

DOI: 10.26693/jmbs04.06.067

УДК 615.017

Носівець Д. С.

## ВПЛИВ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ МАРКЕРУ СТХ II ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПОТИРЕОЗУ ТА ОСТЕОАРТРОЗУ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», Дніпро

dsnosivets@ukr.net

Захворювання щитоподібної залози відносяться до актуальної проблеми сучасного суспільства у зв'язку з широким поширенням даної патології та зі зв'язаними з цими захворюваннями розладами з боку опорно-рухового апарату, проте питання впливу та взаємодії нестероїдних протизапальних засобів при лікуванні остеоартрозу на тлі гіпотиреозу досліджено недостатньо.

**Мета** – дослідити рівень маркера СТХ II під впливом нестероїдних протизапальних засобів за умов експериментальних еквівалентів гіпотиреозу та остеоартрозу.

Експериментальний остеоартроз відтворювали шляхом однократного внутрішньосуглобового введення 0,1 мл розчину монойодоцтової кислоти у колінний суглоб, який готували з розрахунку 3 мг реактиву на 50 мкл стерильного фізіологічного розчину. Експериментальний гіпотиреоз відтворювали шляхом ентерального введення 0,02% розчину карбімазолу (препарат «Еспа-карб», виробництва Еспа-парма ГмбХ, Німеччина; в таблетках по 5 або 10 мг), який готували з розрахунку 5 мг на 250 мл фізіологічного розчину та давали з питним раціоном тварин впродовж 6 тижнів. Введення препаратів здійснювали щоденно з 42 доби експерименту на фоні наростання патологічних змін впродовж 5 діб. Для отримання однорідної суспензії для внутрішньосуглобового введення таблетованих форм використовували розчин Твіну-80 (Полісорбат 80, Україна).

Кількісний рівень СТХ II сироватки крові визначали методом конкурентного ІФА *in vitro* двічі (на 42 та 47 добу експерименту) з використанням імуноферментної тест-системи «RatCartiLaps®» (Cobas, Roche Diagnostics, Швейцарія) згідно з методикою виробника.

Автором встановлено, що визначення рівня СТХ II дозволяє оцінити рівень дегенеративно-дистрофічних змін у хрящовій тканині на фоні експериментальних еквівалентів остеоартрозу та гіпотиреозу. За ступенем впливу на дегенеративно-дистрофічні процеси у хрящовій тканині досліджені препарати можна розташувати наступним чином: німесулід > целекоксиб > мелоксикам > ібупрофен

> диклофенак натрію > парацетамол. Отримані дані рівня СТХ II сироватки крові щурів відображають ступінь впливу нестероїдних протизапальних засобів та парацетамолу на розпад колагену II типу внаслідок взаємодії препаратів при експериментальному остеоартрозі та гіпотиреозі.

**Ключові слова:** гіпотиреоз, остеоартроз, нестероїдні протизапальні засоби, базова фармако-терапія, біохімічні маркери, СТХ II.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана за матеріалами досліджень кафедри фармакології та клінічної фармакології ДЗ «ДМА МОЗ України» «Фармакологічний аналіз органо- та ендотеліопротекції за умов експериментальних патологічних станів», № держ. реєстрації 0118U006631.

**Вступ.** Захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) відносяться до актуальної проблеми сучасного суспільства в зв'язку з широким, постійним поширенням даної патології та зі зв'язаними з цими захворюваннями розладами з боку опорно-рухового апарату. Відомо, що гіпофункція ЩЗ призводить до метаболічних порушень, які негативно впливають на стан кісткової і хрящової тканини, зумовлюючи розвиток остеоартрозу (ОА) [1–4].

ОА – це дегенеративно-дистрофічний процес синовіальних суглобів, що характеризується прогресуючою деструкцією гіалінового хряща та субхондральної кістки внаслідок недостатності протеогліканів. Деструкція хондроцитів призводить до вивільнення ферментів, що руйнують колаген та протеоглікани. Внаслідок руйнування колагену його структурні компоненти потрапляють у кров та виводяться з організму з сечею [2, 4, 5].

Через зменшення кількості колагену II типу та протеогліканів порушуються еластичні властивості гіалінового хрящу, що в клінічних умовах є проявом болю та запалення у суглобі, порушенням функції. У зв'язку з особливостями фізіологічної регенерації гіалінового хрящу, його відновлення є неповноцінним та призводить до формування так званого «фіброзного» хрящу, який має меншу здатність до

гідратації та знижені еластичні властивості. Суглобовий хрящ втрачає фізіологічну функцію, що призводить до прогресування патологічного процесу і порушення структури субхондральної кістки [2, 4–6].

На сьогоднішній день діагностика ОА базується на даних клінічних та додаткових методів дослідження, серед яких рентгенологічним методам дослідження належить провідна роль. Проте, відомі лабораторні маркери метаболізму хряща, які здатні відобразити ступінь його деструкції, та у зв'язку з вартістю їх визначення цей спосіб діагностики ОА використовується частіше в експериментальних роботах. Одним з таких маркерів є СТХ II. СТХ II – це С–кінцевий тепепептид колагену II типу, який є важливим біомаркером деградації колагену типу II при різноманітних захворюваннях опорно–рухового апарату та свідчить про деградацію хрящової тканини і може бути визначений в синовіальній рідині, плазмі та сироватки крові, сечі та інших тканинах [2, 3, 6].

Лікування ОА при супутньому гіпотиреозі потребує призначення базової замісної гормональної терапії та нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), проте питання впливу та взаємодії даних препаратів на наш погляд досліджено недостатньо [7, 8].

**Мета дослідження** – дослідити зміни рівня маркеру СТХ II під впливом нестероїдних протизапальних засобів за умов експериментальних еквівалентів гіпотиреозу та остеоартрозу.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження проведені на 70 білих безпородних щурах обох статей, вагою 230–250 г., які утримувались у стандартних умовах віварію ДЗ «ДМА МОЗ України». Експериментальні дослідження виконані відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.) та положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.). При проведенні дослідження регламент затверджений етичною комісією ДЗ «ДМА МОЗ України».

Експериментальний остеоартроз (ЕОА) відтворювали шляхом однократного внутрішньосуглобового введення 0,1 мл розчину моноіодоцтової кислоти у колінний суглоб, який готували з розрахунку 3 мг реактиву на 50 мкл стерильного фізіологічного розчину [9, 10]. Експериментальний гіпотиреоз (ЕГ) відтворювали шляхом ентерального введення 0,02% розчину карбімазолу (препарат «Еспакарб», виробництва Еспарма ГмбХ, Німеччина; в таблетках по 5 або 10 мг), який готували з розрахунку 5 мг на 250 мл фізіологічного розчину та давали з питним раціоном тварин впродовж 6 тижнів [11]. Адекватність моделі підтверджували рівнем ТТГ, Т<sub>3</sub> та Т<sub>4</sub> сироватки крові щурів.

Після формування експериментальних моделей ЕГ та ЕОА на 42 добу експерименту тварин вибірково розділили на 14 дослідних груп по 5 щурів у кожній групі (n=5): I група – щури з ЕГ+ЕОА без «лікування»; II група, котра отримувала L–тироксин (Т) у дозі 1,5 мкг/кг (внутрішньошлунково); III група – диклофенак натрію (Д) у дозі 10 мг/кг (внутрішньошлунково); IV група – Т+Д у відповідних дозах та шляху введення; V група – ібупрофен (І) у дозі 5 мг/кг (внутрішньошлунково); VI група – Т+І у відповідних дозах та шляху введення; VII група – мелоксикам (Мел) у дозі 10 мг/кг (внутрішньошлунково); VIII група – Т+Мел у відповідних дозах та шляху введення; IX група – парацетамол (П) у дозі 150 мг/кг (внутрішньошлунково); X група – Т+П у відповідних дозах та шляху введення; XI група – німесулід (Н) у дозі 80 мг/кг (внутрішньошлунково); XII група – Т+Н у відповідних дозах та шляху введення; XIII група – целекоксиб (Ц) у дозі 50 мг/кг (внутрішньошлунково); XIV група – Т+Ц у відповідних дозах та шляху введення. Вибір препаратів заснований на вимогах настанов для первинної медичної допомоги з лікування остеоартрозу та гіпотиреозу (<http://guidelines.moz.gov.ua>).

Введення препаратів здійснювали щоденно з 42 доби експерименту на фоні наростання патологічних змін впродовж 5 діб у дозах та режимах, наведених вище. Для отримання однорідної суспензії для внутрішньошлункового введення таблетованих форм використовували розчин Твіну–80 (Полісорбат 80, Україна).

Кількісний рівень СТХ II сироватки крові визначали методом конкурентного ІФА *in vitro* двічі (на 42 та 47 добу експерименту) з використанням імуноферментної тест–системи «RatCartiLaps®» (Cobas, Roche Diagnostics, Швейцарія) згідно з методикою виробника на аналізаторі «Elecsys» фірми Roche (Roche Diagnostics, Швейцарія). Зразки крові отримували з хвостової вени щурів шляхом її пункції за допомогою вакуумної системи на 42 та 47 добу експерименту. Для отримання сироватки зразки крові впродовж 2 годин згорталися при кімнатній температурі (18–25° С) з подальшим центрифугуванням при прискоренні 1000g. Мінімально визначаєма концентрація маркеру у зразках складала 35.2 пг/мл.

На 47 добу експерименту всі тварини після забору біологічного матеріалу виводилися з дослідження шляхом декапітації під тіопенталовим загальним знеболенням за стандартною методикою.

Статистична обробка даних проводилась з використанням пакету програм STATISTICA 6.1 (StatSoftInc., серійний номер AGAR909E415822FA) та включала розрахунки середніх арифметичних значень (M) та їх похибок (±m). Вірогідність різниці

середніх арифметичних ( $\rho$ ) значень показників проводилися за допомогою непараметричного – U–критерію Манна–Уїтні. Встановлення вірогідності внутрішньогрупових та міжгрупових відмінностей проводилося за допомогою параметричного t–критерію Ст'юдента та методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними при значенні  $p \leq 0,05$ . Перед застосуванням параметричних критеріїв проводилася перевірка гіпотези про нормальний закон розподілу випадкових величин [12].

**Результати дослідження.** При аналізі отриманих результатів встановлено, що зміни рівня СТХ II у сироватці крові щурів під впливом призначення НПЗЗ та парацетамолу відбуваються неоднаково (табл.).

**Таблиця** – Показники рівня СТХ II сироватки крові у щурів на фоні введення НПЗЗ за умов моделювання гіпотиреозу та остеоартрозу ( $M \pm m$ )

Група, препарат та його доза	Рівень СТХ II на 42 добу, пг/мл	Рівень СТХ II на 47 добу, пг/мл
I група ЕГ+ЕОА (без «лікування»), (n=5)	294,9±1,27	295,5±0,88*
II група L–тироксин (Т) 1,5 мкг/кг, (n=5)	294,8±0,95	282,8±2,63#
III група диклофенак натрію (Д) 10 мг/кг, (n=5)	295,0±1,0#*	232,2±1,38#*
IV група диклофенак натрію (Д)+L–тироксин (Т), (n=5)	294,9±0,91	227,0±1,08#*
V група ібупрофен (І) 5 мг/кг, (n=5)	295,3±0,91#*	220,4±1,55#*
VI група ібупрофен (І) + L–тироксин (Т), (n=5)	295,2±1,23#*	216,0±1,05#*
VII група мелоксикам (Мел) 10 мг/кг, (n=5)	295,3±1,09#*	213,4±1,96#*
VIII група мелоксикам (Мел) + L–тироксин (Т), (n=5)	295,1±1,24#*	207,6±1,18#*
IX група парацетамол (П) 150 мг/кг, (n=5)	295,0±1,18*	256,8±1,93#*
X група парацетамол (П) + L–тироксин (Т), (n=5)	294,6±1,17#*	246,9±0,99#*
XI група німесулід (Н) 80 мг/кг, (n=5)	295,1±0,8#*	197,4±1,0#*
XII група німесулід (Н) + L–тироксин (Т), (n=5)	294,5±0,7#*	193,6±1,19#*
XIII група целекоксиб (Ц) 50 мг/кг, (n=5)	295,3±0,8#*	204,0±2,02#*
XIV група целекоксиб (Ц) + L–тироксин (Т), (n=5)	294,8±1,08	201,3±0,54#*

**Примітки:** # – значення достовірні ( $p \leq 0,05$ ) по відношенню до відповідного показника I групи; \* – значення достовірні ( $p \leq 0,05$ ) по відношенню до відповідного показника II групи.

Так, на 42 добу во всіх експериментальних групах спостерігалось виражене підвищення рівня СТХ II, що відображає розвиток патологічних змін під впливом експериментальних моделей, які дещо збільшувались на 47 добу експерименту у I групі. Під впливом базової замісної терапії L–тироксином спостерігається незначна тенденція до зниження досліджуваного маркера, що відображено показниками II експериментальної групи, проте більш виражене зниження рівня маркера спостерігалось при сумісному призначенні L–тироксину з НПЗЗ (табл.).

Як видно з таблиці, більш виражене зниження рівню СТХ II спостерігається при сумісному призначенні НПЗЗ та L–тироксину, що зазначає більш ефективну фармакотерапію. Проте з огляду на отримані результати, за ступенем впливу на дегенеративно–дистрофічні процеси у хрящовій тканині досліджені препарати можна розташувати наступним чином: німесулід > целекоксиб > мелоксикам > ібупрофен > диклофенак натрію > парацетамол, що відображає різну ефективність зазначених препаратів (табл.).

**Обговорення отриманих результатів.** Проведене дослідження має важливу роль у визначенні питання про вплив НПЗЗ та парацетамолу на активність гормонів щитоподібної залози, що є основою фармакотерапії проявів ОА на фоні гіпотиреозу та впливає на ефективність лікування і на розвиток побічних явищ. Встановлено, що велика кількість препаратів може впливати на рівень гормонів щитоподібної залози шляхом змін у синтезі, транспорті та їх метаболізмі, що призводить до порушень функції щитоподібної залози за відсутності клінічних проявів [13–15].

Так, відомий вплив саліцилатів (у дозі більше 2 г на добу) на активність гормонів щитоподібної залози, що призводить до підвищення рівня Т4 та зниження рівня ТТГ. Зокрема, введення аспірину у дозі 1,5–3 г на добу різко підвищує концентрацію вільного гормону щитоподібної залози у 2–3 рази, а під час тривалого лікування прискорюється швидкість обміну Т4 [16–19]. Також відомо, що напроксен, диклофенак натрію та кетопрофен викликають зниження концентрації Т3, але не впливають на рівень Т4 і ТТГ, оскільки Т3 у людини менш активно пов'язаний з транспортними білками та легше витісняється, ніж Т4 [15, 16, 20]. В дослідженні Vishnoi A. з співавт. (1994) встановлено, що ібупрофен, піроксикам, суліндак та індометацин не впливають на рівень Т3 і Т4 сироватки крові та функцію щитоподібної залози у хворих [15], а меклофенамова кислота здатна підвищити рівень загальної та вільного гормону [21].

Біохімічний маркер С–тілопептиду колагену 2 типу (СТХ II) являє собою відображення інтенсивності розпаду хрящової тканини за рівнем продуктів

розпаду колагену 2 типу, які потрапляють у сироватку крові та інші середовища організму та тканини [22–25]. За дослідженнями багатьох авторів рівень СТХ II чутливий до змін на ранніх стадіях ОА [26–29], корелює з іншими біохімічними маркерами запалення та розпаду хрящової і кісткової тканини [30–32], мінеральній щільності кісткової тканини [33], прогресуванням ОА [34–38], відображає ступінь деструкції хрящу [39, 40], корелює зі змінами показників оксидативного стресу [41] та змінами на МРТ [42, 43], чутливий до змін під час фармакотерапії ОА [44–46].

Таким чином, отримані результати про вплив НПЗЗ та парацетамолу на рівень СТХ II на фоні експериментальних еквівалентів гіпотиреозу та ОА відображають ефективність взаємодії препаратів на тлі призначення тироксину та ступінь впливу препаратів на хрящову тканину за рівнем його руйнування.

## Висновки

1. Визначення рівня СТХ II дозволяє оцінити рівень дегенеративно–дистрофічних змін у хрящовій тканині на фоні експериментальних еквівалентів остеоартрозу та гіпотиреозу.
2. За ступенем впливу на дегенеративно–дистрофічні процеси у хрящовій тканині досліджені препарати можна розташувати наступним чином: німесулід > целекоксиб > мелоксикам > ібупрофен > диклофенак натрію > парацетамол.
3. Отримані дані рівня СТХ II сироватки крові щурів відображає ступінь впливу НПЗЗ та парацетамолу на розпад колагену II типу внаслідок взаємодії препаратів при експериментальному остеоартрозі та гіпотиреозі.

**Перспективи подальших досліджень.** Планається дослідження впливу НПЗЗ при експериментальних еквівалентах остеоартрозу та гіпотиреозу на рівень маркера СТХ–I.

## References

1. Nosivets DS. Vliyanie funktsionalnoy nedostatochnosti shchitovidnoy zhelezy na kostno–khryashchevuyu tkan [Influence of functional insufficiency of the thyroid gland on bone and cartilage tissue]. *Morfologiya*. 2019; 1(13): 47–51. [Russian]
2. Williams GR. Thyroid hormone actions in cartilage and bone. *Eur Thyroid J*. 2013; 2(1): 3–13. PMID: 24783033. PMCID: PMC3821494. DOI: 10.1159/000345548
3. Ehmouda F, Eljazwi E, Eldrasi N. Effect of L thyroxine therapy on musculoskeletal symptoms of hypothyroidism. Lecture in faculty medicine in Benghazi University. *Pan Arab Rheumatology*. 2014; 2014: 1–16.
4. Panikar VI, Pavlova IA, Zhernakova NI, Shcherban EA. Osteoartroz i osteoporoz kak komponenty polimorbidnoy geriatricheskoj patologii [Osteoarthritis and osteoporosis as components of polymorbid geriatric pathology]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2018, 4. [Russian]
5. Zhang R–X, Ren K, Dubner R. Osteoarthritis pain mechanisms: Basic studies in animal models. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013; 21(9): 1308–15. PMID: 23973145. PMCID: PMC3771690. DOI: 10.1016/j.joca.2013.06.013
6. Mobasher A, Bay–Jensen AC, Spil WE, Larkin J, Levesque MC. Osteoarthritis year in review 2016: biomarkers (biochemical markers). *Osteoarthritis and Cartilage*. 2017; 25(2): 199–208. PMID: 28099838. DOI: 10.1016/j.joca.2016.12.016
7. Nosivets DS. Vliyanie kombinatsii NPVS na techenie osteoartroza pri sopushtvuyushchem gipotireoze. *Problemy endokrinnoy patologii*. 2019; 2(68): 40–5. [Russian]
8. Voloshina LO, Voloshin OI, Pashkovska NV. Osoblivosti kompleksnogo likuvannya khvorikh na osteoartroz na tli subklishichnogo gipotireozu [Features of complex treatment of patients with osteoarthritis on the background of subclinical hypothyroidism]. *Mat nauk–prakt konf «Aktualni pitannya zberezheniya zdorov'ya lyudini»*. Uzhgorod, 2014. 2014: 48–51. [Ukrainian]
9. Guingamp C, Gegout–Pottier P, Philippe L, Terlain B, Netter P, Gillet P. Mono–iodoacetate–induced experimental osteoarthritis: a dose–response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis Rheum*. 1997; 40(9): 1670–9. PMID: 9324022. DOI: 10.1002/art.1780400917
10. Nosivets DS. Eksperimentalnye modeli patologii khryashchevoy tkani [Experimental models of cartilage pathology]. *Zaporozhskiy meditsinskiy zhurnal*. 2019; 4(115): 554–60. [Russian]
11. Argumedo GS, Sanz CR, Olguin HJ. Experimental models of developmental hypothyroidism. *Horm Metab Res*. 2012; 44(2): 79–85. PMID: 22203441. DOI: 10.1055/s–0031–1297941
12. Kostyuk VO. *Prikladna statistika* [Applied statistics]: navch posibnik. Kh: KhNUMG im OM Beketova; 2015. 191 p. [Ukrainian]
13. Davies PH, Franklyn JA. The effects of drugs on tests of thyroid function. *Eur J Clin Pharmacol*. 1991; 40(5): 439–51. PMID: 1884719. DOI: 10.1007/bf00315221
14. Wenzel KW. Disturbances of thyroid function tests by drugs. *Acta Med Austriaca*. 1996; 23(1–2): 57–60. PMID: 8767516
15. Bishnoi A, Carlson HE, Gruber BL, Kaufman LD, Bock JL, Lidonnici K. Effects of commonly prescribed nonsteroidal anti–inflammatory drugs on thyroid hormone measurements. *Am J Med*. 1994; 96: 235–8. PMID: 8154511. DOI: 10.1016/0002–9343(94)90148–1

16. Daminet S, Ferguson DC. Influence of drugs on thyroid function in dogs. *J Vet Intern Med.* 2003; 17(4): 463–72. PMID: 12892297. DOI: 10.1111/j.1939–1676.2003.tb02467.x
17. McConnell RJ. Changes in thyroid function tests during shortterm salsalate use. *Metabolism.* 1999; 48(4): 501–3. PMID: 10206445. DOI: 10.1016/s0026–0495(99)90111–7
18. Larsen PR. Salicylate-induced increases in free triiodothyronine in human serum: Evidence of inhibition of triiodothyronine binding to thyroxine-binding globulin and thyroxine-binding prealbumin. *J Clin Invest.* 1972; 51(5): 1125–34. PMID: 4623165. PMCID: PMC292242. DOI: 10.1172/JCI106905
19. McConnell RJ. Abnormal thyroid function test results in patients taking salsalate. *J Am Med Assoc.* 1992; 267(9): 1242–3. PMID: 1538562
20. Carlson HE, Kael AT, Schulman PE, Tan M, Bock JL. Effects of several nonsteroidal anti-inflammatory drugs on thyroid function tests. *J Rheumatol.* 1999; 26(8): 1855–6. PMID: 10451096
21. Samuels MH, Pillote K, Asher D, Nelson JC. Variable effects of nonsteroidal antiinflammatory agents on thyroid test results. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(12): 5710–6. PMID: 14671157. DOI: 10.1210/jc.2002–021869
22. Löfvall H, Katri A, Dąbrowska A, Karsdal MA. GPDPLQ1237–A type II collagen neo-epitope biomarker of osteoclast- and inflammation-derived cartilage degradation in vitro. *Scientific Reports.* 2019; 9(1): 3050. DOI: 10.1038/s41598–019–39803–0
23. Wang XZ, Gao NY, Liu T, Shen J, Wei SP, Zheng YX, et al. Application of biomarker CTX–II in osteoarthritis. *Zhongguo Gu Shang.* 2013;26(3): 260–3. PMID: 23795452
24. Kraus VB, Burnett B, Coindreau J, Cottrell S, Eyre D, Gendreau M, et al. Application of biomarkers in the development of drugs intended for the treatment of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2011; 19(5): 515–42. PMID: 21396468. PMCID: PMC3568396. DOI: 10.1016/j.joca.2010.08.019
25. Ma T, Li Y, Wang G, Li X, Jiang RL, Song XP, et al. Changes in synovial fluid biomarkers after experimental equine osteoarthritis. *Vet Res.* 2017; 61(4): 503–8. PMID: 29978116. PMCID: PMC5937351. DOI: 10.1515/jvetres–2017–0056
26. Bai B, Li Y. Combined detection of serum CTX–II and COMP concentrations in osteoarthritis model rabbits: an effective technique for early diagnosis and estimation of disease severity. *J Orthopaedic Surgery and Research.* 2016; 11(1): 149. PMID: 27876074. PMCID: PMC5120436. DOI: 10.1186/s13018–016–0483–x
27. Lorenz H, Wenz W, Ivancic M, Steck E, Richter W. Early and stable upregulation of collagen type II, collagen type I and YKL40 expression levels in cartilage during early experimental osteoarthritis occurs independent of joint location and histological grading. *Arthritis Res Ther.* 2005; 7: 156–65. PMID: 15642136. PMCID: PMC1064896. DOI: 10.1186/ar1471
28. Bai L, Wang Y, Ba G. Research progress of C terminal propeptide of collagen type II. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2011; 25(1): 66–9. PMID: 21351613
29. van Spil WE, Jansen NW, Bijlsma JW, Reijman M, DeGroot J, Welsing PM, et al. Clusters within a wide spectrum of biochemical markers for osteoarthritis: data from CHECK, a large cohort of individuals with very early symptomatic osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012; 20(7): 745–54. PMID: 22503811. DOI: 10.1016/j.joca.2012.04.004
30. Klerk B, Lafeber FP, van Spil WE. Associations of CTX–II with biochemical markers of bone turnover raise questions about its tissue origin: new insights from CHECK. *Ann Rheum Dis.* 2014; 73(7): 39. PMID: 24695012. DOI: 10.1136/annrheumdis–2014–205494
31. Karsdal MA, Byrjalsen I, Bay–Jensen AC, Henriksen K, Riis BJ, Christiansen C. Biochemical markers identify influences on bone and cartilage degradation in osteoarthritis – the effect of sex, Kellgren–Lawrence (KL) score, Body Mass Index (BMI), oral salmon calcitonin (sCT) treatment and diurnal variation. *BMC Musculoskeletal Disorders.* 2010; 11: 125. PMID: 20565725. PMCID: PMC2902412. DOI: 10.1186/1471–2474–11–125
32. Xin L, Wu Z, Qu Q, Wang R, Tang J, Chen L. Comparative study of CTX–II, Zn<sup>2+</sup>, and Ca<sup>2+</sup> from the urine for knee osteoarthritis patients and healthy individuals. *Medicine.* 2017; 96: 32. PMID: 28796042. PMCID: PMC5556208. DOI: 10.1097/MD.0000000000007593
33. Sarukawa J, Takahashi M, Doi M, Suzuki D, Nagano A. A longitudinal analysis of urinary biochemical markers and bone mineral density in str/ort mice as a model of spontaneous osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2010; 62(2): 463–71. PMID: 20112372. DOI: 10.1002/art.27202
34. Saberi Hosnijeh F, Siebuhr AS, Uitterlinden AG, Oei EH, Hofman A, Karsdal MA, Saberi Hosnijeh F, Siebuhr AS, Uitterlinden AG, Oei EH, Hofman A, Karsdal MA, et al. Association between biomarkers of tissue inflammation and progression of osteoarthritis: evidence from the Rotterdam study cohort. *Arthritis Research & Therapy.* 2016; 18: 81. PMID: 27039382. PMCID: PMC4818486. DOI: 10.1186/s13075–016–0976–3
35. Arends RH, Karsdal MA, Verburg KM, Bay–Jensen AC. Biomarkers associated with rapid cartilage loss and bone destruction in osteoarthritis patients. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2016; 24: 8–62.
36. Li ZN, Wei XC. Diagnosis value of biological markers CTX–II in osteoarthritis. *Zhongguo Gu Shang.* 2008; 21(9): 719–22. PMID: 19105305
37. Song Y, Guan J, Wang H, Ma W, Li F, Xu F, et al. Possible involvement of serum and synovial fluid resistin in knee osteoarthritis: cartilage damage, clinical, and radiological links. *J Clinical Laboratory Analysis.* 2016; 30(5): 437–43. PMID: 26494484. DOI: 10.1002/jcla.21876

38. Kumm J, Tamm A, Lintrop M, Tamm A. The value of cartilage biomarkers in progressive knee osteoarthritis: cross-sectional and 6-year follow-up study in middle-aged subjects. *Rheumatol Int.* 2013; 33(4): 903–11. PMID: 22821260. DOI: 10.1007/s00296-012-2463-8
39. Oestergaard S, Chouinard L, Doyle N, Karsdal MA, Smith SY, Qvist P, et al. The utility of measuring C-terminal telopeptides of collagen type II (CTX-II) in serum and synovial fluid samples for estimation of articular cartilage status in experimental models of destructive joint diseases. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2006; 14(7): 670–9. PMID: 16500121. DOI: 10.1016/j.joca.2006.01.004
40. Garnero P, Ayrat X, Rousseau J-C, Christgau S, Sandell LJ, Dougados M, et al. Uncoupling of type II collagen synthesis and degradation predicts progression of joint damage in patients with knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2002; 46(10): 2613–24. PMID: 12384919. DOI:10.1002/art.10576
41. Watari T, Naito K, Sakamoto K, Kurosawa H, Nagaoka I, Kaneko K. Evaluation of the effect of oxidative stress on articular cartilage in spontaneously osteoarthritic STR/OrtCrj mice by measuring the biomarkers for oxidative stress and type II collagen degradation/synthesis. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 2011; 2(2): 245–50. PMID: 22977492. PMCID: PMC3440670. DOI: 10.3892/etm.2011.196
42. Yarmola EG, Shah YY, Kloefkorn HE, Dobson J, Allen KD. Comparing intra-articular CTXII levels assessed via magnetic capture or lavage in a rat knee osteoarthritis model. *Osteoarthritis Cartilage.* 2017; 25(7): 1189–94. PMID: 28137664. PMCID: PMC5466845. DOI: 10.1016/j.joca.2017.01.009
43. Deveza LA, Kraus VB, Collins JE, Guermazi A, Roemer FW, Bowes M, et al. The association between biochemical markers of bone turnover and bone changes on imaging – data from the osteoarthritis initiative. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017; 69(8): 1179–91. PMID: 27723280. PMCID: PMC5385286. DOI: 10.1002/acr.23121
44. Isaka S, Someya A, Nakamura S, Naito K, Nozawa M, Inoue N, et al. Evaluation of the effect of oral administration of collagen peptides on an experimental rat osteoarthritis model. *Experimental and therapeutic medicine.* 2017; 13: 2699–706. PMID: 28587333. PMCID: PMC5450616. DOI: 10.3892/etm.2017.4310
45. Di Cesare Mannelli L, Micheli L, Zanardelli M, Ghelardini C. Low dose native type II collagen prevents pain in a rat osteoarthritis model. *BMC Musculoskeletal Disorders.* 2013; 14: 228. PMID: 23915264. PMCID: PMC3751133. DOI: 10.1186/1471-2474-14-228
46. Nielsen RH, Bay-Jensen AC, Byrjalsen I, Karsdal MA. Oral salmon calcitonin reduces cartilage and bone pathology in an osteoarthritis rat model with increased subchondral bone turnover. *Osteoarthritis and Cartilage.* 2011; 19(4): 466–73. PMID: 21251986. DOI: 10.1016/j.joca.2011.01.008

УДК 615.017

## ВЛИЯНИЕ НЕСТЕРОИДНЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ НА УРОВЕНЬ МАРКЕРА СТХ II В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГИПОТИРЕОЗА И ОСТЕОАРТРОЗА

**Носивец Д. С.**

**Резюме.** Заболевания щитовидной железы относятся к актуальной проблеме современного общества в связи с широким распространением данной патологии и со связанными с этими заболеваниями расстройствами со стороны опорно-двигательного аппарата, однако вопрос влияния и взаимодействия нестероидных противовоспалительных средств при лечении остеоартроза на фоне гипотиреоза исследованы недостаточно.

**Цель** – исследовать уровень маркера СТХ II под влиянием нестероидных противовоспалительных средств в условиях экспериментальных эквивалентов гипотиреоза и остеоартроза.

Экспериментальный остеоартроз воспроизводили путем однократного внутрисуставного введения 0,1 мл раствора моноiodуксусной кислоты в коленный сустав, который готовили из расчета 3 мг реактива на 50 мкл стерильного физиологического раствора. Экспериментальный гипотиреоз воспроизводили путем энтерального введения 0,02% раствора карбимазола (препарат «Эспа-карб», производства Еспафарма ГмБХ, Германия; в таблетках по 5 или 10 мг), который готовили из расчета 5 мг на 250 мл физиологического раствора и давали с питьевым рационом животных в течение 6 недель. Введение препаратов осуществляли ежедневно с 42 суток эксперимента на фоне нарастания патологических изменений в течение 5 суток. Для получения однородной суспензии для внутривентрикулярного введения таблетированных форм использовали раствор Твин-80 (Полисорбат 80, Украина).

Количественный уровень СТХ II сыворотки крови определяли методом конкурентного ИФА in vitro дважды (на 42 и 47 сутки эксперимента) с использованием иммуноферментной тест-системы «RatCartiLaps®» (Cobas, Roche Diagnostics, Швейцария) по методике производителя.

Автором установлено, что определение уровня СТХ II позволяет оценить уровень дегенеративно-дистрофических изменений в хрящевой ткани на фоне экспериментальных эквивалентов остеоартроза и гипотиреоза. По степени воздействия на дегенеративно-дистрофические процессы в хрящевой ткани

исследованные препараты можно расположить следующим образом: нимесулид > цефекоксиб > мелоксикам > ибупрофен > диклофенак натрия > парацетамол. Полученные данные уровня СТХ II сыворотки крови крыс отражают степень влияния нестероидных противовоспалительных средств и парацетамола на распад коллагена II типа в результате взаимодействия препаратов при экспериментальном остеоартрозе и гипотиреозе.

**Ключевые слова:** гипотиреоз, остеоартроз, нестероидные противовоспалительные средства, базовая фармакотерапия, биохимические маркеры, СТХ II.

UDC 615.017

### **Influence of Non–Steroidal Anti–Inflammatory Drugs on the Level CTX II Marker under Experimental Hypothyroidism and Osteoarthritis**

**Nosivets D. S.**

**Abstract.** Thyroid diseases are an urgent problem in modern society due to the wide spread of this pathology and related disorders of the musculoskeletal system, however, the issue of the influence and interaction of NSAIDs in the treatment of osteoarthritis against hypothyroidism has not been studied enough.

*The purpose of the study* was to investigate the level of CTX II marker under the influence of NSAIDs under experimental equivalents of hypothyroidism and osteoarthritis.

*Material and methods.* Experimental osteoarthritis was reproduced through a single intra-articular administration of 0.1 ml of monoiodoacetate acid solution into the knee joint, which was prepared at the rate of 3 mg of reagent to 50 µl of sterile saline. Experimental hypothyroidism was reproduced by enteral introduction of a 0.02% solution of carbimazole (the drug "Espa-carb", manufactured by Esparma GmbH, Germany; in tablets of 5 or 10 mg), which was prepared at the rate of 5 mg in 250 ml saline and given with drinking diet for 6 weeks. The drugs were administered daily from day 42 of the experiment on the background of increasing pathological changes within 5 days. To obtain a homogeneous suspension for intragastric administration tablets used solution Tween–80 (Polysorbate 80, Ukraine).

The quantitative level of CTX II serum was determined by competitive ELISA in vitro twice (for 42 and 47 days of the experiment) using the enzyme immunoassay system "RatCartiLaps®" (Cobas, Roche Diagnostics, Switzerland) according to the method of the manufacturer.

*Results and discussion.* The author established that obtained changes in the level of CTX II marker in the serum of rats under the influence of NSAIDs and paracetamol occurred unequally. Thus, on the 42<sup>nd</sup> day there was a marked increase in the level of CTX II marker in all experimental groups, reflecting the development of pathological changes under the influence of experimental models, which increased slightly by the 47<sup>th</sup> day in the experiment in group I. Under the influence of basic substitution therapy with L-thyroxine, there was a slight tendency to decrease the test marker, which was reflected by the indicators of experimental group II.

*Conclusion.* The study results showed that the definition of level CTX II marker allows to assess the level of degenerative changes in the cartilage on the background of experimental equivalents of osteoarthritis and hypothyroidism. The degree of impact on degenerative processes in the cartilage tissue of the investigated drugs can be arranged as follows: nimesulide > celecoxib > meloxicam > ibuprofen > diclofenac sodium > paracetamol. The obtained data of the level CTX II serum of rats reflected the degree of influence of NSAIDs and paracetamol on the disintegration of collagen type II by interaction of the drugs in experimental osteoarthritis and hypothyroidism.

**Keywords:** hypothyroidism, osteoarthritis, non–steroidal anti–inflammatory drugs, basic pharmacotherapy, biochemical markers, CTX II.

*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 02.08.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування