при експериментальному остеоартрозі. У третій групі, яка отримувала корекцію аміногуадином, виявлений позитивний вплив на динаміку прозапального цитокіну та індукцибельної синтази оксиду азоту, але значення показників ще не наближені до контрольних величин. Більш виражений позитивний ефект коригуючої терапії виявлений у 4-й групі, яка отримувала комплексну корекцію за допомогою нестероїдного протизапального засобу та 7% розчину L-аргініну.

Ключові слова: остеоартроз, дисфункція ендотелію, експериментальне дослідження, інгібітор iNOS, донатор оксиду азоту.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Представлена робота є фрагментом комплексних клініко-експериментальних досліджень, які здійснювались у ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України» в межах виконання НДР «Удосконалення профілактики та лікування основних екозалежних та професійно обумовлених захворювань на основі вивчення особливостей їх етіології та патогенезу», № державної реєстрації 0116U008822.

Вступ. Частота захворюваності на остеоартроз складає 30–55% серед усіх захворювань кістково-суглобової системи [1, 2]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, в найближчі 10–15 років остеоартроз (ОА) стане четвертою за частотою причиною інвалідності у жінок, та восьмою – у чоловіків [3]. На даному етапі досліджень остеоартроз розглядається як комплексне захворювання, при якому до процесу залучаються усі структурні компоненти суглоба [4, 5]. Ряд авторів визначає ОА, як гетерогенну групу захворювань різної етіології із тотожними клінічними, морфологічними та функціональними проявами, в основі яких – пошкодження

хряща, субхондральної кістки, синовіальної оболонки, зв'язок, капсули та навколосуглобових м'язів [6, 7]. Останнім часом приділяється увага розвитку ендотеліальної патології у пацієнтів, що хворіють на ОА [8]. Значна роль в даному аспекті відведена хронічному запаленню, як пусковому механізму дисфункції ендотелію. Визначають наступні причини порушення функціонування та структури ендотеліального шару судин при ОА: окислювальний стрес [9, 10], продукція ендотелінів та продуктів пероксидного окислення ліпідів, які є вазоконстрикторами. Відіграють свою роль і прозапальні цитокіни, які порушують продукцію оксиду азоту [10, 11]. Враховуючи вищезазначене, можна вважати актуальним напрям досліджень щодо пошуку нових способів корекції ОА.

Мета дослідження – дослідити динаміку активності індукції NO-синтази та інтерлейкіну-1 β за остеоартрозу та визначити ефективність способів його патогенетичної корекції.

Матеріали та методи дослідження. Експерименти проводились на білих щурах самця лінії Вістар віком до 3-х місяців масою 180–220 г.

Відповідно до поставлених задач дослідження тварини були розподілені на 7 груп: 1-а група – інтактна (n=20); 2-а група – щури, яким моделювали остеоартроз без подальшої корекції і виводили з експерименту на першому етапі (n=40); 3-я група – щури, яким моделювали остеоартроз без подальшої корекції і виводили з експерименту на другому етапі (n=40); 4-а група – щури, яким експериментальний остеоартроз коригували за допомогою нестероїдного протизапального засобу (диклофенак натрію) та аміногуадину і виводили з експерименту на першому етапі (n=20); 5-а група – щури, яким експериментальний остеоартроз коригували за допомогою нестероїдного протизапального засобу (НПЗП) та аміногуадину і виводили з експерименту на другому етапі (n=20); 6-а група – щури, яким експериментальний остеоартроз коригували за допомогою нестероїдного протизапального засобу та 7% розчину L-аргініну і виводили з експерименту на першому етапі (n=20); 7-а група – щури, яким експериментальний остеоартроз коригували за допомогою нестероїдного протизапального засобу та 7% розчину L-аргініну і виводили з експерименту на другому етапі (n=20). Тварин виводили з експерименту на 7-у та 21-у добу після моделювання патологічного стану. Нестероїдний протизапальний засіб, аміногуадин та L-аргінін вводили з початку дослідження. Проводили забір крові для дослідження наступних показників: визначали рівень інтерлейкіну-1 β (IL-1 β) (за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу з використанням реагентів «ІФА-ІЛ-1 β ») та активність інду-

цибельної NO-синтази (iNOS) (спектрофотометричним методом [12]) у крові експериментальних тварин.

Дослідження проводили згідно з «Правилами виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених Наказом МОЗ України № 249 від 01.03.2012 та Законом України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (зі змінами від 15.12.2009 р. та від 16.10.2012 р.).

Деструктивно-дистрофічні процеси у хрящовій тканині моделювали шляхом кріопшкодження колінного суглоба. Одноразово виконували внутрішньосуглобову ін'єкцію розчину охолодженого етанолу. Вибір даного способу моделювання обґрунтований тим, що він не потребує хірургічного втручання, дозволяє стандартизувати експериментальне відтворення патологічного процесу, знижує ризик ускладнень та не призводить до пошкодження параартикулярних тканин. Дана модель забезпечує високу повторюваність наслідків місцевих та загальних змін в організмі у відповідь на змодельований патологічний процес (Введенський Б. П., Гальченко С. Є., Ковальов Г. О., 2011).

Перед тим, як використовувати параметричні, базовані на нормальності статистичного розподілу, методи, були використані методи перевірки досліджуваних рядів кількісних даних на нормальність за допомогою критерія Шапіро-Уїлка (Shapiro-Wilk's W test). Впевнившись, що розподілення даних в вибірках не відрізняється від нормального, використовували параметричний критерій Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. *Динаміка інтерлейкіну-1 β в крові щурів.* Відомо, що патогенез ОА є багатоступеневим, в ньому приймають участь медіатори, які призводять до імунних порушень з розвитком деструктивних процесів у хрящовій тканині та запаленням [13, 14]. На сьогоднішній день доведений вплив прозапальних цитокінів на порушення метаболізму гіалуронового хряща та перебіг ОА [15, 16]. Підвищена продукція інтерлейкіну-1 β є однією з основних ланок розвитку ОА, яка викликає дегенеративні процеси хрящової тканини, запалення синовіальної оболонки та патологічні процеси субхондральної кістки. Інтерлейкін-1 β продукується синовіоцитами та хондроцитами під дією механічних факторів та запальних процесів [14]. Цей прозапальний цитокін стимулює катаболізм матриксу, інгібує синтез його молекул. Також він стимулює проліферацію фібробластів та синовіальних клітин, призводить до підсилення синтезу ферментів металопротеїназ (особливо колагенази), пригнічує синтез інгібіторів ферментів та продукцію протеогліканів і колагену, які є основними компонентами матриксу [14]. Враховуючи вищезазначене, нами був обраний інтерлейкін-1 β

для дослідження розвитку патологічного процесу на тлі змодельованого ОА та аналізу ефективності його корекції.

Отримані в результаті проведеного дослідження дані свідчать про розвиток запалення у тварин, яким моделювали патологічний процес. У групі № 2, в якій тваринам не проводилася корекція змодельованого ОА виявлене збільшення рівня даного показника більш ніж у півтора рази у порівнянні з даними інтактних щурів (табл. 1). В тварин 3-ї групи виявлено, що рівень прозапального цитокіну зменшився лише на 2,6% у порівнянні з даними попередньої групи. Вищезазначене свідчить про те, що через 21 добу компенсаторно-відновні процеси у групі без корекції залучаються, але не значним чином.

Вищезазначені результати мають важливе патогенетичне значення, адже інтерлейкін-1 β викликає розвиток запального процесу при остеоартрозі, апоптоз хондроцитів, пошкодження хряща шляхом стимуляції продукції інших цитокінів, матриксних металопротеїназ. Також даний маркер активує остеобласти у субхондральній кістці, що безпосередньо призводить до її патологічних змін та стимулює власну продукцію, чим призводить до безперервного пошкодження хряща. Також відомо, що інтерлейкін-1 β відіграє роль у гіперпродукції оксиду азоту [15].

Наступний етап дослідження – порівняння груп, у яких проводилася корекція за допомогою стандартної терапії та аміногуанідину з даними інтактних тварин та щурів, у яких корекція не проводилася. Так при порівнянні даних груп № 1 та № 4 встановлені відмінності на рівні значущості $p < 0,001$. Тобто на даному етапі результати четвертої групи ще не наближаються до значень інтактних тварин. Але варто зазначити, що рівень інтерлейкіну-1 β є на 52,3% меншим у четвертій групі в порівнянні з другою, що свідчить про ефективність корекції. П'ята група отримувала таку ж комбінацію коригуючих засобів, що і четверта, але більш тривалий час. Тварини були виведені з експерименту на другому етапі дослідження. Рівень прозапального цитокіну в цієї групи дещо більшою мірою

ніж четвертої наближається до значень інтактних тварин (різниця між даними 1-ї і 4-ї груп становила 24, 1%, а 1-ї і 5-ї – уже 20,5%, хоча відмінності при порівнянні результатів 4-ї і 5-ї груп є статистично незначущими). Безумовно позитивним моментом є те, що рівень інтерлейкіну-1 β у п'ятій групі є на 52, 4% нижчим ніж у групі № 3, в якій тварини також виводилися з експерименту через 21 добу, але не отримували коригуючих препаратів. Далі ми проводили порівняння результатів групи тварин, яка отримувала стандартну корекцію у поєднанні з розчином L-аргініну, який є донатором оксиду азоту з даними інших груп щурів.

На першому етапі рівень прозапального інтерлейкіну цієї групи наближається до значень інтактних тварин більше, ніж 4-ї групи (різниця при порівнянні даних інтактних тварин та щурів групи № 6 дорівнює 22,1%). Також результат цієї групи на 53,1% кращий у порівнянні з тваринами, яким не коригували змодельовану патологію. Звертає на себе увагу той факт, що включення донатору оксиду азоту до коригуючої терапії є більш ефективним, ніж залучення інгібітору індукційної NO-синтази при аналізі зміни інтерлейкіну-1 β : результат шостої групи виявився кращим на 35,6% ($p < 0,001$).

Динаміка індукційної синтази оксиду азоту в крові щурів при експериментальному остеоартрозі та його корекції. Звертають на себе увагу відомі з літературних джерел дані про те, що оксид азоту, який є універсальним регулятором клітинного та тканинного метаболізму, розглядається в якості інформативного показника ранніх патологічних змін у гіаліновому хрящі, який є ініціальним субстратом остеоартрозу (Scher J.U. et al., 2007). Вищезазначене пояснюється роллю індукційної синтази оксиду азоту в патогенезі ОА (Fermor B. et al., 2007). Даний фермент безпосередньо пошкоджує структурно-функціональні компоненти суглобу викликаючи гіперпродукцію оксиду азоту, яка в свою чергу пригнічує матриксний синтез та руйнує його [15–18]. Також надмірний синтез NO (який викликаний активацією iNOS) пошкоджує клітини шляхом утворення пероксинітриду і викликає апоптоз

Таблиця 1 – Динаміка інтерлейкіну-1 β в крові щурів під час експериментального остеоартрозу та його корекції

Група	Інтактні	ОА без корекції I етап	ОА без корекції II етап	ОА з корекцією НПЗП та аміногуанідином I етап	ОА з корекцією НПЗП та аміногуанідином II етап	ОА з корекцією НПЗП та L-аргініном I етап	ОА з корекцією НПЗП та L-аргініном II етап
№ з/п	1	2	3	4	5	6	7
IL-1 β	35,54 \pm 0,86	92,46 \pm 1,53 $p_{21} < 0,001$	90,08 \pm 1,09 $p_{31} < 0,001$ $p_{32} = 0,077$	44,11 \pm 0,85 $p_{41} < 0,001$ $p_{42} < 0,001$	42,84 \pm 1,32 $p_{51} < 0,001$ $p_{54} = 0,42$ $p_{53} < 0,001$	43,38 \pm 1,14 $p_{61} < 0,001$ $p_{62} < 0,001$ $p_{64} = 0,61$	40,15 \pm 0,98 $p_{71} = 0,002$ $p_{76} = 0,038$ $p_{73} < 0,001$ $p_{75} = 0,11$

хондроцитів [14, 15, 19]. На тлі динаміки експериментального остеоартрозу більш ніж у чотири рази підвищилась активність індукцибельної NO-синтази, що свідчить про розвиток запального процесу, та слугує ще одним підтвердженням прогресування дисфункції ендотелію (табл. 2). Зниження активності даного ферменту на другому етапі експерименту у групі без корекції є статистично незначущим. При дослідженні впливу аміногуадину на патологічний процес доведена його ефективність, як інгібітору індукцибельної NO-синтази – виявлені відмінності у порівнянні з даними групи № 2 на рівні значущості $p < 0,001$. Встановлено, що позитивний ефект більш виражено проявляється при тривалому введенні препарату: на другому етапі виявлене зменшення активності iNOS на 35,4% у порівнянні з результатами тварин, які отримували таку ж корекцію та були виведені з експерименту раніше (на першому етапі). У нашому дослідженні найбільш результативним було залучення донатора оксиду азоту до складу комплексної корекції: на першому етапі активність досліджуваного показника зменшилася на 73,4% (у порівнянні з результатами групи щурів, у яких OA моделювали без подальшої корекції), що підтверджує відомі з літературних джерел дані щодо вираженого впливу L-аргініну на функціональний стан ендотелію та зменшення розвитку окислювального стресу на тлі запальних процесів (табл. 2). Більш тривале введення аргініну наблизило рівень активності iNOS до значень інтактних тварин (відсутні статистично значущі відмінності між даними сьомої та першої груп експериментальних тварин).

Підсумовуючи отримані результати також варто зазначити, що відомий синергізм між індукцибельною NO-синтазою та інтерлейкіном-1b при патологічних станах [20]. У хондроцитах iNOS індуктується цитокінами, зокрема IL-1b та TNF-1a, стимулюючи їх продукцію, що призводить до деструкції суглобного хряща [14, 15, 21, 22].

Отримані нами дані свідчать про підвищення динаміки інтерлейкіну-1b в умовах змодельованої нами патології. Також в умовах даного експеримен-

ту підвищується активність індукцибельної NO-синтази. Отримані дані поглиблюють уявлення про патогенез OA та дозволяють розробити патогенетично обґрунтовану корекцію. З літературних джерел відомі дані про те, що використання інгібіторів індукцибельної синтази оксиду азоту при експериментальному OA сприяє зменшенню запалення синовії та зниженню деструктивних процесів у хрящі та кісткових структурах [15]. Цим обґрунтований вибір аміногуадину, як коригуючого засобу в нашому дослідженні. Слід зазначити, що аргінін, корекція яким в нашому експерименті дала більш суттєвий ефект, має протизапальні властивості, а також спостерігається наближення активності індукцибельної NO-синтази до показників цього ферменту у інтактних тварин [20].

Висновки

1. Встановлено підвищення рівню інтерлейкіну-1b на тлі експериментального остеоартрозу.
2. Виявлено збільшення активності індукцибельної NO-синтази в патогенезі експериментального остеоартрозу, що свідчить як про розвиток запального процесу, так і про прогресування ендотеліальної дисфункції в умовах змодельованої патології.
3. У третій групі, яка отримувала корекцію аміногуадином, виявлений позитивний вплив на динаміку прозапального цитокіну та індукцибельної синтази оксиду азоту, але значення показників ще не наближені до контрольних величин.
4. Більш виражений позитивний ефект коригуючої терапії виявлений у 4-й групі, яка отримувала комплексну корекцію за допомогою нестероїдного протизапального засобу та 7% розчину L-аргініну.

Перспективи подальших досліджень у цьому напрямку. Результати наших досліджень розкривають нові механізми патогенезу експериментального остеоартрозу, що в свою чергу дає можливість розробити нові методи профілактики, діагностики та корекції вищезазначеної патології суглобів. Виявлені нами порушення є підґрунтям для розробки нових запобіжних заходів для зменшення запального процесу та корекції ендотеліальної дисфункції.

Таблиця 2 – Динаміка активності індукцибельної NO-синтази в крові щурів під час експериментального остеоартрозу та його корекції

Група	Інтактні	OA без корекції I етап	OA без корекції II етап	OA з корекцією НПЗП та аміногуадином I етап	OA з корекцією НПЗП та аміногуадином II етап	OA з корекцією НПЗП та L-аргініном I етап	OA з корекцією НПЗП та L-аргініном II етап
№ п/п	1	2	3	4	5	6	7
iNOS	3,66±0,09	17,32±0,31 $p_{21} < 0,001$	15,83±0,33 $p_{31} < 0,001$ $p_{32} = 0,002$	14,00±0,42 $p_{41} < 0,001$ $p_{42} < 0,001$	9,05±0,47 $p_{51} < 0,001$ $p_{54} < 0,001$ $p_{53} < 0,001$	4,61±0,27 $p_{61} = 0,003$ $p_{62} < 0,001$ $p_{64} < 0,001$	3,90±0,27 $p_{71} = 0,42$ $p_{76} = 0,038$ $p_{73} < 0,001$ $p_{75} < 0,001$

References

1. Makarova MV, Valkov MYu, Yakoby AYa, Yunytsyna AV, Tytova LV, Grzhybovskyy AM. Ultrazvukovye predyktory progressyrovaniya rentgenologicheskoy nulevoy stadiy osteoartraza v rentgenopozityvnyuyu 1 stadiyu [Ultrasonic predictors of progression of the radiologically zero stage of osteoarthritis to the radiopositive stage 1]. *Vestnyk novykh medytsynskyykh tekhnologyy*. [digital resource]. 2015; 4. Publykatsyya 2-3. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-4/5231.pdf> [Russian] DOI: 10.12737/14922
2. Danchynova AM, Batudaeva TY, Menshykova LV. Epydemyologyya osteoartraza v Respublyke Buryatyya [Epidemiology of osteoarthritis in the Republic of Buryatia]. *Sybyrskyy medytsynskyy zhurnal (Yrkutsk)*. 2012; 6: 112-4. [Russian]
3. Zagorodnyy NV, Karpovych NY, Skvortsov DV, Damazh AA, Abdulkhabyrov MA, Bezverkhyy SV. Klynyko-byomekhanicheskoe obosnovanye vnutrysustavnoy yneksyonnoy terapiy patsyentov s gonartrozom [Clinical and biomechanical substantiation of intraarticular injection therapy of patients with gonarthrosis]. *Ambulatornaya khyrurgyya*. 2015; 1-2(57-58): 55-60. [Russian]
4. Tkachuk PV, Strafun SS, Savosko SY, Makarenko OM. Strukturnye narusheniya kolennogo sustava pry modelirovaniyu osteoartraza [Structural disorders of the knee joint in modeling osteoarthritis]. *Travma*. 2019; 20(1): 73-8. [Russian] doi: 10.22141/1608-1706.1.20.2019.158673
5. Alekseeva LY, Zaytseva EM. Perspektivnyye napravlenyya terapiy osteoartraza [Promising areas of therapy for osteoarthritis]. *Nauchno-praktycheskaya revmatologyya*. 2014; 52(3): 247-50. [Russian]
6. Anykyn SG, Alekseeva LY. Khondroytna sulfat: mekhanizmy deystviya, effektivnost y bezopasnost pry terapiy osteoartraza [Chondroitin sulfate: mechanisms of action, efficacy and safety in the treatment of osteoarthritis]. *Sovpennaya revmatologyya*. 2012; 3: 78-82. [Russian]
7. *Klynycheskiye rekomendatsyy*. *Revmatologyya*. Pod red akad RAMN EL Nasonova. M: GEOTAR-Medya; 2010. 326 p. [Russian]
8. Tytov VN. Anatomicheskyye y funktsionalnyye osnovy endotelyyazavysymoy vazodylatatsyy, oksyd azota y endotelyn [Anatomical and functional basics of endothelium-dependent vasodilation, nitric oxide and endothelin]. *Rosysyskyy kardyologicheskyy zhurnal*. 2008; 1(69): 71-85. [Russian]
9. Lupynskaya EA. Endotelyy sosudov – osnovnoy regulyator mestnogo krovotoka [Vascular endothelium is the main regulator of local blood flow]. *Vestnyk KRSU*. 2003; 7: 68-73. [Russian]
10. Novykova DS, Popova T.V., Nasonov EL. Profylaktyka serdechno-sosudystykh zabolevaniy pry revmatoydnom artryte [Prevention of cardiovascular disease in rheumatoid arthritis]. *Terapevticheskyye arkhiv*. 2009; 5: 88-96. [Russian]
11. Trunov AN, Slavyanskaya TA, Mykhaylova TV. Znachenyya ymmunobiohimicheskyykh pokazateley v syvorotke krovy y synovialnoy zhydkosti pry osteoartraze [The values of immunobiochemical parameters in blood serum and synovial fluid in osteoarthritis]. *Allergologyya y ymmunologyya*. 2002; 3(3): 434-6. [Russian]
12. Kovalova OM, Demydenko GV, Gorbach TV. *Dyagnostyka endotelialnoy funktsyy - otsenka vazoaktyvnogo pula oksyda azota* [Diagnosis of endothelial function - assessment of a vasoactive nitric oxide pool]. Ministerstvo okhorony zdorov'ya Ukrayiny. Ukrayinskyy tsentr naukovoyi medychnoyi informatsiyi ta patentno-litsenziynoyi roboty. Metodichni rekomendatsiyi. Kyiv: Vydavnytstvo SPD FO Tarasenko V.P.; 2007. 16 p. [Ukrainian]
13. Shuba NM, Voronova TD, Tarasenko TM, Krylova AS. Novi aspekty patogenezu osteoartrazu ta shlyakhy korektsiyi [New aspects of the pathogenesis of osteoarthritis and whores]. *Ukr revmatolog zhurn*. 2012; 47(1): 51-73. [Ukrainian]
14. Shuba NM, Voronova TD, Pilipenko AV. Izuchenie effektivnosti nimesulida i ego vliyanie na otdelnyye patogeneticheskiye faktory u bolnykh s osteoartrazom v praktike semeynogo vracha [The study of the effectiveness of nimesulide and its effect on individual pathogenetic factors in patients with osteoarthritis in the practice of a family doctor]. *Semeynaya meditsina*. 2015; 2: 41-5. [Russian]
15. Shuba NM, Voronova TD, Krylova AS. Vybor strukturnomodifitsiruyushchikh i protivovospalitelnykh preparatov u patsiyentov s osteoartrazom [The choice of structurally modifying and anti-inflammatory drugs in patients with osteoarthritis]. *Ukrayinskyy revmatologicheskyy zhurnal*. 2013; 52(2): 67-73. [Russian]
16. Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Inflammatory factors involved in osteoarthritis. In: *Osteoarthritis, Inflammation and Degradation: A Continuum*. IOS Press; 2007: 3-13.
17. Abramson SB, Amin A. Blocking the effects of IL-1 in rheumatoid arthritis protects bone and cartilage. *Rheumatology (Oxford)*. 2002; 41: 972-80. PMID: 12209029. DOI: 10.1093/rheumatology/41.9.972
18. Fermor B, Christensen SE, Youn I, Cernanec JM, Davies CM, Weinberg JB. Oxygen, nitric oxide and articular cartilage. *Eur Cell Mater*. 2007; 13: 56-65; discussion 65. PMID: 17427142. doi: 10.22203/eCM.v013a06
19. Abramson SB, Attur M, Amin AR, Clancy R. Nitric oxide and inflammatory mediators in the perpetuation of osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep*. 2001; 3(6): 535-41. PMID: 11709117. doi: 10.1007/s11926-001-0069-3
20. Savytskyi IV, Levytska GV, Levytskyi IM. Changes of inducible NO synthase and Interleukin-1 β on the background of experimental rhegmatogenous retinal detachment. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018; 8(1): 378-86.
21. Jovanovic DV, Mineau F, Notoya K, Reboul P, Martel-Pelletier J, Pelletier JP. Nitric oxide induced cell death in human osteoarthritic synoviocytes is mediated by tyrosine kinase activation and hydrogen peroxide and/or superoxide formation. *J Rheumatol*. 2002; 29(10): 2165-75. PMID: 12375328

22. Pelletier JP, Jovanovic DV, Lascau-Coman V, Fernandes JC, Manning PT, Connor JR, et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis in vivo: possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis and caspase 3 level. *Arthritis Rheum.* 2000; 43(6): 1290–9. PMID: 10857787. DOI:10.1002/1529-0131(200006)43:6<1290::AID-ANR11>3.0.CO;2-R

УДК 616-092: 616-06

ДИНАМИКА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 β И АКТИВНОСТИ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В КРОВИ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРОЗЕ И ЕГО КОРРЕКЦИИ

Савицкий И. В., Орел К. С., Мясковская И. В., Савицкий В. И.

Резюме. Частота заболеваемости остеоартрозом составляет 30–55% всех заболеваний костно-суставной системы. *Цель* – исследовать взаимосвязь активности индуцибельной NO-синтазы и динамики интерлейкина-1 β при остеоартрозе и проанализировать эффективность способов его патогенетической коррекции.

Эксперименты проводились на белых крысах самцах линии Вистар в возрасте до 3-х месяцев, массой 180–220 г. В соответствии с поставленными задачами исследования животные были разделены на 7 групп. Животных выводили из эксперимента на седьмой и двадцать первый день после моделирования патологического состояния. Нестероидные противовоспалительные препараты, аминогуадин и L-аргинин вводили с начала исследования. Проводили забор крови для биохимического исследования следующих показателей: определяли уровень интерлейкина-1 β и активность индуцибельной NO-синтазы в крови экспериментальных животных. Деструктивно-дистрофический процесс в хрящевой ткани моделировали путем криповреждения коленного сустава. Однократно выполняли внутрисуставную инъекцию раствором охлажденного этанола (Введенский Б. П., Гальченко С. Е., Ковалев Г. А., 2011). Выбор данного способа моделирования обоснован тем, что он не требует хирургического вмешательства, позволяет стандартизировать экспериментальное воспроизведение патологического процесса, снижает риск осложнений, но не приводит к повреждению параартикулярных тканей (Введенский Б. П., Гальченко С. Е., Ковалев Г. А., 2011).

Проведено сравнение результатов группы животных, которая получала стандартную коррекцию в сочетании с раствором донатора оксида азота с данными других групп крыс показало ее эффективность.

Установлено повышение уровня интерлейкина-1 β на фоне экспериментального остеоартроза. Обнаружено увеличение активности индуцибельной NO-синтазы в патогенезе экспериментального остеоартроза, что свидетельствует как о развитии воспалительного процесса, так и о прогрессировании эндотелиальной дисфункции в условиях смоделированной патологии. Подтверждена взаимосвязь между интерлейкином-1 β и активностью индуцибельной синтазы оксида азота при экспериментальном остеоартрозе. В третьей группе, получавшей коррекцию аминогуадином, выявлено положительное влияние на динамику провоспалительных цитокинов и индуцибельной синтазы оксида азота, но значения показателей еще не приближенные к контрольным величинам. Более выраженный положительный эффект корректирующей терапии обнаружен в 4-й группе, получавшей комплексную коррекцию с помощью нестероидного противовоспалительного препарата и 7% раствора L-аргинина.

Ключевые слова: остеоартроз, дисфункция эндотелия, экспериментальное исследование, ингибитор iNOS, донатор оксида азота.

UDC 616-092: 616-06

Dynamics of Interleukin-1 β and Inducible NO-Synthase Activities in Blood of Rats in Experimental Osteoarthritis

Savytskyi I. V., Orel K. S., Miaszkivska I. V., Savytskyi V. I.

Abstract. Osteoarthritis incidence rate is 30-55% among all diseases of the bone and articular system.

The purpose of the study was to investigate interrelation between inducible NO synthase activity and interleukin-1 β dynamics in osteoarthritis and to investigate methods effectiveness for its pathogenic correction.

Material and methods. White Wistar line rats were used in the study. Animals were withdrawn from the experiment on the 7th and the 21st day after the simulation of the pathological condition. Destructive-dystrophic process of cartilage tissue was modeled by knee joint criodamage.

Results and discussion. We compared group results of animals that received standard correction in combination with L-arginine solution, which is a nitrogen oxide donor, with data from other rats groups. At the first stage, pro-inflammatory interleukin level in this group was closer to intact animals values than in group 4 (difference in intact animals and rats comparison in group 6 is 22.1%). In addition, this group result was by

53.1% better than animals without correction. It is noteworthy that nitric oxide donator inclusion before corrective therapy was more effective than inducible NO synthase inhibitor induction in interleukin-1 β analysis change: group 6 result was better by 35.6% ($p < 0.001$). On the background of experimental osteoarthritis development, the inducible NO synthase activity increased more than four times.

In our study, the most effective was nitric oxide donor inclusion in a complex correction: at the first stage, the activity of the investigated indicator decreased by 73.4% (in comparison with rats group results in which the osteoarthritis was modeled without further correction). More prolonged administration of L-arginine caused the iNOS level activity of intact animals' values (there were no statistically significant differences between group 7 and group 1 data of experimental animals).

Conclusion. The obtained results showed an increase in the interleukin-1 β level on the background of experimental osteoarthritis. There was also an increase in the inducible NO synthase activity in the experimental osteoarthritis pathogenesis indicating both the inflammatory process development and endothelial dysfunction progression under simulated osteoarthritis. The mutual aggravating connection between interleukin 1 β and inducible nitric oxide synthase was confirmed in pathological conditions of simulated osteoarthritis. In the third group, which received correction with aminoguanidine, there was a positive effect on the pro-inflammatory cytokine and inducible nitric oxide synthase dynamics, but the values of the indicators were not yet close to the normative ones. A more pronounced positive therapy effect for correction was found in group 4, which received complex correction adjusted with a non-steroidal anti-inflammatory agent and L-arginine 7% solution.

Keywords: osteoarthritis, endothelial dysfunction, experimental investigation, iNO synthase inhibitor, nitrogen oxide donor.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 14.06.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування