

СТАН ЕНДОТЕЛІУ СУДИН ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОСТЕОАРТРОЗІ

¹д. м. н., проф. Савицький І. В.,

²Орел К. С.,

³М'ястківська І. В.

Україна, м. Одеса;

¹Одеський національний медичний університет, кафедра Загальної та клінічної патологічної фізіології;

²Одеська обласна клінічна лікарня, лікар-травматолог;

³Одеський національний медичний університет, студентка 6-го курсу

ARTICLE INFO

Received 12 December 2017

Accepted 26 December 2017

Published 10 January 2018

KEYWORDS

osteoarthritis,
experimental model,
endothelial dysfunction,
nitric oxide,
endothelin-1,
Vilibrand factor,
endothelial NO synthase

ABSTRACT

According to the WHO, osteoarthritis will become the fourth cause of disability among women, and the eighth - among men in the next 10-15 years. Therefore, it is definitely relevant that recent attention has been given to the development of endothelial pathology among patients suffering from this disease.

The purpose of this research is the investigation of the dynamics of endothelial dysfunction's markers among rats with an experimental model of osteoarthritis. The experiment was performed on 60 rats of the Vistar line, with an average weight 170-210 g. Animals were divided into 2 groups: group 1 - intact (20 animals); group 2 - Experimental - with simulated osteoarthritis (40 animals). The decrease of nitric oxide in the bloodstream was determined in the aforementioned pathological process. Under these conditions, an increase of endothelin-1 was observed, which indicated the evidence of vasoconstriction. Also, in the experimental group, the activity of endothelial NO-synthase decreased. An increase of the content of the Vilibrand factor in the experimental group of rats was found, indicating the development of endothelial dysfunction.

© 2018 The Authors.

Вступ. За даними ВООЗ, в найближчі 10-15 років остеоартроз (ОА) стане четвертою причиною інвалідності у жінок, та восьмою – у чоловіків [1]. Частота захворюваності на складає 30-55 % серед усіх захворювань кістково-суглобової системи [2, 3]. Вказана патологія, за даними літератури, займає від 3 до 10 % усіх хвороб популяції у світі [2, 4].

На даному етапі досліджень остеоартроз розглядається як комплексне захворювання, при якому в процес залучаються усі структурні компоненти суглоба [5]. Ряд авторів визначає ОА, як гетерогенну групу захворювань різної етіології із тотожними клінічними, морфологічними та біологічними проявами, в основі яких – пошкодження хряща, субхондральної кістки, синовіальної оболонки, зв'язок, капсули та білясуглобових 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 також наступні причини порушення функціонування та структури ендотеліального шару судин при остеоартрозі: окислювальний стрес [9, 10], продукція ендотелінів та ендоперикисів, які є вазоконстрикторами. Відіграють свою роль і

прозапальні цитокіни, які порушують продукцію оксиду азоту [10, 11].

Враховуючи вищезазначене, важливим є пошук нових способів корекції ОА. Експериментальні роботи із залученням лабораторних тварин необхідні для оцінки ефективності нововведень на першому етапі досліджень. Для патогенетично обґрунтованого їх проведення оптимальним є максимальне наближення умов та ланок експерименту до особливостей захворювання, що вивчається.

Мета: дослідження динаміки маркерів дисфункції ендотелію у щурів з експериментальною моделлю остеоартрозу.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на 60 щурах лінії Вістар, середньою масою 170-210 гр. Тварини були розподілені на 2 групи:

1 група – інтактна (20 тварин);

2 група – експериментальна – зі змодельованим остеоартрозом (40 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.).

Тварин виводили з експерименту на 30-у добу під легким ефірним наркозом. Проводили забір крові для біохімічного дослідження (спектрофотометричного та фотоелектроколориметричного за ристо-цитиновим часом). Визначали вміст наступних показників: NOx, S-NO, ендотеліну-1, фактора Віллебранда та активність ендотеліальної NO-синтази. Статистична обробка отриманих результатів проводилась за допомогою математично-статистичних методів в пакеті аналізу SPSS 19.0. 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) [12]. Впевнившись, що розподілення даних в вибірках не відрізняється від нормального, використовували параметричний критерій Стюдента [13].

Результати та їх обговорення. Нами отримані дані про високо значуще зниження вмісту оксиду азоту у групі дослідження з експериментальним ОА. Про це свідчить зниження рівню NOx (на рівні значущості $p < 0,01$) та S-NO (на рівні значущості $p < 0,001$), які є кінцевими продуктами та метаболітами оксиду азоту (Табл.1; Табл. 2).

Таблиця 1. Статистичні порівняння результатів контрольної та експериментальної груп тварин за допомогою критерію Стюдента з двостороннім розподілом для незалежних вибірок. Відмічені середні арифметичні значення та їх стандартні похибки

Показник	NOx	
	Контрольна група	Експериментальна група
Групи дослідження		
M ± m	22,64 ± 1,21	18,40 ± 0,73
Рівень статистичної значущості відмінностей	P= 0,005 P<0,01	

Таблиця 2. Статистичні порівняння результатів контрольної та експериментальної груп тварин за допомогою критерію Стюдента з двостороннім розподілом для незалежних вибірок. Відмічені середні арифметичні значення та їх стандартні похибки

Показник	S-NO	
	Контрольна група	Експериментальна група
Групи дослідження		
M ± m	0,38 ± 0,03	0,25 ± 0,01
Рівень статистичної значущості відмінностей	P= 0,0003 P<0,001	

У другій групі, в порівнянні з інтактними тваринами, виявлено підвищення ендотеліну-1 на рівні значущості $p < 0,0001$ (Табл.3), що відображає патологічну активізацію вазоконструкції.

Таблиця 3. Статистичні порівняння результатів контрольної та експериментальної груп тварин за допомогою критерію Стюдента з двостороннім розподілом для незалежних вибірок. Відмічені середні арифметичні значення та їх стандартні похибки

Показник	Ендотелін-1	
	Контрольна група	Експериментальна група
Групи дослідження		
M ± m	3,15 ± 0,01	4,09 ± 0,22
Рівень статистичної значущості відмінностей	P= 0,0001 P<0,001	

В ході експерименту підтверджуються відомі з літературних джерел дані про розвиток дисфункції ендотелію у пацієнтів, що страждають остеоартрозом [14] – виявлено підвищення відсоткового вмісту фактору Віллебранда у крові ($p < 0,001$), що є загальноприйнятим маркером дисфункції ендотелію (Табл. 4).

Таблиця 4. Статистичні порівняння результатів контрольної та експериментальної груп тварин за допомогою критерію Стюдента з двостороннім розподілом для незалежних вибірок. Відмічені середні арифметичні значення та їх стандартні похибки

Показник	Фактор Віллебранда	
	Контрольна група	Експериментальна група
Групи дослідження		
M ± m	83,32 ± 2,37	94,95 ± 1,63
Рівень статистичної значущості відмінностей	P= 0,004 (P<0,01)	

Одним із фізіологічних шляхів утворення оксиду азоту є його синтез із L-аргініну за допомогою фермента ендотеліальної NO-синтази. Спостерігається зниження її активності в групі експерименту в порівнянні з даними норми (Табл.5.) ($p < 0,001$).

Таблиця 5. Статистичні порівняння результатів контрольної та експериментальної груп тварин за допомогою критерію Стьюдента з двостороннім розподілом для незалежних вибірок. Відмічені середні арифметичні значення та їх стандартні похибки

Показник	Ендотеліальна NOS	
	Контрольна група	Експериментальна група
Групи дослідження		
M ± m	0,74 ± 0,06	0,46 ± 0,01
Рівень статистичної значущості відмінностей	P= 0,003 (P<0,01)	

Спостерігається виражений взаємозв'язок параметрів: збільшення рівня ендотеліну-1 та зменшення S-NO, що свідчить про розвиток дисфункції ендотелію. Поряд зі зниженням S-NO виявлено зменшення суми ендогенних нітратів та нітритів (NOx), що також є доказом гіпопродукції оксиду азоту у крові.

Порушення його утворення підтверджує виявлене зменшення активності ендотеліальної NO-синтази. Дані патологічні зміни, що виявлені у групі зі змодельованим остеоартрозом у щурів, свідчать про порушення нормального функціонування ендотелію, що підтверджується збільшенням вмісту фактора Віллебранда в крові експериментальних тварин.

Висновки.

1. При змодельованому остеоартрозі визначається зниження оксиду азоту у кров'яному руслі.

2. За даних умов постерігається підвищення ендотеліну-1, що свідчить про посилення ефектів вазоконстрикції.

3. Також в експериментальній групі знижується активність ендотеліальної NO-синтази.

4. Виявлено збільшення вмісту фактора Віллебранда в експериментальній групі щурів, що свідчить про розвиток ендотеліальної дисфункції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Загородний Н. В., Карпович Н. И., Скворцов Д. В., Дамаж А. А., Абдулхабилов М. А., Безверхий С. В.. Клинико-биомеханическое обоснование внутрисуставной инъекционной терапии пациентов с гонартрозом. Амбулаторная хирургия. 2015;1-2(57-58):55-60.
2. Макарова М. В., Вальков М. Ю., Якоби А. Я., Юницына А. В., Титова Л. В., Гржибовский А. М.. Ультразвуковые предикторы прогрессирования рентгенологически нулевой стадии остеоартроза в рентгенопозитивную I стадию. Вестник новых медицинских технологий. [Электронное издание]. 2015. №4. Публикация 2-3. URL:<http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-4/5231.pdf> (дата обращения: 13.11.2015). DOI: 10.12737/14922
3. Данчинова А. М., Батудаева Т. И., Меньшикова Л. В. Эпидемиология остеоартроза в Республике Бурятия. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2012;6:112-114.
4. Насонов Е. Л., Насонова В. А. Ревматология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа;2014. 720 с.
5. Алексеева Л. И., Зайцева Е. М. Перспективные направления терапии остеоартроза. Научно-практическая ревматология. 2014;52(3):247–250.
6. Аникин С. Г., Алексеева Л. И. Хондроитина сульфат: механизмы действия, эффективность и безопасность при терапии остеоартроза. Современная ревматология. 2012;3:78-82.
7. Клинические рекомендации. Ревматология. Под ред. акад. РАМН Е. Л. Насонова. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010.326.
8. Титов В. Н. Анатомические и функциональные основы эндотелийзависимой вазодилатации, оксид азота и эндотелин. Российский кардиологический журнал. 2008;1 (69):71-85.
9. Лупинская Э. А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока. Вестник КРСУ. 2003;7:68-73.
10. Новикова Д. С., Попова Т. В., Насонов Е. Л. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний при ревматоидном артрите. Терапевтический архив. 2009;5:88-96.
11. Трунов А. Н., Славянская Т. А., Михайлова Т. В. Значения иммунобиохимических показателей в сыворотке крови и синовиальной жидкости при остеоартрозе. Аллергология и иммунология. 2002;3(3):434-436.
12. Shapiro S. S., Wilk M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). Biometrika. 1965;52 (3–4): 591–611.
13. Shaffer J. P. Multiple Hypothesis Testing. Annual Review of Psychology. 1995;46: 561–584. doi:10.1146/annurev.ps.46.020195.003021.
14. Алексенко Е. Ю. Дисфункция эндотелия у больных остеоартрозом. Кубанский научный медицинский вестник. 2010;8:16-19.