

УДК 616. 728.48-001-06-084-08-089

Акт виконаних робіт до угоди № 1726 від 29.07.2010 р.

Міністерство охорони здоров'я УКРАЇНИ
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця
01601, м. Київ – 601, бул. Т. Шевченка, 13, тел.: (044) 234 – 60 – 63

ЗАТВЕРДЖУЮ
Ректор НМУ ім. О. О. Богомольця
Академік НАМН України
професор **В.Ф. Москаленко**

З В І Т
ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ
„ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ДІЇ КОМБІНАЦІЇ ГІАЛУРОНОВОЇ
КИСЛОТИ ІЗ СУКЦИНАТОМ НАТРІЮ В ПРЕПАРАТІ „ГІАЛУАЛЬ-
АРТРО” В ПОРІВНЯННІ З МОНО ПРЕПАРАТОМ ГІАЛУРОНОВОЇ
КИСЛОТИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ”

Керівник НДР, завідувач кафедри
травматології та ортопедії,
д. мед. наук., професор

О. А. Бур'янов

” ”2011 р.

Відповідальний виконавець,
к.мед.н., доц.

Т.М. Омельченко

” ”2011 р.

2011

РЕФЕРАТ

Звіт про НДР: с. 54, рис.12, табл.13. Джерела 36 (29 кирилиця, 7 латиниця).

Об'єкт дослідження. Структурно-функціональні порушення в суглобі під час проведення експерименту у піддослідних тварин.

Предмет дослідження. Структурно-функціональний стан суглобового хряща, синовіальної оболонки, субхондральної кістки суглоба у експериментальних тварин та його динаміка під впливом препаратів гіалуронової кислоти.

Мета роботи. Дослідити ефективність та безпечність впливу комбінації гіалуронової кислоти та сукцинату натрію у препараті «Гіалуаль-артро» у порівнянні з монопрепаратом гіалуронової кислоти при профілактиці та лікуванні післятравматичного остеоартрозу в експерименті на тваринах.

Методи дослідження – морфологічне та гістологічне дослідження; біохімічні дослідження; дослідження системи антиоксидантного захисту (спонтанної та індукованої хемілюмінесценції як показника інтенсивності процесів вільно радикального перекисного окислення), методи статистичного аналізу.

В експерименті на 32 дорослих кролях, масою 2,9 – 0,15 кг, на моделі трансхондрального ушкодження суглобового хряща колінного суглоба вивчали порівняльний вплив комбінації гіалуронової кислоти із сукцинатом натрію (препарат “Гіалуаль-артро” та монопрепарату гіалуронової кислоти шляхом інтрасуглобового введення на розвиток (профілактична дія) та попередження прогресування наявного остеоартрозу (лікувальна дія) посттравматичного остеоартрозу колінного суглоба та репаративний хондрогенез суглобового хряща. Також досліджували активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів (ВРПОЛ) у плазмі крові, гомогенатах тканини печінки та міокарду та з'ясовували зміни біохімічних показників обміну хрящової та кісткової тканини пошкоджених суглобів у сироватці крові.

Аналіз отриманих результатів досліджень дозволив поглиблено вивчити та уточнити ланки патогенезу остеоартрозу, довести ефективність застосування препаратів гіалуронової кислоти на патогенетичному рівні впливу та перевагу застосування комбінації гіалуронату з сукцинатом у препараті Гіалуаль-артро. Системний аналіз дозволив також створити клініко-діагностичний алгоритм у вигляді диференційованих критеріїв застосування препаратів різної концентрації та об'єму. Велике значення приділялось вивченню порушень з боку внутрішніх органів та систем при застосуванні препаратів груп дослідження і їх ролі у виникненні та перебігу основного захворювання.

Ступінь впровадження – медицина, ортопедія, травматологія, ревматологія. Публікації, доповіді, курси кафедри.

ПІСЛЯТРАВМАТИЧНИЙ ОСТЕОАРТРОЗ, ПАТОГЕНЕТИЧНЕ
ЛІКУВАННЯ, ХОНДРОПРОТЕКТОРИ, МОДЕЛЬ ОСТЕОАРТРОЗА,
ГІАЛУАЛЬ-АРТРО.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів.....	4
Вступ.....	5
1. Огляд літератури.....	6
1.1 Сучасні уявлення про механізми патогенезу остеоартрозу.....	6
1.2 Патоморфологічні особливості при остеоартрозі.....	11
1.3 Лікування остеоартрозу в рамках доказової медицини.....	13
1.4 Сучасні уявлення про роль та механізм дії гіалуронової кислоти при профілактиці та лікуванні остеоартрозу.....	20
2. Матеріал та методи дослідження.....	22
3. Результати дослідження	27
3.1. Аналіз результатів морфологічного та гістологічного дослідження у групах порівняння.....	27
3.2. Результати експериментального дослідження активності ВРПОЛ та антиоксидантного захисту організму	36
3.5. Результати біохімічних досліджень основних показників метаболізму кісткової та хрящової тканин у досліджуваних групах	46
Висновки.....	50
Перелік посилань.....	52

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АРО – апарат руху та опори

ВРПОЛ – вільнорадикальне перекисне окислення ліпідів

ГАГ – глікозаміноглікани

ГК – гіалуронова кислота

ДОА – деформуючий остеоартроз

ЕПОАКС – експериментальний післятравматичний остеоартроз колінного
суглоба

ІХЛ – індукована хемілюмінісценція

МОС – металоостеосинтез

НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати

ОА – остеоартроз

ОП – остеопороз

СТ – сполучна тканина

СХЛ – спонтанна хемілюмінесценція

ВСТУП

Актуальність роботи. Остеоартроз – гетерогенна група захворювань різної етіології з подібними біологічними, морфологічними та клінічними проявами і наслідками, в основі яких лежить ураження всіх елементів суглоба, в першу чергу, суглобового хряща, а також субхондральних відділів кістки, синовіальної оболонки, зв'язок, капсули, периартикулярних м'язів. Вказані зміни відбуваються поступово в результаті того, що травмування суглобового хряща при навантаженні перевищує швидкість його репарації (фізіологічного оновлення). Зміни в суглобі при остеоартрозі характеризуються первинною дегенерацією суглобового хряща з подальшими структурними змінами субхондральної кістки, помірним або вираженим синовіїтом, хронічним перебігом та тенденцією до прогресування.

Проблема остеоартрозу залишається однією з актуальних та не вирішених проблем сучасної артрології. Це обумовлено значною розповсюдженістю даної патології серед людей середньої та старшої вікової групи, нез'ясованістю багатьох аспектів патогенезу даного захворювання, відсутністю ефективних способів лікування та соціальними проблемами, які виникають у хворих, а саме зниження рівня якості життя, соціальній дезадаптації, тривалим порушенням та втратою працездатності. Так тривале порушення працездатності у хворих на остеоартроз спостерігається в середньому у 60 % випадків та у 11,5 % призводить в подальшому до інвалідності. В популяції питома вага остеоартрозу в загальній структурі захворюваності складає 12% та займає перше місце серед патологій суглобів.

На дане захворювання припадає майже 80% в загальній структурі патології суглобів у осіб старше 60 років, у 10-30% випадків остеоартроз призводить до непрацездатності різного ступеня [9,24]. За останні 30-60 років зафіксовано зростання захворюваності на ОА у 5-9 разів. Медико-демографічні показники Європи та США засвідчують продовження процесу "старіння" населення та збільшення частки осіб старше 60 років, у 2020 році кількість населення цієї вікової групи збільшиться вдвічі. Прогнозується збільшення повікової захворюваності на остеоартроз, особливо в працездатному віці, а також зростання захворюваності в дитячому і підлітковому віці – „омолодження остеоартрозу”. Всі ці складові обумовлюють подальше зростання захворюваності на дану патологію як в абсолютних, так і у відносних величинах. Лікування ОА є комплексним і тривалим, а наявність часто множинної супутньої патології у пацієнтів літнього віку вимагає жорсткого підходу у виборі ефективної та безпечної терапії, який ґрунтується на достовірній доказовій базі.

Надзвичайно цікавим та актуальним є вивчення етіопатогенетичних ланок, окремих механізмів розвитку та прогресування остеоартрозу, оскільки це питання до теперішнього часу залишається недостатньо вивченим, що обумовлює відсутність значних успіхів у лікуванні та профілактиці даного захворювання. Вже доведені такі важливі чинники та ланки патогенезу остеоартрозу як запалення, травма, перевантаження, гормональний дисбаланс

що можуть поєднуватися, виникати послідовно або впливати ізольовано. Останнім часом в все частіше піднімається питання щодо ролі активних форм кисню та значення процесу вільнорадикального перекисного окислення, як одного з ключових ланок в патогенезі остеоартрозу. Доведено, що дисбаланс вказаних процесів має місце при розвитку та прогресуванні остеоартрозу, що обумовлює необхідність їх дослідження при обстеженні хворих та корекції при лікуванні.

Остеоартроз є одночасно результатом дії механічних та біологічних факторів, які порушують синхронні процеси біодеградації та утворення клітин суглобового хряща, міжклітинного матриксу. Варіабельність і стадійність перебігу ОА у кожного хворого потребує диференційного підходу до лікування даного захворювання, яке повинно бути патогенетично обґрунтованим та впливати на конкретні ланки патологічного процесу.

Мета роботи. Дослідити ефективність та безпечність впливу комбінації гіалуронової кислоти та сукцинату натрію у препараті «Гіалуаль-артро» у порівнянні з монопрепаратом гіалуронової кислоти при профілактиці та лікуванні післятравматичного остеоартрозу в експерименті на тваринах.

Завдання дослідження:

1. В експерименті дослідити особливості формування післятравматичного остеоартрозу та можливості корекції структурно-функціональних порушень при даному захворюванні за допомогою розробленого фармакологічного препарату комбінованої дії у складі гіалуронату та сукцинату.
2. Визначити в експерименті безпечність та ефективність монопрепарату гіалуронової кислоти у порівнянні з комбінацією її з сукцинатом натрію, який є ефективним засобом активізації аеробного тканинного дихання, клітинного метаболізму та ефективності енергоутворення.

Об'єкт дослідження. Структурно-функціональні порушення в суглобі під час проведення експерименту у піддослідних тварин.

Предмет дослідження. Структурно-функціональний стан суглобового хряща, синовіальної оболонки, субхондральної кістки суглоба у експериментальних тварин та його динаміка під впливом препаратів гіалуронової кислоти.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Сучасні уявлення про механізми патогенезу остеоартрозу.

Остеоартроз (ОА) – одне з найбільш розповсюджених дегенеративно-дистрофічних захворювань суглобів, на яке страждає від 6,4 до 12% населення світу (Гайко Г.В. та ін. 2005; С.П. Миронов, Н.П. Омеляненко, А.К. Орлецкий, 2001).

Це поліетіологічне захворювання, виникнення та розвиток якого пов'язані з низкою генетичних, ендогенних (гормональний дисбаланс, імунні порушення, оксидативний стрес) та екзогенних факторів (травма, перевантаження). Більшість вчених вважають, що при ОА первинно пошкоджується хрящова тканина (Б.Сіменач, О.Бабуркіна, 2003; Виноградова Е.В., 2000 Насонова В.А., 2000; Гайко Г.В. та ін. 2005; Buckwalter J.A, Mankin H.J, Grodzinsky A.J., 2005). У патогенезі цього захворювання спостерігається порушення не тільки структури і функції матриксу хряща, але і його метаболізму (Корж М.О., Дедух Н.В. та ін. 2006; Appleyard R.C, Burkhardt D., 2003). Основним патологічним проявом ОА є руйнування суглобового хряща, найважливіша функція якого - адаптація суглоба до механічного навантаження та забезпечення вільного руху суглобових поверхонь [Гайко Г.В., 2003; Герцен Г.І., 2003; Коваленко В.Н., Борткевич О.П., 2003].

Хрящ складається з двох основних елементів: міжклітинної речовини (матрикса), що складає 98% об'єма хрящової тканини, та клітин: хондроцитів та хондробластів (2%). В свою чергу двома найбільш важливими компонентами хрящового матриксу є макромолекули колагена різних типів (переважно II тип) та протеоглікани (ПГ). ПГ забезпечують унікальні адаптаційні властивості хряща. 90% ПГ хряща належить до родини агреканів. Ця молекула складається з білкового ядра, до якого приєднані ланцюги хондроїтинсульфата (ХС), кератансульфата (КС), та гіалуронової кислоти (ГК) [Коваленко В.Н., Борткевич О.П., 2003 Цурко В.В., 2001].

Характерною ознакою деструкції хряща при ОА є втрата матриксом ГАГ – ХС, КС, ГК поверхневою, проміжною та глибокою зонами. Крім того, відмічається зменшення молекули ПГ, яка набуває здатності до виходу з матриксу хряща. ПГ (змінені та дрібні) здатні поглинати воду, але не здатні її втримувати. Надлишкова вода поглинається колагеном, він набрякає та розволокнюється, що веде до зниження резистентності хряща [Коваленко В.Н., Борткевич О.П., 2003, Виноградова Е.В., 2000, Appleyard R.C., Burkhardt D., Ghosh P., 2003].

Хондроцити – клітини, що регулюють обмін хрящової тканини, тобто синтез (анаболізм) та деградацію (катаболізм) агрекана та інших компонентів хрящового матрикса. В нормі ці процеси перебувають в збалансованому стані, але при ОА спостерігається порушення нормального обміну хрящової тканини в бік переважання катаболічних процесів над анаболічними [Гайко Г.В., 2003; Коваленко В.Н., Борткевич О.П., 2003].

Суттєву роль в розвитку катаболічних процесів у хрящі при ОА відіграють прозапальні цитокіни, особливо ІЛ-1, під дією яких хондроцити

синтезують протеолітичні ферменти, так звані матриксні металопротеїнази, що викликають деградацію колагена та ПГ хряща. Хондроцити синтезують ПГ які не здатні до агрегації, і замість нормального продукують колаген I, IX, X типів, що не утворюють фібрил [Otterness I.G., Hanson D.C., Bliven M.L., 1993].

Характерною особливістю хондроцитів при ОА є гіперекспресія циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) (фермент, що індукує синтез простагландинів, які приймають участь в розвитку запалення) та індукованої форми синтетази оксида азота, що токсично впливає на хрящ та індукує апоптоз хондроцитів [Коваленко В.Н., Борткевич О.П., 2003, Цурко В.В., 2001, Stadler J., Stefanovich R.M., Billiar T.R., 1991].

Вивільнення біологічно активних речовин сприяє підтриманню запалення в тканинах суглоба при ОА, в результаті відбувається подальше пошкодження синовіальної оболонки суглоба з розвитком реактивного синовіїта і підвищенням продукції прозапальних цитокінів. ПГ, що вивільнюються, продукти розпаду хондроцитів та колагена, як антигени, можуть індукувати утворення антитіл з формуванням локального запального процесу [Виноградова Е.В., 2000].

Існує гіпотеза судинного генеза дегенеративних захворювань суглобів, яка полягає у зміні кровопостачання субхондральної кістки, розвитку гіпертензії, набряку та мікрофрактур з подальшим ремоделюванням та склерозуванням, що призводить до зміни умов навантаження на суглобовий хрящ з розвитком ОА.

Milam S.B. з співавт. [24] запропонували гіпотезу з визначення можливих етіологічних і патогенетичних факторів формування локального патологічного процесу, яким є ОА, за участі вільнорадикального механізму. Автори констатують малу зрозумілість молекулярних змін, які лежать в основі дегенеративного захворювання, і викладають власну теорію його розвитку. Зокрема, для пояснення патогенезу цього захворювання вони пропонують три моделі: пряме механічне пошкодження суглобу за рахунок його значного фізичного навантаження (механічний стрес), або опосередковане – як наслідок порушення у співвідношенні процесів гіпоксія/реперфузія у васкуляризованих тканинах суглоба при функціональних рухових актах, а також нейрогенного запалення. Але кожна з наведених моделей виходить з того, що первинною причиною розвитку захворювання є механічний стрес, який призводить до надлишкового утворення вільних радикалів з подальшою ініціацією ними каскаду локальних (місцевих) функціональних і молекулярних подій. У ряді робіт це знайшло підтвердження і у відношенні патогенезу ОА. Зокрема існують докази наявності транзиторної гіпоксії при фізичному навантаженні колінного суглобу у хворих на ОА. Місцевим джерелом гідроксильних радикалів та сильного окислюючого агенту ендогенного походження, який володіє пошкоджуючим впливом на тканини (двоокис азоту, NO_2), є пероксинітритний шлях їхнього утворення з ендогенного оксиду азоту (NO). Сам NO – це вільний радикал, який залучається до різноманітних біологічних процесів, у тому числі і до запалення. Він локально продукується різними типами клітин – ендотеліальними, лейкоцитами, сіновіоцитами і хондроцитами, особливо при

запаленні, у тому числі і при ОА [24]. Важливим механізмом утворення надзвичайно агресивних вільних радикалів є прозапальна функція α -ланцюга гемоглобіну, який осідає у денатурованому вигляді в артикулярних суглобах при крововиливах внаслідок травми і в результаті екстравазації еритроцитів при запаленні. За рахунок індукції інтенсивного запалення він може призводити до деструкції кісткової і хрящової тканини [21]. В основі цієї дії лежить реакція утворення гідроксильних радикалів у відомій реакції Фентона. Крім цього, гемоглобін, за рахунок наявності у ньому редокс-активного заліза, може викликати утворення феррильних радикалів, які локально такі ж агресивні по відношенню до компонентів екстрацелюлярної матриці і синовіальної рідини, як і гідроксильні радикали.

У патогенезі ОА можлива участь і вільних радикалів, включаючи гідроксильні, які накопичуються при запаленні у процесі катаболізму арахідонової кислоти циклооксигеназним і ліпооксигеназним шляхами, результатом якого є утворення, відповідно, простагландину E_2 та лейкотрієну B_4 [7]. Недавно були виявлені нові простаноїди, які утворюються в результаті пероксидації ліпідів, процес якої не пов'язаний з активацією циклооксигенази. Ці простаноїди визначаються у крові та сечі людей у концентраціях, які на 1-2 порядки вищі від концентрацій тих, які утворюються за циклооксигеназним шляхом. Вони володіють на порядок більшою вазоконстрикторною дією, ніж найбільш відомий вазоконстриктор – лейкотрієн D_4 .

Дані з вивчення ролі вільнорадикальної пероксидації у патогенезі остеоартрозу отримані в експериментально-клінічних роботах співробітників кафедри травматології та ортопедії НМУ ім. О.О. Богомольця засвідчили, що надлишкова активація процесу ВРПОЛ є одним з ключових пускових механізмів розвитку остеоартрозу. Висока здатність вільних радикалів до окислювальної модифікації екстра та інтрацелюлярних білків, протеїнів хрящового матриксу, що супроводжується розривом макромолекулярних зв'язків протеогліканів є важливим безпосереднім фактором ініціації та прогресування руйнування хряща при остеоартрозі. В експерименті досліджено та доведено значну надлишкову активацію вільнорадикального перекисного окислення ліпідів на початку розвитку остеоартрозу. Вона проявлялася збільшенням рівня спонтанної та індукованої хемілюмінесценції плазми крові, накопиченням у ній первинних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) – гідроперекисів ліпідів, прискоренням перебігу процесу ПОЛ і швидкості окислення ліпідів, внаслідок інтегральної антиоксидантної недостатності. Це супроводжувалося збільшенням вмісту перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій та зниженням резистентності ліпідів до процесу переокислення.

У деградації матриці хрящової і кісткової тканини при ОА важливу роль відіграють прозапальні цитокіни – інтерлейкіни (IL) IL-1 β , IL-6, IL-8, а також фактор некрозу пухлин- α [24].

Ще одним з важливих ланцюгів патогенезу ОА може бути окислювальна модифікація вільними радикалами білків екстрацелюлярної матриці суглобового хряща, синовіальної рідини та поверхневих протеїнів

цитоплазматичних мембран клітин хрящової і кісткової тканини суглобів. У рідинних пунктатах з суглобів, які досліджувалися у осіб з симптомами ОА, виявлено підвищений вміст фібронектинових фрагментів, що мали карбонільні групи, які утворюються під впливом атаки вільних радикалів з нормального (інтактного) фібронектину.

При пошкодженні суглобового хряща важливим залишається питання про репаративні можливості гіалінового хряща. Література, присвячена цьому питанню багаточисельна, але і до тепер немає єдиної думки про здатність гіалінового хряща до регенерації (Виноградова Т.П., 1974, Лаврищева Г.І., 1981, Павлова В.Н., 1981) [8]. Анаеробний характер метаболізму хрящової тканини обумовлює низьку інтенсивність процесів обміну речовин у зрілій тканині. Репаративні можливості хрящової тканини обмежені (Павлова В.Н. з співав., 1988). Упродовж року відбувається оновлення близько 50% всіх протеогліканів у суглобових хрящах дорослої людини. Загальний рівень фізіологічної та репаративної регенерації суглобового хряща низький (Дєдх Н.В. з співав., 2003). Мітотична активність клітин суглобового хряща надзвичайно низька: 600-820 хондроцитів у зрілому суглобовому хрящі відмічається лише одна реакція мітозу. Фізіологічну втрату суглобового хряща відновлюють клітини проміжної зони. На фізіологічну регенерацію суглобового хряща впливає остеогенний протеїн-1, що експресується хондроцитами середньої та глибокої зони хряща та є індуктором формування кістки та хряща (Chubinskaya S. et al., 2000). Зниження рівня остеогенного протеїну-1, що спостерігається упродовж старіння людини сприяє розвитку остеоартрозу (Chubinskaya S. et al., 2002). При остеоартрозі водночас з дистрофією та деструкцією відбуваються репаративні процеси, що набувають хибного характеру (Дєдх Н.В. з співав., 2003). Ознаки регенерації виявляються лише у віддаленому періоді. Дефекти суглобового хряща практично не відновлюються, найчастіше вони заміщуються волокнистим хрящем. Наявність повноцінної регенерації суглобового хряща (повного відновлення травмованої ділянки з формуванням тканини, що абсолютно ідентична первинній) не встановлено. При травматичному ураженні суглобів зазвичай настає метаплазія або дисрегенерація, гіаліновий хрящ заміщується волокнистим, що має низьку стійкість. Рани навколо синовіальної оболонки загоюються за рахунок низько диференційованих клітин синовіальної оболонки, вони можуть заповнюватися волокнистою або гіаліноподібною хрящовою тканиною. Хондроцити з прилеглих до дефекту відділів суглобового хряща в ділянку дефекта не мігрують. В ряді експериментально-клінічних досліджень з використанням морфогістологічних методів було встановлено можливість спрямованої корекції репарації хряща за допомогою розробленого комплексу фармакологічного лікування препаратами хондромодифікуючої та антиоксидантної дії (Бур'янов О.А. з співав., 2007). Вказані дослідження показали, що при свіжому транسخондральному пошкодженні суглобового хряща, за умови збереження конгруентності суглобових поверхонь та біомеханічної вісі суглоба, фармакологічна корекція сприяє формуванню в кістковохрящовому дефекті хрящового регенерату, який за своєю гістологічною будовою наближається до гіалінового хряща. Застосування розробленого комплексу при

застарілих пошкодженнях супроводжується формуванням фіброзного та фіброзно-кісткового регенерату (Бур'янов О.А, Бруско А.Т., Омельченко Т.М., 2007). Формування хрящового регенерату, наближеного за будовою до гіалінового хряща, відбувається тільки в умовах транسخондрального пошкодження, оскільки джерелом репаративного процесу є стовбурові клітинні елементи кісткового мозку субхондральної кістки (Бур'янов О.А. з співав., 2008).

В експериментальних умовах стимуляції хондрогенеза приймають участь ТФР- β_2 та β_3 , кістковий морфогенетичний протеїн (КМП)-1, -2, -4 та -13, ІПФР-1 (Luyten F.P. et al., 1994; Chen P. Et al., 1995; Sailor L.Z. et al., 1996; Hunziker E.B. et al., 2001). Оптимізувати процес регенерації суглобового хряща може використання хрящових, кістково-хрящових, періостальних, перихондральних трансплантатів. Сьогодні широко застосовуються такі новітні методики як мозаїчна пластика суглобового хряща, мікрофактурування та інші. Бур'яновим О.А. та співав. (2008), розроблений метод лікування ранніх стадій остеоартроза колінного суглоба з використанням спрямованої корекції репарації суглобового хряща після виконання мікрофактурування в зоні ураження. Як відмічають автори, артроскопічне мікрофактурування (що є транسخондральним втручанням) забезпечує кістково мозкову стимуляцію полібластних клітин кісткового мозку субхондральної кістки, та забезпечує їм шлях у зону дефекту хряща. Фармакологічна ж корекція оптимізує умови для диференціації полібластних клітин у хондробласти та хондроцити з утворенням хрящового регенерату, наближеного за будовою до гіалінового хряща.

1.2 Патоморфологія остеоартрозу.

Групою дослідників з НДЦ БМТ ВІЛАР була проведена морфологічна оцінка зміни компонентів хрящової тканини при остеоартрозі на різних стадіях з метою виявлення провідних факторів розвитку деструктивно-дистрофічних процесів [8]. Матеріалом для дослідження були зразки хрящової тканини колінного суглоба, забрані з макроскопічно ушкодженої та неушкодженої поверхонь у 12 хворих віком 20 – 74 років, оперованих з приводу остеоартроза III стадії. Зразки фіксували 2% розчином глутарового альдегіду 24 години та вміщували в епоксидну смолу за стандартною методикою. Ультратонкі зрізи продилялися під електронним мікроскопом ЕМ-420(Philips). Світломікроскопічні дослідження проводили на напівтонких зрізах, пофарбованих трьохкомпонентним барвником, що вміщував азур-2, основний фуксин та метиленовий синій.

При остеоартрозі III ступеню зміни структури хряща на мікроскопічному рівні виявлялися в поверхневому та більш глибоких його відділах. Поверхневий шар витончений, розволокнений, в ньому визначаються численні узури, які досягають глибоких відділів. Для проміжної та глибокої зони характерні два типи змін. В одних випадках різко редукована кількість хондроцитів, а ті що збережені розташовані групами та перебувають в стані деструкції. Виявляється

значна кількість спустошених лакун. Гістохімічна реакція на протеоглікани суттєво ослаблена.

У другій групи хворих в хрящі зберігається достатньо високий вміст хондроцитів, які знаходяться на різних стадіях функціональної активності. Серед цих клітин зустрічаються дезінтегровані хондроцити, а також клітини з накопиченням ліпідів. Метахроматична реакція на протеоглікани більш виражена. Загальною ознакою змін можна вважати відсутність стовбчикowego розташування клітин.

Одною з причин порушення структури хряща може бути наростання на його поверхню грануляційної тканини, під впливом котрої відбувається “розплавлення” хрящової поверхні суглоба.

Електронномікроскопічні дослідження багато в чому доповнюють та уточнюють виявлені зміни мікроструктури хряща. На хрящовій поверхні визначаються невеликі нашарування гомогенної речовини, структурна організація якої дозволяє віднести її до речовин ліпідної природи. Відбуваються зміни структури поверхневої безклітинної пластинки хряща. Пластинку утворює диспергований ниткоподібний матеріал та мембрановкриті везикули різного розміру та щільності, можливо, залишки клітин. На окремих ділянках поверхня хряща представлена клітинами, які перебувають на різних стадіях структурної деградації. Така організація поверхні суглоба суттєво відрізняє артрозний хрящ від здорового, та свідчить про потоншення поверхневого шару.

В проміжній зоні визначаються клітини, що перебувають в стадії гіпертрофії, в стані активного фагоцитування та в стані некрозу. Про це свідчить характерна структурна організація кожного з цих типів клітин. Якщо для першої групи клітин характерним є посилений розвиток цитоплазматичної сітки та комплексу Гольджі, збільшення розмірів та кількості мітохондрій, то в цитоплазмі клітин II групи виявляються множинні мультивезикулярні тільця. Лакуни навколо клітин не визначаються. Така організація хряща є ознакою перебігаючих у ньому деструктивних процесів високої активності, що в нормальній тканині не відбуваються.

Основна маса хондроцитів глибокої зони перебуває в неактивному стані та в фазі дегенерації. В процеси дегенерації втягуються клітини, які пройшли фазу гіпертрофії, що зазвичай накопичують ліпіди або глікоген. В цій зоні також є невелика кількість клітин типової структурної організації, які перебувають в фазі спокою. Вказані зміни суглобового хряща виявлені не по всій поверхні суглоба. Крім цього є зони з хрящем звичайної структури. Особливо такі зони притаманні для ділянок суглобу, які механічно не навантажуються. Таким чином, зміни хондроцитів суглобового хряща, а також оточуючого їх матрикса можна вважати однією з морфологічних ознак виниклого остеоартроза, який в хронічній фазі супроводжується дегенеративними змінами компонентів. Подібні дані були отримані іншими авторами в модельних експериментах на тваринах та на культурах хондроцитів.

Наявність в хрящі хондроцитів, які перебувають в стадії спокою або функціональної активності, а також організований матрикс в окремих ділянках хряща, свідчать про достатньо високий ступінь вираженості компенсаторних реакцій тканин. Про це також можна думати, спираючись на характер росту клітин і матрикса в культурах, що взяті від хворих на остеоартроз, в яких визначається синтез матрикса відповідно до норми. З цим же фактом пов'язані обнадійливі результати по відновленню зруйнованої хрящової тканини після пересадки на неї перихондрія нормального хряща, що було отримано в модельних експериментах *in vitro* та у хворих [13,36].

Таким чином, з наведених даних можна зробити висновки:

1. Патологічні процеси в суглобовому хрящі при остеоартрозі розвиваються достатньо повільно та мають вогнищевий характер.
2. Больовий синдром та зміна біомеханіки руху призводять до аномального розподілення навантаження на суглоб та порушення трофіки хряща. Це в свою чергу сприяє інтенсифікації патологічних процесів.
3. Мозаїчність розподілу вогнищ деструкції, наявність неушкоджених зон та нормальних клітин в вогнищах деструкції свідчать про можливість відновно-репаративних реакцій на ранніх стадіях процесу при відповідному консервативному втручанні.

1.3 Сучасні принципи лікування остеоартрозу в рамках доказової медицини.

Лікування остеоартрозу сьогодні залишається актуальною проблемою незважаючи на значні успіхи у розкритті численних аспектів етіології та патогенезу даного захворювання. Це пов'язано з багатofакторністю розвитку остеоартрозу з одного боку, а з іншого – з симптоматичною дією більшості лікарських засобів, що застосовуються для лікування даної патології. В світі існує ряд міжнародних організацій, що займаються питаннями розробки клінічних рекомендацій по лікуванню остеоартрозу з позицій доказової медицини. Найбільш відомими є Європейська антиревматична ліга (EULAR), Міжнародна спілка з дослідження OA (OARSI), Національний інститут здоров'я та клінічного мистецтва (National Institute of Health and Clinical Excellence – NICE). Не зважаючи на певні відмінності у деталях та засобах лікування існують загальноприйняті аспекти щодо завдань та методів лікування[2,6,7,9,24].

Сучасне лікування остеоартрозу базується на принципах доказовості, поетапності, безперервності та наступності. Воно передбачає індивідуальний та комплексний підхід до хворого.

Завданнями лікування остеоартрозу є:

- Уповільнення прогресування остеоартрозу.
- Зменшення інтенсивність больового синдрому.
- Підвищення функціональної активності та якості життя хворих.

З метою виконання вказаних завдань сьогодні існують наступні **методи лікування хворих на остеоартроз**:

- Навчання пацієнта (роз'яснення суті захворювання) та соціальна підтримка.
- Зменшення надлишкової маси тіла.
- Ортопедичний режим та допоміжні ортопедичні засоби (устілки, тростинки, милиці та ін.).
- Лікувальна фізкультура, масаж та фізична активність.
- Фізіотерапевтичне лікування.
- Санаторно-курортна реабілітація.
- Медикаментозна терапія.
- Хірургічне лікування.

На часі, в Україні є чинними клінічні рекомендації по лікуванню остеоартрозу колінних та кульшових суглобів Європейської антиревматичної ліги (EULAR) 2003 р., що базуються на аналізі результатів 545 досліджень, опублікованих з 1966 року по лютий 2002 року. Вказані рекомендації передбачають чотири основні групи лікувальних заходів: нефармакологічне лікування, фармакологічне лікування, інтраартикулярне лікування та хірургічне лікування (табл. 1).

Таблиця 1.

Лікування хворих на остеоартроз (EULAR 2003, 2005)

I. Нефармакологічне лікування
• Освіта • Зменшення надлишкової маси тіла, корекція харчування • Ортопедичний режим • Фізичні вправи • Фізіотерапевтичне лікування (бальнеотерапія, електромагнітна терапія, ультразвукова терапія, електростимуляція, акупунктура, лазерна терапія, електрофорез, гідротерапія) • Вітамінотерапія (мінерали) • Фітотерапія
II. Фармакологічне лікування
• <u>Протиартрозні препарати:</u> 1. Препарати симптоматичної дії (SMOADs): • Швидкої дії (НПЗП, парацетамол, опіюїдні анальгетики, глюкокортикостероїдні препарати) • Повільної дії SYSADOA (хондроїтин сульфат, гіалуронова кислота, неомілюючі сполуки авокадо, діацереїн, глюкозамін) 2. Препарати патогенетичної дії або такі, що структурно модифікують хрящ (DMOADs) • Антиоксидантна терапія. • Препарати, що покращують мікроциркуляцію. • Інгібітори протеолітичних ферментів. • Метаболічна терапія.
III. Інтраартикулярне лікування

• Хондропротектори для внутрішньосуглобового застосування • Протизапальна та антигомотоксична терапія • Глюкокортикостероїдні препарати • Лаваж
IV. Хірургічне лікування
• Діагностично-лікувальна артроскопія, лаваж • Корекційні остеотомії • Ендопротезування та артропластика суглобів • Артродез

Розширення та поглиблення уявлень про природу захворювання та тонкі механізми його розвитку призвело до перегляду точки прикладення та оцінки патогенетичної значимості більшості медикаментів, що застосовуються в терапії ОА тепер.

В даний час прийнята класифікація протиартрозних препаратів за їх фармакологічною дією, що включає в себе два класи лікарських засобів.

Класифікація препаратів, що застосовуються при остеоартрозі, розроблена Об'єднаним комітетом BOOZ та ILAR (Lequesne M. et al., 1994)

I. Препарати симптоматичної дії (symptoms modifying antiosteoarthritis drugs - SMOADs):

1. Симптоматичні препарати швидкої дії (до них належать нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП, парацетамол, опіоїдні анальгетики, глюкокортикостероїдні препарати).

2. Симптоматичні препарати повільної дії SYSADOA - symptomatic slow acting drugs for osteoarthritis (хондроїтину сульфат, глюкозаміну сульфат, гіалуронова кислота, неомілюючі сполуки авокадо/сої, діацереїн).

II. Препарати патогенетичної дії (structure modifying or disease modifying antiosteoarthritis drugs - DMOADs).

Потрібно зазначити, що практично всі препарати, що застосовуються для лікування остеоартрозу (нестероїдні протизапальні, анальгетики, глюкокортикостероїдні препарати, гіалуронова кислота, глюкозаміну та хондроїтину сульфат) мають симптоматичний (симптомомодифікуючий) ефект, який характеризується різною швидкістю настання. Що стосується патогенетичної дії (структурномодифікуючої або хворобомодифікуючої), то сьогодні для жодного фармакологічного препарату на 100% вона не доведена. Однак безперечним є той факт, що всі вказані симптоматичні препарати мають також і патогенетичний вплив на певні ланки патогенезу остеоартрозу. Не можливо звести ефект цих препаратів лише до симптоматичної дії. В ряді наукових експериментальних та клінічних досліджень сьогодні показана можливість препаратів групи SYSADOA (symptomatic slow acting drugs for osteoarthritis) позитивно впливати на метаболізм суглобового хряща при остеоартрозі. Тому препарати цієї групи (хондроїтину сульфат, глюкозаміну сульфат, гіалуронова кислота, та ін.) сьогодні іноді називають

хондромодифікуючими або структурномодифікуючими хрящ. З застосуванням вказаних препаратів продемонстрована також можливість спрямованої фармакологічної корекції репарації суглобового хряща при його пошкодженнях та післятравматичному остеоартрозі.

Таким чином, симптоматичні препарати можуть справляти патогенетичну дію та навпаки, фармакологічні препарати патогенетичної дії можуть володіти симптоматичним ефектом.

Як показано вище, фармакотерапевтичні рекомендації eular полягають у застосуванні наступних засобів:

- ацетамінофен (парацетамол) – пероральний анальгетик, із призначення якого має починатися курс лікування і, за умови ефективності, продовжуватися у вигляді тривалої терапії;
- місцеві аплікації (нестероїдні протизапальні засоби [НПЗЗ], капсаїцин) характеризуються клінічною ефективністю та безпечністю;
- НПЗЗ показано пацієнтам, які не відповідають на терапію парацетамолом. В осіб із підвищеним ризиком шлунково-кишкових кровотеч повинні використовуватися неселективні НПЗЗ у комбінації з гастропротекторами або інгібітори циклооксигенази (ЦОГ) 2;
- опіоїдні анальгетики (з парацетамолом чи без нього) можуть застосовуватися у пацієнтів, яким протипоказані НПЗЗ, включаючи селективні інгібітори ЦОГ-2, або в разі їх неефективності чи поганої переносимості;
- симптоматичні та патогенетичні лікарські засоби сповільненої дії (глюкозамін, хондроїтину сульфат, неомілювані компоненти олії авокадо/сої, діацереїн та гіалуронова кислота) мають симптоматичний ефект та здатність модифікувати структуру хряща;
- внутрішньосуглобові ін'єкції кортикостероїдів тривалої дії показані при загостренні болю в колінному суглобі, особливо за наявності суглобового випоту.

Оцінка рівня доказовості окремих методів лікування, що застосовуються при ОА за рекомендаціями EULAR (2003) наведена в таблиці 2.

Таблиця 2.

Рівень доказовості окремих методів лікування (EULAR, 2003)

Метод лікування	Рівень доказовості метода лікування	Вираженість терапевтичного ефекта, розмах	Ступінь обґрунтованості рекомендації до застосування
Ацетамінофен (парацетамол)	1B	-	A
Опіоїдні анальгетики	1B	-	B
Традиційні НПЗП	1A	0,47-0,96	A
Коксиби	1B	0,5	A
Місцеві НПЗП	1A	-1,08	A
Антидепресанти	1B	-	B
Глюкозамін	1A	0,43-1,02	A
Хондроїтину сульфат	1A	1,23-1,50	A
Діацереїн	1B	-	B
Авокадо/соя	1B	0,32-1,72	B

Гіалуронова кислота (внутрішньо суглобово)	1B	0,0-0,9	B
Кортикостероїди (внутрішньо суглобово)	1B	1,27	A
Мінеральні речовини, вітаміни	1B	-	C
Освітні програми	1A	0,28-0,35	A
Фізичні вправи	1B	0,57-1,0	A
Зменшення маси тіла	1B	-	B
Курортотерапія	1B	1	C
Ультразвук	1B	-	C
Статеві гормони	2B	-	C
Трави та харчові добавки	1B	-	B
Унікондилярне та однополюсне протезування суглоба	3	-	C
Тотальне протезування суглоба	3	-	C

Нещодавно були опубліковані рекомендації Міжнародної спілки з дослідження ОА (OARSI), які стали результатом критичної оцінки публікацій, що представляли лікувальні моделі ОА з 1945 року по 31 січня 2006 року. OARSI є головною міжнародною організацією для вчених і спеціалістів у галузі охорони здоров'я, функції якої зосереджені на профілактиці і лікуванні остеоартриту (остеоартрозу) шляхом заохочення і презентації досліджень, освіти і повсюдного поширення нових знань. Рекомендації OARSI викладені у 3 частинах. Частина I: „Критична оцінка існуючих керівництв з лікування остеоартриту і систематичних оглядів теперішніх наукових даних”, опублікована в 2007 році. Частина II: „OARSI Керівництво, що базується на доказах і однастайній думці експертів”, опублікована в 2008 році. Частина III: „Зміни в оцінці наступних нових систематичних кумулятивних досліджень, опублікованих включно до січня 2009 року”.

Рекомендації **OARSI (2009)**, окрім залучення даних більш пізніх досліджень, за використаною методологією відрізняються більш ретельним відбором публікацій та більш вичерпним аналізом доказів на користь того чи іншого методу лікування. Результати цього аналізу стосовно кожної сформульованої рекомендації, на відміну **EULAR (2003)** та загальноприйнятих підходів, виражені у відсотках, що відповідають ступеню вірогідності твердження (**сила доказів – СД**). Фармакотерапевтичні рекомендації OARSI (2009) мають наступний вигляд:

- ацетамінофен (парацетамол) у дозах до 4 г/добу є ефективним лікарським засобом для початку анальгетичної терапії у пацієнтів із слабким або помірним болем. За відсутності адекватної відповіді чи за наявності вираженого болю та/або запалення слід розглянути можливість призначення альтернативних фармакологічних агентів, враховуючи їх ефективність та безпечність, а також супутню патологію та прийом інших медикаментів (**СД 92%**);

- у пацієнтів із симптомами ОА повинні використовуватися НПЗЗ у мінімально ефективній дозі, за можливості слід уникати їх довготривалого прийому. У хворих із підвищеним гастроінтестинальним ризиком як

селективні, так і неселективні НПЗЗ можуть застосовуватися за умови одночасного призначення інгібіторів протонної помпи або мізопростолу з метою гастропротекції. Як селективні, так і неселективні НПЗЗ повинні використовуватися особливо обережно у пацієнтів із кардіоваскулярними факторами ризику (СД 93%);

- НПЗЗ місцевого використання та капсаїцин можуть бути ефективними як у вигляді додаткової терапії до пероральних НПЗЗ, так і у вигляді альтернативної терапії ОА колінного суглоба (СД 85%);

- внутрішньосуглобові ін'єкції гіалуронату можуть бути використані у пацієнтів з болем середнього та тяжкого ступенів (СД 78%);

- внутрішньосуглобові ін'єкції гіалуронату дають віддалений, але тривалий ефект порівняно з ін'єкціями кортикостероїдів (СД 64%);

- лікування глюкозаміном та/або хондроїтину сульфатом може забезпечити послаблення симптомів у пацієнтів з ОА колінного суглоба. За відсутності ефекту протягом 6 місяців лікування повинно бути припинене (СД 63%).

Оцінка рівня доказовості до 2006 року та переоцінка її з 2006 до січня 2009 року включно, що відображена у III частині OARSI (2009) по окремих методах і засобах лікування наведена в таблиці 3.

Таблиця 3.

Показники сили доказів ефекту для зниження болю при остеоартриті колінних та кульшових суглобів за період 2006-2009 рр. OARSI (2009).

	До 2006 року		Динаміка	До 2009 року	
	СД	Рівень		СД	Рівень
Ацетамінофен	0.21 (0.02, 0.41)	IA	↓	0.14 (0.05, 0.22)	IA
Опіоїди	НД		↑↑	0.78 (0.59, 0.98)	IA
НПЗП	0.32 (0.24, 0.39)	IA	↓=	0.29 (0.22, 0.35)	IA
ГКС					
внутрішньосуглобово	0.72 (0.42, 1.02)	IB	↓	0.58 (0.30, 0.87)	IA
Глюкозамін сульфат	0.61 (0.28, 0.95)	IB	↓=	0.58 (0.30, 0.87)	IA
Глюкозамін гідрохлорид	НД		?	-0.02 (-0.15, 0.11)	IB
Хондроїтин сульфат	0.52 (0.37, 0.67)	IA	↑	0.75 (0.50, 1.01)	IA
Діацереїн	0.22 (0.01, 0.42)	IB	↑=	0.24 (0.08, 0.39)	IB
Освіта/інформованість	0.06 (0.02, 0.10)	IA	=	0.06 (0.03, 0.10)	IA
Вправи для колінного суглоба з підсиленням	0.32 (0.23, 0.42)	IA	=	0.32 (0.23, 0.42)	IA
Вправи для кульшового суглоба	НД		↑	0.38 (0.08, 0.68)	IA
Вправи у воді	0.25 (0.02, 0.47)	IB	↓	0.19 (0.04, 0.35)	IA
Зменшення ваги	0.13 (-0.12, 0.38)	IB	↑	0.20 (0.00, 0.39)	IA
Акупунктура	0.51 (0.23, 0.79)	IB	↓	0.35 (0.15, 0.55)	IA
Електромагнітні процедури	0.77 (0.36, 1.17)	IA	↓	0.16 (-0.08, 0.39)	IA

Цікавим є факт різниці у силі клінічного ефекту (СД) окремих методів та засобів лікування остеоартрозу щодо зменшення болю в залежності від якості проведеного рандомізованого клінічного дослідження, що відображено у рекомендаціях OARSI (2009), що відображено у таблиці 4.

Таблиця 4.

Різниця у силі доказів клінічного ефекту (СД) окремих методів та засобів лікування в залежності від якості проведеного РКД (OARSI, 2009)

	Всі дослідження (СД)	Динаміка	Високоякісні дослідження (СД)
Акупунктура	0.35 (0.15, 0.55)	↓	0.22 (0.01, 0.44)
Ацетамінофен	0.14 (0.05, 0.23)	↓	0.10 (-0.03, 0.23)
Гіалуронова кислота	0.60 (0.37, 0.83)	↓	0.22 (-0.11, 0.54)
Глюкозамін сульфат	0.58 (0.30, 0.87)	↓	0.29 (0.003, 0.57)
Хондроїтин сульфат	0.75 (0.50, 1.01)	↓	0.005 (-0.11, 0.12)
З'єднання авокадо/соє	0.38 (0.01, 0.76)	↓	0.22 (-0.06, 0.51)
Лаваж/дебридмент	0.21 (-0.12, 0.54)	↓	0.11 (-0.30, 0.08)

У практичному аспекті медицина, яка базується на доказах (**EBM**), є інтеграцією індивідуальних клінічних знань та досвіду в галузі лікування та профілактики цілої низки захворювань з найбільш переконливими доказами, отриманими іншими клініцистами в системних дослідженнях, однак останні не можуть повністю заперечувати власний клінічний досвід лікаря. Як без клінічної експертизи різноманітних досліджень, так і без доказів ефективності та безпеки препаратів, особливо у великих дослідженнях, практикуючому лікарю важко уникнути помилок при виборі індивідуального лікування. Однак, навіть найкращі докази, отримані в мега-дослідженнях, інколи не можуть бути використані з різних причин у конкретного хворого з певною патологією.

Аналізуючи сучасні підходи до лікування різних форм остеоартрозу за клінічними рекомендаціями OARSI (2009) потрібно відзначити їх практичність, конкретизованість та спрямованість на максимальну безпеку при тривалому лікуванні. Форма їх публікації дає змогу практичним лікарям наочно порівняти ступені вірогідності обраних методів лікування, оскільки рівень доказовості аналізу щодо кожної рекомендації (за силою дії – СД) виражений у відсотках. Як EULAR (2003), так і OARSI (2009) визначають ефективність знеболення, як один із ключових напрямів лікування ОА.

Однак, якщо раніше мета лікування остеоартрозу концентрувалася виключно на підтриманні або підвищенні рухомості суглобів, зменшенні больового синдрому і обмеження функціональних порушень, а також підвищенні якості життя пацієнтів, то **у даний час метою лікування ОА є попередження структурного руйнування хряща і субхондральної кістки**. Як видно з рекомендацій OARSI (2009) найбільше значення у лікуванні та

попередженні прогресування остеоартрозу сьогодні має освіта та поінформованість хворих про сутність захворювання, механізми його розвитку і принципи профілактики та лікування, адекватні фізичні вправи та розвантаження суглобів, своєчасне припинення запального процесу та нормалізація прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, раннє курсове призначення препаратів хондромодифікуючої дії (глюкозаміну сульфату, хондроїтину сульфату та гіалуронату), своєчасне застосування ортопедичного та хірургічного лікування.

1.4 Сучасні уявлення про роль та механізм дії гіалуронової кислоти при профілактиці та лікуванні остеоартрозу.

Як зазначалося вище препарати групи SYSADOA сьогодні також називають хондромодифікуючими, структурномодифікуючими хрящ, хворобомодифікуючими, хондропротекторними. До таких медикаментів в першу чергу відносяться структурні аналоги хрящової тканини: хондроїтину сульфат, глюкозаміну сульфат, препарати гіалуронової кислоти, діацереїн, неомилуючі сполуки авокадо та сої, комплексні препарати (алфлутоп), комбіновані препарати [15,16,17,24].

Практично у всіх проведених дослідженнях препарати групи SYSADOA виявили ефективність та безпечність в терапії остеоартрозу.

Гіалуронова кислота (ГК) – лінійний полісахарид, що належить до групи глікозаміногліканів, являє собою повторення дисахаридних з'єднань N-ацетилглюкозаміну та глюкуронової кислоти. Комбінація 2,5 тисяч дисахаридів утворює молекули ГК з молекулярною масою приблизно 5,0 млн Da. У цьому вигляді молекула ГК наявна у міжклітинному матриксі сполучної тканини. Особливо висока концентрація ГК у таких тканинах як шкіра, хрящ, пуповина, синовіальна рідина, склисте тіло.

Гіалуронова кислота нормалізує в'язко-еластичні, амортизуючі та змащувальні властивості синовіальної рідини, впливає на ноцирецептори проміжного шару синовіальної оболонки та знижує індукцію медіаторів болю, що обумовлює знеболюючий ефект, складає основу для агрекану, який є важливим для забезпечення структурної та функціональної цілісності суглобового хряща, утримує молекули води, для надання необхідних фізичних властивостей синовіальній рідині, має протективний ефект по відношенню до клітин хрящової тканини — хондроцитів, полегшує проникнення живильних речовин та речовин, що необхідні для побудови матриксу хряща. Доведено, що вона взаємодіє із специфічними рецепторами клітин (CD-44, RHAMM, I-CAM) та знижує концентрацію медіаторів запалення в синовіальній рідині, обумовлюючи протизапальний ефект, пригнічує активність ферментів, що руйнують суглобовий хрящ. Екзогенна гіалуронова кислота стимулює синтез ендогенної гіалуронової кислоти та синтез компонентів позаклітинного

матриксу хряща, гальмує процес втрати протеогліканів хрящем, знижує рівень апоптозу хондроцитів.

Показано, що зниження в'язкоеластичних властивостей синовіальної рідини при остеоартрозі збільшує чутливість хряща до ушкодження. Клінічні дослідження, проведені за останні 20 років, вказують на високу ефективність ГК при лікуванні остеоартрозу. Дані цих авторів вказують на те, що синтез ендогенної ГК активується за рахунок екзогенної ГК. Однак при цьому автори зауважують, що без впливу на інші ланки патогенезу остеоартрозу, особливо на процеси накопичення активних форм кисню в локальному та інтегральному середовищах, активація синтезу ендогенної ГК не має тривалого характеру.

Незважаючи на те, що багато авторів вказують на наявність значних порушень у системі антиоксидантного захисту організму при виникненні та прогресуванні ОА, майже жоден з них не залучає до комплексу лікування препарати, які б були спроможні коригувати ці порушення, і тільки в деяких роботах ми знайшли у схемах лікування ліки з антиоксидантною дією [1,5,19,22].

Розуміння механізмів розвитку остеоартрозу в останній час поглибилося, особливо за рахунок вивчення в'язкоеластичних властивостей синовіальної рідини та участі ферментів в процесі руйнування суглобового хряща. Однак в теперішній час стає все більш наочним значення та роль ВРПОЛ у патогенезі ОА та у нормальному функціонуванні суглоба.

Викладені вище дані вказують на потенційний хондропротекторний вплив ГА та інших ГАГ при ОА, що пов'язано з пригніченням катаболічних та активізацією анаболічних процесів в хрящі. В останній час з'являються все більше даних про необхідність застосування препаратів з антиоксидантною дією у комплексному лікуванні ОА.

Узагальнюючи вищезгадане, стає зрозумілою необхідність створювати комбіновані та комплексні препарати для лікування ОА, дія яких спрямована на декілька ланок патогенезу.

Першим препаратом подібної комбінованої дії на вітчизняному ринку є препарат «Гіалуаль-артро». Гіалуаль®-АРТРО (Hyalual®ARTRO) комбінований препарат високомолекулярної, високоочищеної гіалуронової кислоти, отриманої біотехнологічним шляхом, в унікальній формулі з сукцинатом натрію. Механізм дії після інтрасуглобового введення препарату при остеоартрозі передбачає відновлення синовіального балансу гіалуроновою кислотою та активацію метаболічних процесів у клітинах суглобового хряща сукцинатом натрію.

Однак дія цього лікарського засобу на метаболізм хрящової тканини, а також їх антиоксидантні властивості при ОА нині вивчені недостатньо. Це набуває особливого значення на фоні поглиблення знань про роль ВРПОЛ у патогенезі ОА та обумовлює актуальність нашого дослідження.

Враховуючи все зазначене стає зрозумілим актуальність та необхідність проведення даної роботи.

2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В експерименті на 32 дорослих кролях, масою 2,9 – 0,15 кг, на моделі транسخондрального ушкодження суглобового хряща колінного суглоба вивчали порівняльний вплив комбінації гіалуринової кислоти із сукцинатом натрію (препарат “Гіалуаль-артро” та препарату гіалуринової кислоти шляхом інтрасуглобового введення на розвиток (профілактична дія) та попередження прогресування наявного остеоартрозу (лікувальна дія) посттравматичного остеоартрозу колінного суглоба та репаративний хондрогенез суглобового хряща. Також досліджували активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів (ВРПОЛ) у плазмі крові, гомогенатах тканини печінки та міокарду, та з'ясовували зміни біохімічних показників обміну хрящової та кісткової тканини пошкоджених суглобів у сироватці крові.

Після артротомії на ділянці піднадколінкової поверхні правої стегнової кістки свердлом діаметром 2 мм завдавали транسخондріальне в напрямку медулярного каналу ушкодження глибиною 0,5 см, тобто отримували стандартний кістково-хрящовий дефект. Рану обробляли антибіотиком широкого спектру дії (цефтріаксон) і зашивали. Оперовану кінцівку не іммобілізували. Оперативні втручання виконували під загальним знеболюванням (кетамін з розрахунку 0,2 мл на 1 кг живої маси тіла). Дослідження проведені у період жовтня-листопада, який характеризується певною сезонною стабільністю. Протягом експерименту кролів утримували в умовах клініки для експериментальних тварин на стандартному харчовому раціоні в умовах вільного доступу до їжі і води.

Поставлено 6 груп дослідів. До тварин **першої групи** увійшло шість інтактних кролів, по три із яких виводили із експерименту за 45 та 90 діб; тваринам **другої**, контрольної групи (шість кролів) після отримання транسخондрального дефекту в суглобовому хрящі в оперований колінний суглоб щотижня з другого (три кроля) та з 46 дня (три кроля) після травми вводили по 0,5 мл фізіологічного розчину (плацебо) та виводили із дослідів відповідно за 45 та 90 днів після операції; до **третьої та четвертої** груп відповідно увійшло по п'ять кролів, яким з наступного дня після отримання транسخондрального дефекту в оперований колінний суглоб з метою попередження розвитку остеоартрозу щотижня вводили по 0,5 мл 1% розчину гіалуринової кислоти з сукцинатом натрію (гіалуаль-артро) – третя та 1% розчин гіалуринової кислоти – четверта групи; тваринам **п'ятої та шостої** груп (по п'ять кролів у кожній) з метою визначення лікувальної дії препаратів гіалуаль-артро та 1% гіалуринової кислоти на перебіг остеоартрозу з 46 дня після отримання транسخондрального дефекту суглобового хряща в оперований колінний суглоб відповідно вводили ці препарати за схемою, яку було застосовано у тварин третьої та четвертої груп. За 45 діб у кролів у суглобовому хрящі стегнової кістки оперованого колінного суглоба розвивалися перші ознаки розвитку остеоартрозу, які відповідали посттравматичному остеоартрозу в людей [7,13].

За оперованими тваринами проводили клінічне спостереження. Із досліду тварин виводили шляхом введення в одну із вушних вен 0,5–1,0 мл 10% розчину тіопенталу-натрію.

Для гістоморфологічного дослідження брали дистальний суглобовий кінець стегнової кістки, який вивчали макроскопічно, фотографували та гістоморфологічно визначали характер змін у ділянках суглобового хряща, що межують з кістково-хрящовим дефектом, та ступінь його відновлення в хрящовому дефекті. Препарати дистального відділу стегнової кістки фіксували в 10% нейтральному формаліні, декальцинували в 8 % азотній кислоті, зневоднювали та знежирювали в ацетонах та спиртах зростаючої міцності й після спирт-ефіру заливали в целоїдин. Приготовляли гістологічні зрізи, які забарвлювали гематоксилином та еозином, а також пікрофуксином за ван Гізоном.

При проведенні дослідів керувалися «Європейською конвенцією щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 18.03.86 р.).

Виразність розвитку деструктивно-дистрофічного процесу в колінному суглобі оцінювали за якістю та поширеністю проявів патологічних змін структури суглобового хряща. За основу взята модифікована нами шкала оцінки, що подана в Методичних рекомендаціях з експериментального дослідження та клінічного вивчення протипартрозних лікарських засобів, затверджених Фармкомітетом МОЗ України та шкали оцінки, що запропоновані O'Driscoll S. W. et al. [35] та Frenkel S.R. et al. [32] (табл. 5).

Таблиця 5.

Шкала гістологічної оцінки формування суглобового хряща в трансхондріальному дефекті – модифікація шкал O'Driscoll S. W. et al. та Frenkel S.R. et al.

Категорія	Показники	Бали
I. Частка новоутвореного в дефекті гіалінового хряща, %:	1. 75–100 2. 50–74 3. 25–49 4. 0–24	10 6 3 0
II. Характеристика регенерату:		
- поверхня:	1. Рівна, непереривна 2. Нерівна, щілини 3. Розволоknена.	2 1 0
- структурна інтегрованаість:	1. Нормальна 2. Розриви, кісти 3. Виразна дезінтеграція	2 1 0
- щільність відносно суглобового хряща країв дефекту, %:	1. 100 2. 51 – 99 3. До 50	2 1 0

- зв'язок регенерату з краями дефекту суглобового хряща: - дегенеративні зміни клітинних елементів:	1. Повний 2. Частковий 3. Відсутній 1. Відсутні. 2. Наявність дегенеративних змін та осередків проліферації хондроцитів. 3. Виразні гіпоцелюлярність та кількість осередків проліферації хондроцитів	2 1 0 2 1 0
III. Суглобовий хрящ країв дефекту:	1. Нормальний, осередки проліферації відсутні. 2. Наявність дегенеративних змін та осередків проліферації хондроцитів. 3. Виразні гіпоцелюлярність та кількість осередків проліферації хрящових клітин.	2 1 0
IV. Перебудова субхондріальної кісткової тканини:	1. Повна 2. > 50% 3. < 50%	2 1 0

Визначення активності системи ВРПОЛ.

Функціональний стан системи ВРПОЛ досліджували у плазмі крові та гомогенатах тканини печінки і міокарда. Для цього використовували метод реєстрації спонтанного (СХЛ) та Fe^{2+} -індукованого надслабкого їхнього світіння (хемілюмінесценції) за допомогою хемілюмінометра ХЛМ1Ц-01 [25,26].

Зразки плазми крові для дослідження отримували шляхом змішування у скляних пробірках 0.2 мл крові з 9.0 мл калійного фосфатного буферного розчину для хемілюмінесценції (розведення 1:46) для попередження її згортання. Склад буферного розчину: 100 ммоль KCl, 20 ммоль $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Величину рН 7.4 доводили 0.1 N розчином КОН. Пробірки центрифугували 15 хвилин при 3000 обертів на хвилину для відокремлення формених елементів крові від плазми. Плазму крові у повному об'ємі переносили до пластикових кювет хемілюмінометра.

Наважки тканини печінки та міокарду гомогенізували у скляному гомогенізаторі на льодовій бані у калійному фосфатному буферному розчині для хемілюмінесценції, фільтрували через чотири шари марлі та розводили на цьому ж буферному розчині до кінцевої концентрації (тканина:розчин), відповідно, 3.7 мг/мл та 5.6 мг/мл у 9.0 мл загального об'єму. До реєстрації хемілюмінесценції зразки плазми крові та гомогенатів тканин зберігали на льодовій бані не довше трьох годин.

Перед записом хемілюмінограм зразки плазми крові та гомогенати тканини печінки і міокарда (біологічні субстрати) на протязі 10 хвилин витримували у повній темряві у пристрої “Біостат” хемілюмінометра при $(+37 \pm 0.1)^\circ\text{C}$. Після цього визначали рівень СХЛ біологічного субстрату за показаннями хемілюмінометра на протязі 1 хв (імп/хв). Потім додавали до нього стандартну дозу (1.0 мл) $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (1.7 мг/мл бідистильованої води) і реєстрували на протязі 6 хвилин Fe^{2+} -ініційовану хемілюмінограму (ІХЛ). На ній визначали наступні показники: 1. Амплітуду швидкого спалаху світіння (h , імп/с), яка відображує вміст у біологічному субстраті гідроперекисів ліпідів. 2. Максимальну амплітуду повільного спалаху надслабкого світіння (H , імп/с) та його амплітуду на 6-й хвилині реєстрації ІХЛ (I_6 , імп/с), які характеризують інтенсивність перебігу у біологічному субстраті процесу ВРПОЛ. 3. Величину $\angle\alpha$ нахилу зростання повільного спалаху ІХЛ біологічного субстрату, яка свідчить про швидкість у ньому процесу перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). 4. Латентний період реакції після ініціації ХЛ – час від моменту внесення до біологічного субстрату стандартної дози Fe^{2+} до початку розвитку повільного спалаху ІХЛ (t_1 , с) та час виходу кривої ІХЛ на плато (t_2 , с), які характеризують співвідношення у біологічному субстраті прооксидантів та антиоксидантів. За показаннями хемілюмінометра отримували світлосуму ІХЛ за 6 хвилин реєстрації (S_1 , імп/6 хв), яка відображує вміст перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій у біологічному субстраті, що накопичилися в ньому внаслідок ініціювання ВРПОЛ іонами Fe^{2+} . Розраховували показник резистентності ліпідів біологічного субстрату до переокислення (S_2 , імп/6 хв),

який являє собою різницю між S_1 та сумою величини рівня СХЛ за 6 хвилин реєстрації ІХЛ. Оцінку функціонального стану системи ВРПОЛ в біологічних субстратах, що досліджувалися, проводили згідно [25,26].

Методики дослідження біохімічних показників у сироватці крові кролів викладені в таблиці.

№	Показник	Метод дослідження
1	Глікопротеїни	Модифікований метод за О.П. Штенбергом та Я.Н. Доценком
2	Хондроїтинсульфати	Методом Nemeth–Csoka у модифікації Л.І. Слущького
3	Фракції ГАГ	За методом М.Р. Штерна із співавторами
4	Лужна фосфатаза	За методом Боданські
5	Загальний білок	Біуретовим методом
6	Загальний кальцій	За допомогою аналізатора електролітів АЭК–1
7	Іонізований кальцій	
8	Калій	
9	Натрій	

Результати досліджень обраховані статистично з використання t-критерію Ст'юдента.

3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

3.1. Аналіз результатів морфологічного та гістологічного дослідження у групах порівняння.

Експериментальне обґрунтування застосування гіалуронових препаратів з метою покращення формування суглобового хряща, профілактики та лікування остеоартрозу при трансхондральному посттравматичному ушкодженні.

На рис. 3.1 наведені макропрепарат (а) та мікропрепарати структурно-функціональної організації суглобового хряща надколінкової поверхні дистального кінця стегнової кістки в нормі (б та в).

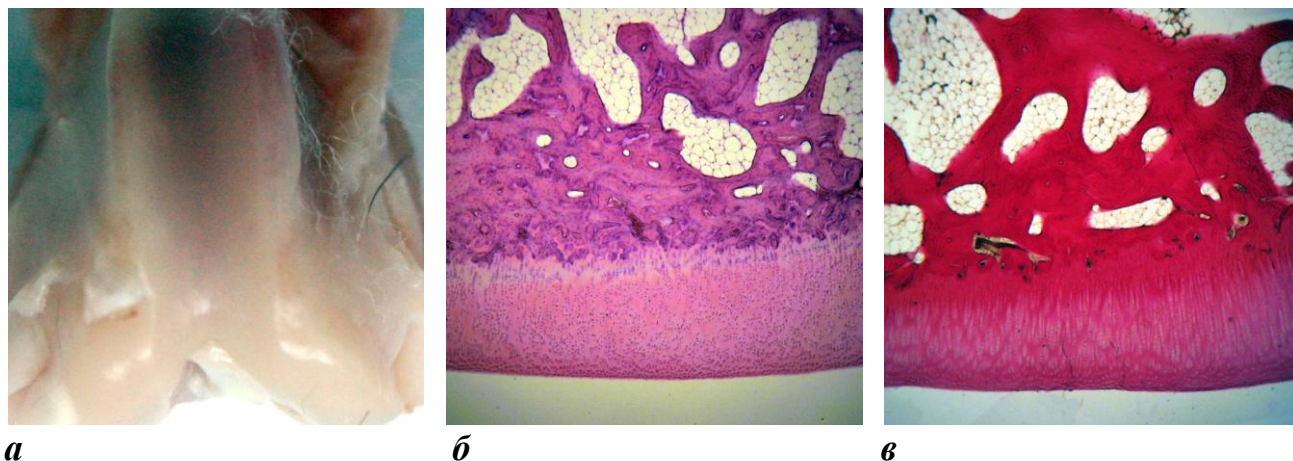


Рис. 3.1. Вигляд передньої поверхні дистального кінця нативної стегнової кістки (макропрепарат – а), типова структура суглобового хряща та субхондріальної кісткової тканини статевозрілого кролика (б); аркадна будова пучків колагенових волокон (в). Відповідно гематоксилін та еозин і пікрофуксин за Ван Гізоном. $\times 10$

Загоєння трансхондрального дефекту на ділянці піднадколінкової поверхні стегнової кістки без застосування препаратів, що містять гіалуронову кислоту (плацебо), вивчено на 45 та 90 добу після його отримання (рис. 3.2).

В усіх тварин за 45 та 90 діб кістково-хрящовий дефект заповнювався регенератом тільки частково, рівень його поверхні не досягав рівня країв дефекту суглобового хряща.



а



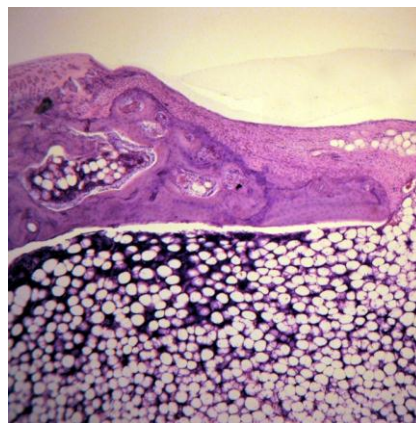
б

Рис.3.2. Часткове заповнення кістково-хрящового дефекту регенератом за 45 (а) та 90 (б) днів після його отримання. Макропрепарати дистального кінця стегнової кістки.

Регенерат, що сформувався в дефекті, уявляв собою фіброзно-хрящовий комплекс клітинних елементів, в якому переважали клітини фібробластичної лінії диференціровки, іноді спостерігали скупчення жирових клітин (рис. 3.3). Фіброзно-хрящовий регенерат щільно був зрощений з краями дефекту суглобового хряща. Поверхня його нерівна, ділянками мала невеликі западини. Суглобовий хрящ країв кістково-хрящового дефекту з виразними дистрофічними та некротичними змінами, просторими ділянками осередкової проліферації хондроцитів (рис. 3.4). Підхрящова кісткова пластинка в ці строки спостереження сформована не повністю. Кістковий мозок жовтий або червоно-жовтий.



а



б

Рис. 3.3. Фіброзно-хрящовий (зліва – а та справа – б) регенерат. Підхрящова кісткова пластинка на ділянці дефекту не сформована. а – 45 та б – 90 днів після отримання травми. Гематоксилін-еозин. x10

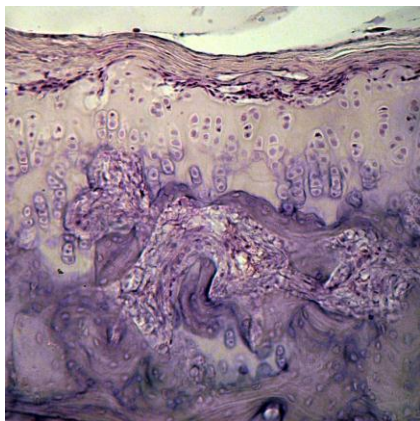


Рис. 3.4. Дегенеративно-дистрофічні зміни та розростання сполучної тканини на поверхні суглобового хряща поза краями дефекту. 90 діб після травми. Гематоксилін-еозин. x20

Отже, кістково-хрящовий дефект надколінкової поверхні суглобового кінця стегнової кістки в строки спостереження 45 та 90 діб після травми заповнюється переважно фіброзним компонентом регенерату, хрящові клітини виявлялись невеликими осередками, у вигляді волокнистого хряща. Суглобовий хрящ країв дефекту піддається виразним та розповсюдженим дегенеративним та некротичним процесам, які відповідають морфологічній картині посттравматичного остеоартрозу.

Порівняльний морфогістологічний аналіз профілактичного впливу комбінованого препарату “Гіалуаль-артро” та монопрепарату гіалуронової кислоти на розвиток післятравматичного остеоартрозу.

З метою визначення можливості попередження розвитку (профілактика) остеоартрозу тваринам третьої та четвертої груп експерименту, в яких отримували трансхондріальний дефект на підколінкові поверхні стегнової кістки, з наступного дня після операції щотижнево в порожнину оперованого колінного суглоба вводили по 0,5 мл 1% розчину гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію (препарат “Гіалуаль-артро”) або 1% розчин гіалуронової кислоти (по шість ін’єкцій у кожній групі).

На макропрепаратах дистального кінця нативної стегнової кістки статевозрілого кроля кістково-хрящовий дефект за 45 діб після отримання ушкодження при застосуванні 1% розчину гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію в чотирьох із п’яти спостережень повністю та в одному частково заповнювався регенератом білісьоватого кольору; при використанні 1% розчину гіалуронової кислоти повне заповнення хрящового дефекту відбулося тільки у двох із п’яти тварин (рис. 3.5).



а



б

Рис. 3.5. Повне заповнення регенератом кістково-хрящового дефекту при введенні в суглоб гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію (а) та часткове – при введенні 1% розчину гіалуронової кислоти (б). Передня поверхня нативних макропрепаратів дистального кінця стегнової кістки за 45 діб після травми

Суглобовий хрящ передньої поверхні дистального кінця стегнової кістки втрачав блиск та набував матового відтінку переважно навколо дефекту, особливо у тварин, які внутрішньосуглобово отримували 1% розчин гіалуронової кислоти.

При мікроскопічному дослідженні кістково-хрящовий дефект повністю або частково був заповнений фіброзно-хрящовою тканиною, в якій при застосуванні 1% розчину гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію переважали хондроїдні клітинні елементи, щільність яких була нерівномірною. Відмічали осередкову проліферацію хондроцитів та просторі безклітинні ділянки регенерату (рис. 3.6).

У спостереженнях із використанням 1% розчину гіалуронової кислоти спостерігали однотипні морфологічні зміни, але у цих випадках у регенераті переважали клітини фібробластичного пулу, особливо в поверхневих шарах регенерату, з боку суглобової порожнини. Поверхня регенерату у тварин обох груп була дещо нерівною. При застосуванні розчину гіалуронової кислоти ділянками виявляли явища дезорганізації та формування прошарків фіброзної сполучної тканини (рис.3.6).

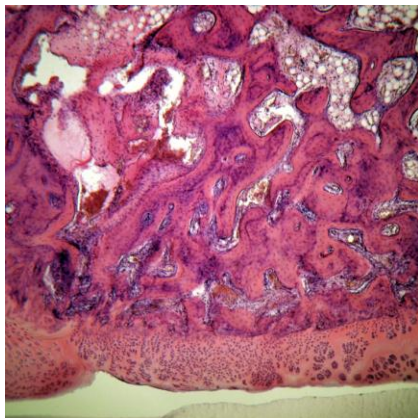


Рис. 3.6. Хондроїдно-фіброзний регенерат (справа) та край дефекту дегенеративно-некротично зміненого суглобового хряща (зліва) в умовах введення гіалуронової кислоти та сукцинату натрію. 45 діб після отримання травми. Гематоксилін та еозин. x10

Регенерат у більшості тварин щільно зрощений з краями суглобового хряща, що оточують дефект. Суглобовий хрящ навколо дефекту з явищами дистрофії та некрозу, які проявляються поширеними безклітинними ділянками та осередками проліферації хондроцитів навіть на віддаленні від дефекту. Ці патологічні зміни з боку суглобового хряща були менш виразними у тварин, яким, внутрішньосуглобово вводили комбінацію з гіалуронової кислоти та сукцинату натрію. Субхондріальна кісткова тканина в цей строк спостереження у тварин обох груп мала вигляд щільної сітки потовщених кісткових перекладок, але субхондріальна кісткова пластинка не сформована.

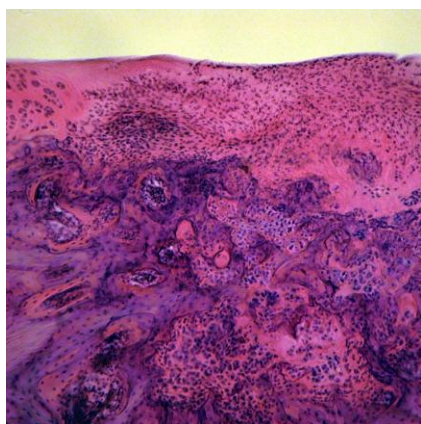


Рис. 3.6 а. Фіброзно-хрящевий регенерат (справа) та край дефекту дегенеративно-некротично зміненого суглобового хряща (зліва) в умовах введення гіалуронової кислоти. 45 діб після отримання травми. Гематоксилін та еозин. x10

Отже, наведенні морфологічні дані в умовах застосування препаратів гіалуронової кислоти на репаративне відновлення суглобового хряща при посттравматичних транسخондріальних дефектах свідчать, що використання 1% розчину гіалуронової кислоти у поєднанні з сукцинатом натрію сприяє більш активному формуванню хрящового регенерату в дефекті, ніж застосування тільки 1% розчину гіалуронової кислоти. Це дозволяє нам вважати, що поєднання розчину гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію оптимізує диференціювання скелетогенних клітин у хондроцити та сприяє інтегрованості хрящового регенерату.

Результати дослідження показали також, що у тварин обох груп протягом 45 діб після отримання транسخондріального ушкодження процес репаративного відновлення та заповнення дефекту суглобового хряща супроводжується розвитком дегенеративно-дистрофічних змін, які охоплюють не тільки регенерат, що формується, але й суглобовий хрящ поза зоною дефекту. Виразність цих патологічних змін з боку суглобового хряща, які є

характерними для початкової стадії посттравматичного деформівного остеоартрозу, була меншою у тварин, яким у колінний суглоб після отримання трансхондрального дефекту, вводили розчин гіалуронової кислоти в поєднанні з сукцинатом натрію.

Порівняльний морфогістологічний аналіз лікувального впливу комбінованого препарату “Гіалуаль-артро” та монопрепарату гіалуронової кислоти на прогресування післятравматичного остеоартрозу.

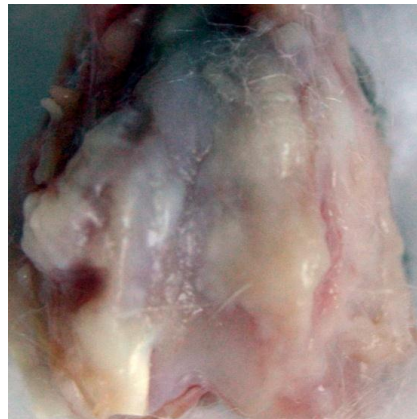
З метою визначення можливості запобігання прогресуванню остеоартрозу тваринам з 46 доби після отримання трансхондрального дефекту на підколінковій поверхні стегнової кістки, коли з боку суглобового хряща вже з'являлися морфологічні ознаки розвитку цієї патології, щотижнево в порожнину оперованого колінного суглоба вводили по 0,5 мл 1% розчину гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію (препарат “Гіалуаль-артро”) або 1% розчин гіалуронової кислоти по шість ін'єкцій у тварин кожної групи досліді.

При макроскопічному дослідженні нативних препаратів за 90 діб від нанесення трансхондрального дефекту на надколінковій поверхні дистального кінця стегнової кістки спостерігали прогресування патологічних змін з боку суглобового хряща, які були особливо виразні у тварин, яким вводили розчин гіалуронової кислоти (рис.3.7). Ці зміни характеризувалися втратою блиску та виникненням локальної бугристості суглобового хряща.

При мікроскопічному дослідженні у тварин, яким вводили розчин гіалуронової кислоти та сукцинат натрію кістково-хрящовий дефект повністю заповнений регенератом (рис. 3.8 та 3.9), який був добре інтегрованим та сформований із хондроїдних клітин, які розташовувались достатньо щільно. Форма та поверхня регенерату набувала будови, характерної для суглоба, регенерат щільно контактував, утворюючи цілісність з краєм дефекту суглобового хряща.



a



б

Рис. 3.7. Повне заповнення регенератом кістково-хрящового дефекту при введенні в суглоб гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію (а) та часткове – при введенні 1% розчину гіалуронової кислоти (б). Втрата блиску та виникнення бугристості суглобового хряща. Передня поверхня нативних макропрепаратів дистального кінця стегнової кістки за 90 діб після травми

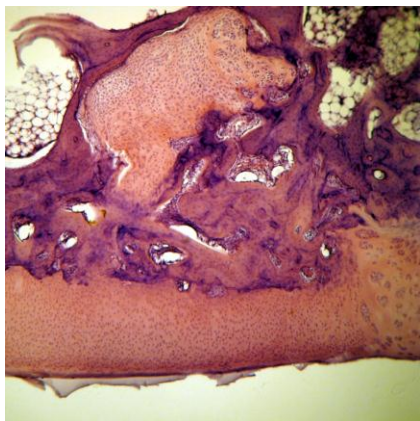


Рис. 3.8. Хондройдний регенерат (зліва) та край дефекту дегенеративно-некротично зміненого суглобового хряща (справа) в умовах введення гіалуронової кислоти та сукцинату натрію. 90 діб після отримання травми. Гематоксилін та еозин. x10

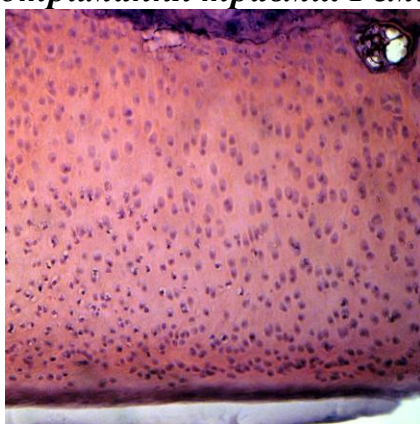


Рис. 3.9. Хондройдні клітини регенерату. Частина регенерату попереднього рисунку. 90 діб після отримання травми. Гематоксилін та еозин. x20

У суглобовому хрящі, що оточував дефект, визначали дегенеративно-дистрофічні зміни, які на достатньо великій відстані від дефекту нерівномірно охоплювали суглобовий хрящ та проявлялися поширеними безклітинними ділянками. Підхрящова кісткова тканина сформована добре, ознаки остеогенезу та остеорезорбції її не виявляли.

При внутрішньосуглобовому застосуванні гіалуронової кислоти без сукцинату натрію формування регенерату в дефекті відбувалося більш повільно, дегенеративно-дистрофічні зміни з боку суглобового хряща проявлялися більш виразно.

Результати кількісної морфологічної оцінки регенерату, що заповнює транسخондральний дефект, та суглобового хряща країв дефекту при застосуванні препаратів гіалуронової кислоти наведені у зведеній таблиці 6.

Таблиця 6.

№ групи досліджу	№ біоптату кролика	Характеристика регенерату						Суглобовий хрящ країв дефекту	Субхондральна кістка
		частка гіалінового хряща в дефекті, %	поверхня	інтегрованість структури	щільність суглобового хряща країв дефекту	зв'язок регенерату з краями дефекту	дегенеративні зміни клітинних елементів		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I – Норма		100,0%	Рівна	Нормальна	100,0 %	Повний	Відсутні	Нормальний	Повна
Трансхондральний дефект суглобового хряща (плацебо – фізрозчин) p<0,05									
II	5308	3	1	1	2	1	1	1	1
	5370	3	1	0	1	0	1	0	0
	5371	3	1	0	1	1	0	1	0
		9	3	1	4	2	2	2	1
	5372	0	0	0	0	0	0	0	1
	5373	3	1	1	0	1	0	1	1
	5374	3	0	1	1	0	1	0	1
		6	1	2	1	1	1	1	3
Профілактика розвитку остеоартрозу препаратом гіалуаль-артро внутрішньосуглобово щотижня (1% розчин гіалурунової кислоти з сукцинатом натрію) p<0,05									
III	5309	6	2	2	2	2	2	2	2
	5310	3	2	1	2	2	2	2	1
	5311	6	1	1	2	1	2	1	2
	5312	6	2	0	1	2	2	2	2
	5313	6	1	1	1	1	1	1	1
		27	8	5	8	8	9	8	8
Профілактика розвитку артрозу препаратом сингал внутрішньосуглобово щотижня (1% розчин гіалурунової кислоти) p<0,1									
IV	5314	6	1	1	1	1	1	1	1
	5315	3	1	1	1	0	1	1	1
	5316	3	2	1	1	1	1	2	2
	5317	6	1	1	0	1	1	1	1
	5318	3	0	0	0	0	0	0	0
		21	5	4	3	3	4	5	5
Попередження прогресування остеоартрозу препаратом гіалуаль-артро внутрішньосуглобово щотижня (1% розчин гіалурунової кислоти з сукцинатом натрію) p<0,05									
V	5361	6	2	2	2	2	2	2	2
	5362	6	2	2	1	2	2	2	2
	5363	6	2	1	2	2	2	2	2
	5364	6	1	0	1	1	1	1	1
	5365	6	2	2	2	2	2	2	2
		30	9	7	8	9	9	9	9
Попередження прогресування остеоартрозу препаратом сингал внутрішньосуглобово щотижня (1% розчин гіалурунової кислоти) p<0,1									
VI	5366	6	1	1	1	1	1	2	2
	5367	3	1	1	1	1	2	1	2
	5368	3	1	1	1	1	1	1	1
	5369	3	0	0	0	0	0	0	1
		15	3	3	3	3	4	4	6

1-5314.1500	2-314.1034	3-5359.1488	5-5314.1489		
I група. Контрольна група (неоперовані кролики)					
1-5372-1501-45	1a-5370	2-1489-45	3-5374-1502-90	4-1503-5371-45	6-5374.1490
II група. Плацебо контроль (друга група – оперовані кролики)					
1-5309	2-5310	3-5311	4-5312	5-5313	
III група. Профілактика ОА (третя група – застосування "Гіалуаль-артро")					
1-5315	2-5316	3-5317	4-5318	5-5319	
IV група. Профілактика ОА (четверта група – застосування "Сингіалу")					
1-5361.1491	2-5362.1492	3-5363.1493	4-5364.1495	5-5365-1494	
V група. 45 дів після операції + 45 дів лікування Лікування ОА (п'ята група – застосування "Гіалуаль-артро"):					
1-5366.1496	2-5367.1497	3-5368.1498	4-5369.1499		
VI група. 45 дів після операції + 45 дів лікування. Лікування ОА (шоста група – застосування "Сингіалу"):					

3.2. Результати експериментального дослідження активності ВРПОЛ та системи антиоксидантного захисту організму. Порівняння ефективності та безпечності впливу препаратів гіалуронової кислоти за станом системи антиоксидантного захисту організму та активністю процесів ВРПОЛ.

Результати досліджень при застосуванні препаратів «Гіагуаль-артро» та гіалуронової кислоти для профілактики розвитку ЕПОАКС у кролів.

У кролів, у яких препарати гіалуронової кислоти не застосувалися (оперовані кролі з ЕПОАКС) у плазмі крові виявлялася типова для динамічного розвитку цього патологічного процесу активація системи ВРПОЛ, що проявлялося достовірним приростом рівня СХЛ цього біологічного субстрату, а в умовах ініціації перекисних процесів іонами Fe^{2+} - прискоренням швидкості окислення ліпідів, накопиченням перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій та достовірним підвищенням резистентності ліпідів до переокислення (табл.7). При цьому латентний період розвитку повільного спалаху ХЛ після ініціації укорочувався, що свідчило за наявність антиоксидантної недостатності. В цілому ці дані вказували на порушення ліпідного складу плазми крові у кролів внаслідок тривалої передуючої активації системи ВРПОЛ та розвитку внаслідок цього дефіциту легкоокислюваних фракцій ліпідів.

У групи кролів, яким для профілактики розвитку ЕПОАКС інтрасуглобово вводили Гіагуаль, в плазмі крові виявлялася тільки тенденція до приросту рівня її СХЛ (табл.7). При цьому після ініціації перекисних процесів у плазмі крові іонами Fe^{2+} спостерігалася тенденція до зниження вмісту в ній первинних продуктів ВРПОЛ – гідроперекисів ліпідів і швидкості перебігу процесу ПОЛ та високо достовірно була знижена швидкість окислення ліпідів і антиоксидантна забезпеченість цього біологічного субстрату. В той же час, не дивлячися на зниження амплітудних показників хемілюмінограмм, що засвідчувало пригнічення активності системи ВРПОЛ у плазмі крові кролів цієї групи, виявлено також достовірне накопичення в ній перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій та зростання резистентності ліпідів до переокислення, аналогічні таким у оперованих кролів, які цей препарат не отримували.

У плазмі крові групи кролів, яким для профілактики розвитку ЕПОАКС інтрасуглобово вводили 1% гіалуронову кислоту, не виявлено суттєвих відхилень у рівні її СХЛ, а після ініціації перекисних процесів іонами Fe^{2+} і у вмістові первинних продуктів ПОЛ – гідроперекисів ліпідів та швидкості перебігу процесу ПОЛ (табл.7). Але, як і у кролів попередньої групи (Гіагуаль), у плазмі крові знижувалася швидкість окислення ліпідів, виявлялася антиоксидантна недостатність та накопичувалися перекисні продукти

вільнорадикальних реакцій. Проте при цьому не виявлено змін резистентності ліпідів плазми крові до переокислення.

Отже, проведеними дослідженнями у оперованих кролів з ЕПОАКС виявлена типова для динамічного розвитку цього патологічного процесу активація системи ВРПОЛ у плазми крові з порушенням ліпідного її складу. Інтрасуглобове застосування препаратів Гіагуаль та 1% гіалуронова кислота для профілактики виявлених порушень активності системи ВРПОЛ у плазмі крові кролів з ЕПОАКС призвело до певної її нормалізації. Зокрема, застосування 1% гіалуронової кислоти нормалізувало, а препарату Гіагуаль навіть пригнічувало активність цієї системи за показниками накопичення гідроперекисів ліпідів та інтенсивності перебігу процесу ПОЛ. Обидва препарати пригнічували швидкість окислення ліпідів, проте не ліквідували характерне для кролів з ЕПОАКС накопичення у плазмі крові перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій і наявність антиоксидантної недостатності у цьому біологічному субстраті. Крім цього, препарат Гіагуаль не нормалізував у плазмі крові кролів з ЕПОАКС підвищену резистентність ліпідів до переокислення, тобто порушення її ліпідного складу.

У оперованих кролів з ЕПОАКС в гомогенатах тканини печінки виявлялося зниження рівня СХЛ, а в умовах ініціації перекисних процесів в них іонами Fe^{2+} , окрім незмінного вмісту гідроперекисів ліпідів, глибоке пригнічення активності системи ВРПОЛ за всіма показниками хемілюмінограми (табл.8). При цьому значно подовжувався латентний період реакції ініціації повільного спалаху ІХЛ, що у сукупності зі зниженням вмісту у гомогенатах вмісту перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій та зростанням резистентності ліпідів мембран гепатоцитів до переокислення свідчило за значне пошкодження тканини печінки.

При застосуванні у кролів для профілактики розвитку ЕПОАКС інтрасуглобового введення препарату Гіагуаль в гомогенатах тканини печінки спостерігалися якісно аналогічні, але кількісно і статистично суттєво менше виражені порушення активності системи ВРПОЛ і, відповідно менше виражене пошкодження печінки (табл.8).

При застосуванні у кролів для профілактики розвитку ЕПОАКС інтрасуглобового введення 1% гіалуронової кислоти в гомогенатах тканини печінки спостерігалися якісно аналогічні, але кількісно і статистично суттєво більше виражені порушення активності системи ВРПОЛ і, відповідно більше виражене пошкодження печінки, як у порівнянні з кролями групи з ЕПОАКС, так і оперованими кролями, які отримували Гіагуаль (табл.8).

Отже, у оперованих кролів з ЕПОАКС виявлено суттєве порушення активності системи ВРПОЛ у тканині печінки, яке засвідчувало наявність пошкодження мембран гепатоцитів. Інтрасуглобове застосування препаратів, що досліджувалися (Гіагуаль, ГК) по різному впливало на змінену активність системи ВРПОЛ у тканині печінки. Зокрема, препарат Гіагуаль у значній мірі нормалізував пригнічений її стан і таким чином зменшував вираженість пошкодження тканини печінки при ЕПОАКС. Це, вірогідно, відбувалося завдячуючи його комплексності, яка включає високомолекулярну,

високоочищену гіалуронову кислоту в унікальній формулі з сукцинатом натрію. Останній, як відомо, є активатором метаболічних процесів не тільки у суглобовому хрящі, а у інших тканинах. Тоді як 1% гіалуронова кислота, навпаки, поглиблює порушення у активності системи ВРПОЛ, вірогідно, за рахунок того, що, як відомо, близько 83% препарату, введенного до суглобової сумки, після дистопії (дислокації) з неї метаболізується в печінці, що є додатковим функціональним навантаженням. Крім цього, його застосування протипоказане при тяжких захворюваннях печінки.

У оперованих кролів з ЕПОАКС в гомогенатах тканини міокарда виявлялися відносно незначні зміни в активності системи ВРПОЛ (табл.9). Так, рівень СХЛ гомогенатів не відрізнявся від контрольного. Після ініціації перекисних процесів в них іонами Fe^{2+} визначалося накопичення гідроперекисів ліпідів, прискорення швидкості окислення ліпідів та подовження часу реакції ініціації повільного спалаху ІХЛ на фоні не зміненої інтенсивності перебігу процесу ПОЛ та вмісту перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій і резистентності ліпідів до переокислення.

При застосуванні у кролів для профілактики розвитку ЕПОАКС інтрасуглобового введення препарату Гіагуаль в гомогенатах тканини міокарда спостерігалися підвищення рівня СХЛ, тенденція до прискорення перебігу процесу ПОЛ і накопичення перекисних продуктів вільно радикальних реакцій, що поєднувалося з прискоренням у 3.4 рази швидкості окислення ліпідів мембран кардіоміоцитів. При цьому латентний період ініціації реакції повільного спалаху ІХЛ подовжувався, а резистентність ліпідів до переокислення суттєво не змінювалася. У своїй сукупності ці результати, вірогідно, відображували стимулюючий вплив сукцинату натрію, як складової препарату Гіагуаль, на метаболічні процеси в міокарді, що логічно супроводжується активацією і системи ВРПОЛ.

При застосуванні у кролів для профілактики розвитку ЕПОАКС інтрасуглобового введення 1% гіалуронови кислоти в гомогенатах тканини міокарда спостерігалися у значній мірі аналогічна попередній групі кролів (Гіагуаль) активація системи ВРПОЛ (табл.9). Все ж слід відзначити менше значимий приріст швидкості окислення ліпідів та подовження латентного періоду ініціації повільного спалаху ІХЛ, відсутність накопичення перекисних продуктів вільно радикальних реакцій у порівнянні з гомогенатами міокарда у кролів, які отримували препарат Гіагуаль. При цьому, у кролів цієї групи (1% гіалуронова кислота) суттєво підвищувалася резистентність ліпідів мембран кардіоміоцитів до переокислення стандартною дозою ініціатора перекисних процесів (іонів Fe^{2+}).

Отже, виявлені у оперованих кролів з ЕПОАКС в тканині міокарда відносно незначні зміни в активності системи ВРПОЛ, вірогідно, доцільно розглядати, як вторинні, що зумовлені наявністю у тварин болю і запального процесу. Інтрасуглобове застосування препаратів, що досліджувалися (Гіагуаль, 1% гіалуронова кислота) для профілактики розвитку ЕПОАКС супроводжувалося в тканині міокарда у значній мірі аналогічними і патофізіологічно мало значимими порушеннями активності системи ВРПОЛ.

Хоча, заради об'єктивності, слід зазначити, що деякі із них все ж можуть бути свідками стимуляції метаболічних процесів у міокарді сукцинатом натрію (як складової препарату Гіагуаль) та структурно-функціональних порушень у кардіоміоцитах (1% гіалуронова кислота).

Результати досліджень при застосуванні препаратів «Гіагуаль-артро» та 1% гіалуронової кислоти для лікування ЕПОАКС у кролів.

У кролів з експериментально відтвореним ЕПОАКС у плазмі крові виявлялася типова для динамічного розвитку цього патологічного процесу активація системи ВРПОЛ, що проявлялося достовірним приростом рівня СХЛ цього біологічного субстрату, а в умовах ініціації перекисних процесів іонами Fe^{2+} - прискоренням швидкості окислення ліпідів, накопиченням перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій та достовірним підвищенням резистентності ліпідів до переокислення (табл. 10). При цьому латентний період розвитку повільного спалаху ХЛ після ініціації укорочувався, що свідчило за наявність антиоксидантної недостатності. В цілому ці дані вказували на порушення ліпідного складу плазми крові у кролів внаслідок тривалої передуючої активації системи ВРПОЛ та розвитку внаслідок цього дефіциту легкоокислюваних фракцій ліпідів.

У групи кролів, яким для лікування ЕПОАКС інтрасуглобово вводили Гіагуаль, у плазмі крові виявлялася тільки тенденція до зниження інтенсивності перебігу процесу ПОЛ та високо достовірне подовження латентного періоду реакції ініціації повільного спалаху ІХЛ у порівнянні з контрольними тваринами. Крім цього, у кролів цієї групи також визначено високо достовірне підвищення резистентності її ліпідів до переокислення (табл.10). У той же час, у порівнянні з кролями групи з ЕПОАКС застосування препарату Гіагуаль нормалізувало підвищений рівень СХЛ плазми крові, а в умовах ініціації перекисних процесів іонами Fe^{2+} і швидкість окислення ліпідів та вміст перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій. Однак застосування цього лікарського засобу не впливало на знижену інтенсивність перебігу процесу ПОЛ та підвищену резистентність ліпідів плазми крові до процесу переокислення, а також подовжений латентний період реакції ініціації повільного спалаху ІХЛ.

У групи кролів, яким для лікування ЕПОАКС інтрасуглобово вводили 1% гіалуронову кислоту, у плазмі крові не виявлено зміни рівня її СХЛ (табл.10). В умовах ініціації у плазмі крові перекисних процесів іонами Fe^{2+} встановлено зниження вмісту первинних продуктів процесу ПОЛ – гідроперекисів ліпідів, тенденція до приросту вмісту перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій і високо достовірне подовження латентного періоду розвитку повільного спалаху ІХЛ. У той же час, його застосування не змінювало інтенсивність перебігу процесу ПОЛ, резистентність ліпідів плазми крові до переокислення,

нормалізувало підвищену швидкість окиснення ліпідів та суттєво подовжувало латентний період реакції ініціації повільного спалаху ІХЛ.

Отже, інтрасуглобове застосування для лікування експериментально відтвореного у кролів ЕПОАКС препарату Гіагуаль тільки частково нормалізувало виявлені порушення активності системи ВРПОЛ у плазмі крові. Зокрема, це стосувалося рівня СХЛ, швидкості окиснення ліпідів та вмісту перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій. У той же час, його застосування викликало пригнічення інтенсивності перебігу процесу ПОЛ та більш суттєве підвищення резистентності ліпідів до процесу переокиснення у плазмі крові. У поєднанні з високодостовірним подовженням латентного періоду розвитку повільного спалаху ІХЛ це може свідчити про надлишковий антиоксидантний ефект цього препарату у плазмі крові після інтрасуглобового застосування. На відміну від цього, інтрасуглобове застосування для лікування експериментально відтвореного у кролів ЕПОАКС препарату 1% гіалуронової кислоти чинило більше виражений нормалізуючий ефект на порушену активність системи ВРПОЛ у плазмі крові кролів з ЕПОАКС. Спостерігалася нормалізація підвищеної швидкості окиснення ліпідів та резистентності ліпідів плазми крові до переокиснення. У той же час, високодостовірне подовження латентного періоду розвитку повільного спалаху ІХЛ у поєднанні зі зниженням вмісту гідроперекисів ліпідів також може свідчити про надлишковий антиоксидантний ефект цього препарату у плазмі крові після інтрасуглобового застосування.

У кролів з ЕПОАКС в гомогенатах тканини печінки виявлялося зниження рівня СХЛ, а в умовах ініціації перекисних процесів в них іонами Fe^{2+} , окрім незміненого вмісту гідроперекисів ліпідів, глибоке пригнічення активності системи ВРПОЛ за всіма показниками хемілюмінограми (табл.11). При цьому значно подовжувався латентний період реакції ініціації повільного спалаху ІХЛ, що у сукупності зі зниженням вмісту у гомогенатах вмісту перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій та зростанням резистентності ліпідів мембран гепатоцитів до переокиснення свідчило за значне пошкодження тканини печінки.

При застосуванні у кролів для лікування ЕПОАКС інтрасуглобового введення препарату Гіагуаль в гомогенатах тканини печінки зазначені вище порушення функціонального стану системи ВРПОЛ якісно зберігалися, а за результатами статистичної обробки, навіть, значно поглиблювалися (табл. 11).

При застосуванні у кролів для лікування ЕПОАКС інтрасуглобового введення 1% гіалуронової кислоти в гомогенатах тканини печінки також зберігалися якісні порушення функціонального стану системи ВРПОЛ, характерні для ЕПОАКС, але вони були статистично менше виражені, ніж при застосуванні препарату Гіагуаль (табл. 11).

Отже, при застосуванні у кролів для лікування ЕПОАКС інтрасуглобового введення препаратів Гіагуаль та 1% гіалуронової кислоти в гомогенатах тканини печінки зберігалися характерні для цього патологічного процесу порушення активності системи ВРПОЛ, які свідчили за значне пошкодження тканини печінки. Більш того, застосування препарату Гіагуаль значно

поглиблювало ці порушення. Тоді як 1% гіалуронова кислота суттєво не впливала на їхню вираженість.

У кролів з ЕПОАКС в гомогенатах тканини міокарда виявлялися відносно незначні зміни в активності системи ВРПОЛ (табл.12). Так, рівень СХЛ гомогенатів не відрізнявся від контрольного. В умовах ініціації перекисних процесів в них іонами Fe^{2+} визначалося накопичення гідроперекисів ліпідів, прискорення швидкості окислення ліпідів та подовження часу реакції ініціації повільного спалаху ІХЛ на фоні не зміненої інтенсивності перебігу процесу ПОЛ та вмісту перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій і резистентності ліпідів до переокиснення. У сукупності це засвідчувало наявність незначної активації системи ВРПОЛ у тканині міокарду кролів з ЕПОАКС.

При застосуванні у кролів для лікування ЕПОАКС інтрасуглобового введення препарату Гіагуаль в гомогенатах тканини міокарда визначалося зниження рівня їхньої СХЛ, що, згідно розроблених нами критеріїв оцінки функціонального стану системи ВРПОЛ [25,26], свідчить за наявність у тварин гормональної гомеостатичної реакції (ГГР), що спрямована на гальмування процесу ПОЛ (табл.12). В умовах ініціації перекисних процесів в них іонами Fe^{2+} визначалася нормалізація підвищеного вмісту гідроперекисів ліпідів та швидкості окислення ліпідів. Проте, при цьому в гомогенатах тканини міокарда тварин різко знижувався вміст перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій та підвищувалася резистентність ліпідів мембран кардіоміоцитів до процесу ПОЛ, досягаючи парадоксальних від'ємних значень. У сукупності з подовженням латентного періоду розвитку повільного спалаху ІХЛ це свідчить за наявність важкого ушкодження тканини міокарда.

При застосуванні у кролів для лікування ЕПОАКС інтрасуглобового введення 1% гіалуронової кислоти в гомогенатах тканини міокарда визначалося підвищення рівня їхньої СХЛ навіть більш значно, ніж у кролів з ЕПОАКС (табл.12). В умовах ініціації перекисних процесів в гомогенатах міокарда іонами Fe^{2+} зберігалася характерне для групи кролів з ЕПОАКС підвищення вмісту в гомогенатах гідроперекисів ліпідів. Його застосування не впливало на незмінену інтенсивність перебігу у міокарді процесу ПОЛ та подовжений латентний період реакції ініціації ІХЛ. Проте нормалізувало підвищену при ЕПОАКС швидкість окиснення ліпідів. Інтрасуглобове застосування препарату 1% гіалуронової кислоти у кролів для лікування ЕПОАКС знижувало вміст перекисних продуктів вільнорадикальних реакцій в гомогенатах міокарда та підвищувало резистентність ліпідів мембран кардіоміоцитів, правда у меншій мірі, ніж застосування препарату Гіагуаль, що засвідчувало наявність порушення структурно-функціонального стану мембран кардіоміоцитів.

Отже, при застосуванні у кролів для лікування ЕПОАКС інтрасуглобового введення препаратів ЛЗ, що досліджувалися, в гомогенатах тканини міокарда виявлено наявність значного ушкодження тканини міокарда (Гіагуаль) та порушення структурно-функціонального стану мембран кардіоміоцитів (1% гіалуронова кислота).

Проведеними дослідженнями підтверджено наявність раніше встановленого порушення активності системи ВРПОЛ у плазмі крові кролів з ЕПОАКС, як інтегруючому середовищі організму, які вказували на порушення її ліпідного складу внаслідок тривалої передуючої активації системи ВРПОЛ та дефіциту легкоокислюваних фракцій ліпідів. Крім цього, виявлено порушення активності цієї системи у гомогенатах тканини печінки та міокарда кролів з експериментальною травмою колінного суглобу, які у сукупності засвідчували, відповідно, наявність значного структурного пошкодження тканини печінки та незначної активації системи ВРПОЛ у тканині міокарду.

При застосуванні у кролів інтрасуглобового введення препаратів Гіагуаль та 1% гіалуронової кислоти для профілактики розвитку та лікування ЕПОАКС за показниками, що характеризують активність системи ВРПОЛ, виявлена різна їхня ефективність як за вказаним призначенням, так і в окремих біологічних субстратах, які досліджувалося (плазма крові, тканина печінки та міокарду).

Зокрема, при профілактичному застосуванні вказаних препаратів у кролів на ранньому етапі формування ЕПОАКС визначалися: - тільки часткова нормалізація активності системи ВРПОЛ у плазмі крові з певною, більшою ефективністю 1% гіалуронової кислоти; - значна нормалізація пригніченого стану системи ВРПОЛ у тканині печінки, як ознаки структурно-функціонального ураження мембран гепатоцитів, препаратом Гіагуаль, тоді як 1% гіалуронова кислота значно поглиблювала вираженість виявлених порушень, вірогідно, унаслідок додаткового метаболічного навантаження на цей орган; - незначний вплив на мало змінену активність системи ВРПОЛ у тканині міокарда, що супроводжувалося ознаками можливої стимуляції метаболічних процесів (Гіагуаль) та структурно-функціональних порушень у кардіоміоцитах (1% гіалуронова кислота).

При застосуванні вказаних препаратів у кролів для лікування ЕПОАКС, що сформувався, виявлені: - значно виражений надлишковий антиоксидантний ефект препарату Гіагуаль та помірно виражений аналогічний ефект препарату 1% гіалуронової кислоти у плазмі крові; - відсутність суттєвого впливу 1% гіалуронова кислота на вираженість структурно-функціонального пошкодження тканини печінки та, навпаки, значне поглиблення цих порушень препаратом Гіагуаль; - наявність значного ушкодження тканини міокарда препаратом Гіагуаль та маніфестація порушень структурно-функціонального стану мембран кардіоміоцитів препаратом 1% гіалуронової кислоти.

Таблиця 7. - Вплив профілактичного застосування ЛЗ у кролів з експериментальним післятравматичним остеоартрозом на активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у плазмі крові ($M \pm m$)

Серія експерименту	СХЛ	Fe ²⁺ -індукована хемілюмінесценція							
		h	H	I6	∠a	t1	t2	S1	S2
I. Контроль	442±55	38,0±2,1	14,7±1,4	14,7±1,4	3,8±0,2	93,3±0,9	360,0±0,0	3558±599	2430±264
II. Оперовані	685±176	40,0±2,1	14,0±1,4	14,0±1,4	4,8±0,5	68,7±5,3	360,0±0,0	5702±958	1592±116
III. Дослідна Гіалуаль	640±77	33,6±1,7	12,0±0,8	12,0±0,8	2,8±0,2	67,0±3,2	360,0±0,0	5440±449	1600±457
IV. Порівняння Сингнал	384±42	35,2±1,7	13,6±0,8	13,6±0,8	3,0±0,2	80,0±3,2	360,0±0,0	6241±624	2403±276
P1-2	<0,05	>0,5	>0,5	>0,5	<0,1	<0,01	>0,5	<0,1	<0,02
P1-3	<0,1	<0,2	<0,2	<0,2	<0,01	<0,001	>0,5	<0,05	<0,2
P1-4	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	<0,02	<0,01	>0,5	<0,02	>0,5
P2-3	>0,5	<0,05	>0,5	>0,5	<0,01	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5
P2-4	<0,01	<0,2	>0,5	>0,5	<0,001	<0,2	>0,5	>0,5	<0,05
P3-4	<0,02	>0,5	<0,2	<0,2	>0,5	<0,02	>0,5	>0,5	<0,2

Таблиця 10. - Вплив лікувального застосування ЛЗ у кролів з експериментальним післятравматичним остеоартрозом на активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у плазмі крові ($M \pm m$)

Серія експерименту	СХЛ	Fe ²⁺ -індукована хемілюмінесценція							
		h	H	I6	∠a	t1	t2	S1	S2
I. Контроль	442±55	38,0±2,1	14,7±1,4	14,7±1,4	3,8±0,2	93,3±0,9	360,0±0,0	3558±599	2430±264
II. Оперовані	685±176	40,0±2,1	14,0±1,4	14,0±1,4	4,8±0,5	68,7±5,3	360,0±0,0	5702±958	1592±116
V. Дослідна Гіалуаль	507±3	36,8±4,3	11,2±0,8	11,2±0,8	3,6±0,4	128,0±2,1	360,0±0,0	3485±236	442±349
VI. Порівняння Сингнал	413±63	29,6±0,8	12,8±2,6	12,8±2,6	3,2±0,8	117,0±3,2	360,0±0,0	4661±93	2180±239
P1-2	<0,05	>0,5	>0,5	>0,5	<0,1	<0,01	>0,5	<0,1	<0,02
P1-5	>0,5	>0,5	<0,1	<0,1	>0,5	<0,001	>0,5	>0,5	<0,001
P1-6	>0,5	<0,01	>0,5	>0,5	>0,5	<0,001	>0,5	<0,1	>0,5
P2-5	<0,05	>0,5	<0,1	<0,1	<0,05	<0,001	>0,5	<0,05	<0,001
P2-6	<0,02	<0,001	>0,5	>0,5	<0,1	<0,001	>0,5	>0,5	<0,05
P5-6	<0,2	<0,2	>0,5	>0,5	>0,5	<0,02	>0,5	<0,01	<0,001

Таблиця 8. - Вплив профілактичного застосування ЛЗ у кролів з експериментальним післятравматичним остеоартрозом на активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у гомогенатах печінки ($M \pm m$)

Серія експерименту	СХЛ	Fe ²⁺ -індукована хемілюмінесценція							
		h	H	I6	∠a	t1	t2	S1	S2
I. Контроль	735±53	61,3±6,4	51,3±2,8	51,3±2,8	13,5±0,4	53,3±0,9	360,0±0,0	17245±1200	11619±1483
II. Оперовані	429±108	56,3±1,4	31,3±3,8	31,3±3,8	6,7±1,0	78,3±5,3	360,0±0,0	8472±797	5899±621
III. Дослідна Гіалуаль	628±91	60,0±1,7	36,8±6,9	36,8±6,9	10,0±1,5	73,0±3,8	360,0±0,0	11876±1645	8107±1687
IV. Порівняння Сингінал	558±27	67,2±2,6	15,2±0,8	15,2±0,8	5,8±1,0	73,07,5	360,0±0,0	5684±671	2334±427
P1-2	<0,05	>0,2	<0,01	<0,01	<0,001	<0,001	>0,5	<0,001	<0,01
P1-3	>0,2	>0,5	<0,1	<0,1	<0,05	<0,001	>0,5	<0,05	<0,2
P1-4	<0,2	>0,5	<0,001	<0,001	<0,001	<0,05	>0,5	<0,001	<0,001
P2-3	<0,2	<0,1	>0,5	>0,5	<0,1	>0,5	>0,5	<0,1	>0,2
P2-4	>0,2	<0,01	<0,01	<0,01	>0,5	>0,5	>0,5	<0,01	<0,001
P3-4	>0,5	<0,05	<0,01	<0,01	<0,05	>0,5	>0,5	<0,01	<0,01

Таблиця 11. - Вплив лікувального застосування ЛЗ у кролів з експериментальним післятравматичним остеоартрозом на активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у гомогенатах печінки ($M \pm m$)

Серія експерименту	СХЛ	Fe ²⁺ -індукована хемілюмінесценція							
		h	H	I6	∠a	t1	t2	S1	S2
I. Контроль	735±53	61,3±6,4	51,3±2,8	51,3±2,8	13,5±0,4	53,3±0,9	360,0±0,0	17245±1200	11619±1483
II. Оперовані	429±108	56,3±1,4	31,3±3,8	31,3±3,8	6,7±1,0	78,3±5,3	360,0±0,0	8472±797	5899±621
V. Дослідна Гіалуаль	461±41	56,8±1,7	15,2±1,7	15,2±1,7	3,6±0,4	67,0±2,1	360,0±0,0	5573±143	2862±292
VI. Порівняння Сингінал	464±89	47,2±1,7	27,2±4,3	27,2±4,3	8,2±0,8	94,0±2,1	360,0±0,0	7684±530	4901±199
P1-2	<0,05	>0,2	<0,01	<0,01	<0,001	<0,001	>0,5	<0,001	<0,01
P1-5	<0,01	>0,2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	<0,001	<0,001
P1-6	<0,05	<0,1	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	>0,5	<0,001	<0,01
P2-5	>0,5	>0,5	<0,01	<0,01	<0,02	<0,1	>0,5	<0,01	<0,01
P2-6	>0,5	<0,01	>0,5	>0,5	>0,2	<0,02	>0,5	>0,5	<0,2
P5-6	>0,5	<0,01	<0,05	<0,05	<0,001	<0,001	>0,5	<0,01	<0,001

Таблиця 9. - Вплив профілактичного застосування ЛЗ у кролів з експериментальним післятравматичним остеоартрозом на активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у гомогенатах міокарда ($M \pm m$)

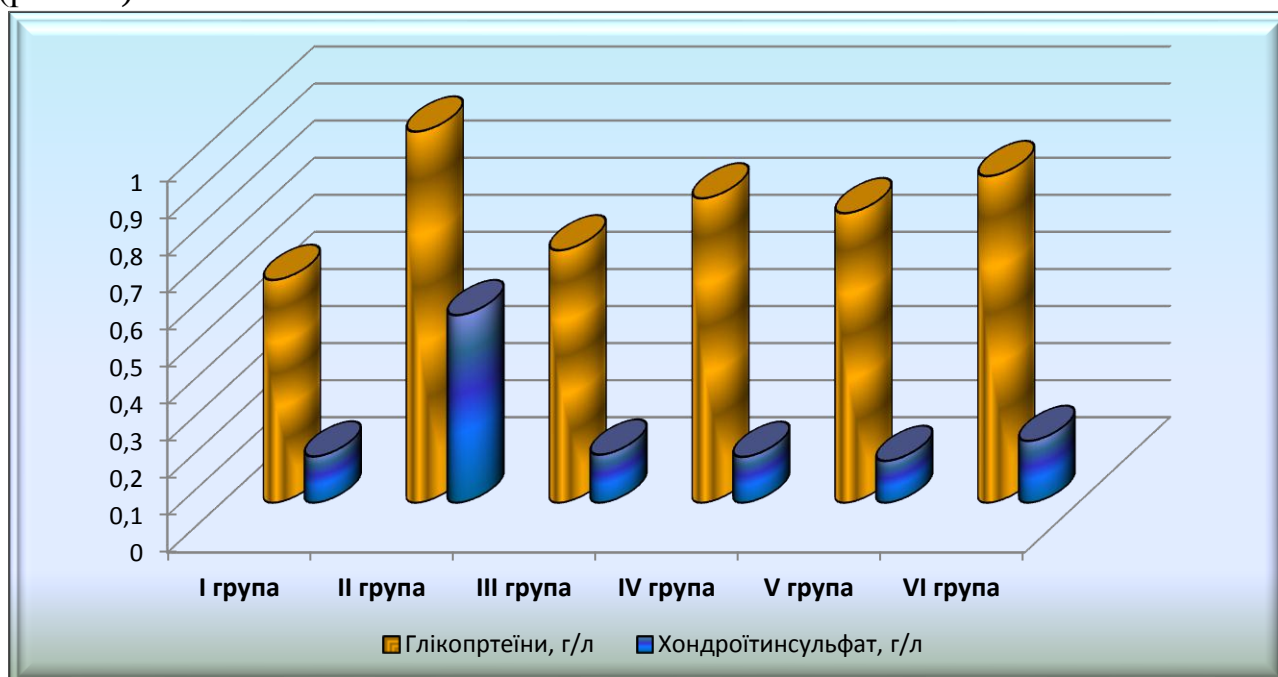
Серія експерименту	СХЛ	Fe ²⁺ -індукована хемілюмінесценція							
		h	H	I6	∠a	t1	t2	S1	S2
I. Контроль	496±42	40,0±3,5	10,7±1,4	10,7±1,4	2,0±0,2	63,3±4,4	360,0±0,0	5483±109	3226±259
II. Оперовані	553±21	51,3±1,4	12,7±0,7	12,7±0,7	4,7±0,7	120,0±7,0	360,0±0,0	6296±899	2978±275
III. Дослідна Гіалуаль	647±45	43,6±0,8	15,2±1,7	15,2±1,7	6,8±0,4	89,0±2,1	360,0±0,0	6624±595	2742±244
IV. Порівняння Сингінал	613±38	39,2±0,8	15,2±0,8	15,2±0,8	3,2±0,4	77,0±4,3	360,0±0,0	5294±404	1617±327
P1-2	>0,2	<0,02	>0,2	>0,2	<0,01	<0,001	>0,5	>0,5	>0,5
P1-3	<0,05	>0,2	<0,1	<0,1	<0,001	<0,01	>0,5	<0,1	>0,2
P1-4	<0,1	>0,5	<0,02	<0,02	<0,05	<0,05	>0,5	>0,5	<0,01
P2-3	<0,1	<0,001	<0,2	<0,2	<0,05	<0,01	>0,5	>0,5	>0,5
P2-4	<0,2	<0,001	<0,05	<0,05	<0,01	<0,001	>0,5	>0,2	<0,01
P3-4	>0,5	<0,01	>0,5	>0,5	<0,001	<0,05	>0,5	<0,1	<0,02

Таблиця 12. - Вплив лікувального застосування ЛЗ у кролів з експериментальним післятравматичним остеоартрозом на активність системи вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у гомогенатах міокарда ($M \pm m$)

Серія експерименту	СХЛ	Fe ²⁺ -індукована хемілюмінесценція							
		h	H	I6	∠a	t1	t2	S1	S2
I. Контроль	496±42	40,0±3,5	10,7±1,4	10,7±1,4	2,0±0,2	63,3±4,4	360,0±0,0	5483±109	3226±259
II. Оперовані	553±21	51,3±1,4	12,7±0,7	12,7±0,7	4,7±0,7	120,0±7,0	360,0±0,0	6296±899	2978±275
V. Дослідна Гіалуаль	355±34	44,8±4,3	9,6±1,7	9,6±1,7	2,6±0,4	84,0±2,1	360,0±0,0	3633±124	-10±936
VI. Порівняння Сингінал	723±102	49,6±0,8	8,0±1,7	8,0±1,7	2,0±0,4	112,0±4,3	360,0±0,0	4368±339	626±338
P1-2	>0,2	<0,02	>0,2	>0,2	<0,01	<0,001	>0,5	>0,5	>0,5
P1-5	<0,05	>0,2	>0,5	>0,5	>0,2	<0,01	>0,5	<0,001	<0,01
P1-6	<0,1	<0,05	>0,2	>0,2	>0,5	<0,001	>0,5	<0,01	<0,001
P2-5	<0,001	<0,2	<0,2	<0,2	<0,2	<0,001	>0,5	<0,02	<0,02
P2-6	<0,2	>0,5	<0,05	<0,05	<0,01	>0,2	>0,5	<0,1	<0,001
P5-6	<0,01	>0,2	>0,5	>0,5	>0,2	<0,001	>0,5	<0,1	>0,5

3.3. Результати біохімічних досліджень основних показників метаболізму кісткової та хрящової тканин у досліджуваних групах.

Під час аналізу результатів біохімічного дослідження сироватки крові кролів за проведення експерименту було з'ясовано зміни показників обміну хрящової та кісткової тканини пошкоджених суглобів (табл.13). При порівнянні інтактної групи тварин з II групою (моделювання посттравматичного артрозу) було встановлено зростання вмісту глікопротеїнів на 66,7% ($p<0,05$), хондроїтинсульфатів – у 4 рази ($p<0,05$), що свідчить про розвиток важких запально-деструктивних змін у суглобах внаслідок нанесеного пошкодження (рис.10).



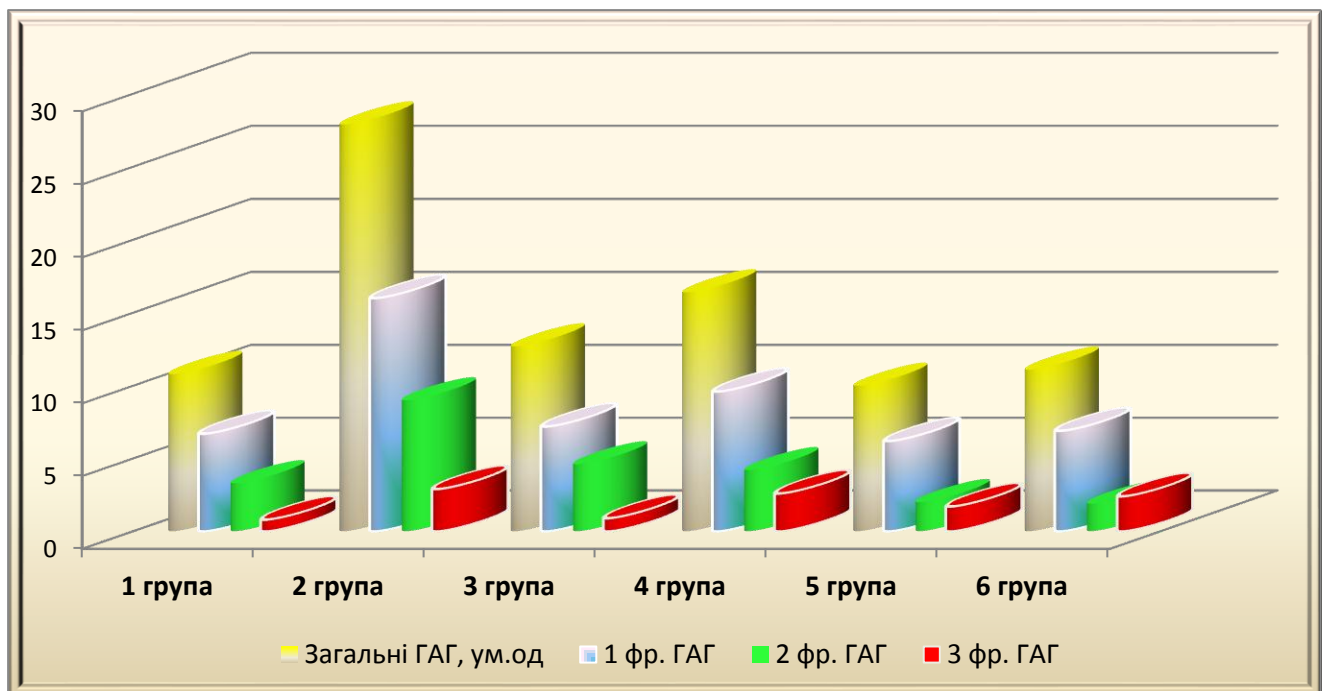
Важкість запальних процесів у суглобах підтверджується зростанням вмісту загальних ГАГ у 2,6 рази за рахунок всіх фракцій: першої фракції – у 2,4 рази, другої – у 2,7 рази, третьої – у 3,6 рази порівняно з інтактною групою ($p<0,05$). Зниження активності лужної фосфатази у сироватці крові тварини II групи можна пояснити тривалістю запально-деструктивних процесів у кістковій тканині суглобів, за яких внаслідок хронічного запалення розвивається анемічний синдром.

Таким чином, трансхондральне пошкодження колінних суглобів у кролів достовірно віддзеркалювалося у результатах біохімічного дослідження сироватки крові.

Дослідження біохімічних показників крові при визначенні ефективності профілактичної дії препарату 1% гіалуринової кислоти (ГК) та Гіалуаль-артро вказували на ефективність обох лікарських препаратів. Але слід підкреслити, що у тварин III групи, яким вводили препарат Гіалуаль-артро, активність

запалення у суглобах за показником глікопротеїнів була нижче на 17 % за кролів IV групи ($p<0,05$), яким вводили 1% гіалуронову кислоту. Також можна відзначити зменшення деструкції хрящової та кісткової тканини суглобів за показником третьої фракції ГАГ, до якої входить переважно кератансульфат. У тварин, яким вводили 1% гіалуронову кислоту, вміст третьої фракції ГАГ сироватки крові був у 2,9 рази вище за кролів III групи ($p<0,05$), яким вводили Гіалуаль-артро. У тварин III групи вміст третьої фракції ГАГ знизився до рівня інтактної групи, що свідчить про більш високу ефективність препарату Гіалуаль-артро порівняно із препаратом 1% гіалуронової кислоти.

При проведенні порівняння лікувальної ефективності лікарських препаратів було встановлено, що у тварин V групи, яким вводили препарат Гіалуаль-артро, вміст глікопротеїнів у сироватці крові був нижче на 11,4 % порівняно з VI групою кролів ($p<0,05$), яким вводили 1% гіалуронову кислоту. Вміст хондроїтинсульфатів у крові тварин V групи також був нижче на 32,5 % ($p<0,05$), третя фракція ГАГ – нижче на 29,2 % ($p<0,05$) порівняно з тваринами VI групи (рис.11).



При порівнянні III і V груп тварин, яким із профілактичною та лікувальною метою вводили у колінні суглоби дослідний препарат Гіалуаль-артро, було з'ясовано, що профілактика за біохімічними показниками стану сполучної тканини виявилася більш ефективною за лікування. Це підтверджується тим, що у тварин V групи вміст глікопротеїнів в крові був на 14,7 % вище за показник у III групі ($p<0,05$), тобто, ступінь запального процесу у суглобах за профілактики була меншою, ніж за лікування. Також вміст третьої фракції ГАГ у V групі був вище на 88,9 % за аналогічний показник у III групі,

що свідчить про меншу інтенсивність деструктивних процесів у суглобах при введенні препарату з метою профілактики.



Таким чином, проаналізувавши результати біохімічних досліджень сироватки крові кролів під час експерименту щодо профілактики та лікування посттравматичного артрозу колінного суглоба, можна зробити висновок, що за концентрацією глікопротеїнів, хондроїтинсульфатів та змінами фракційного складу ГАГ сироватки крові клінічна ефективність препарату Гіалуаль-артро була вищою за звичайний препарат гіалуронової кислоти. Це пояснюється тим, що у складі лікарського препарату Гіалуаль-артро окрім 1% розчину гіалуронової кислоти входить сукцинат натрію – інгібітор вільнорадикального окиснення, мембранопротектор з антигіпоксичною дією, який здатен пригнічувати перекисне окиснення ліпідів та підвищувати активність супероксидисмутази [1,27,29]. У комплексі із гіалуроновою кислотою за профілактики та лікування артрозу препарат Гіалуаль-артро викликає прискорення репаративних процесів та зменшує запально-деструктивні зміни у хрящовій та кістковій тканині суглобів в експерименті. Гіалуаль-артро є ефективним препаратом при лікуванні дегенеративних ушкоджень хряща. Ефективність застосування препарату полягає у комплексній хондропротекторній та антиоксидантній дії, що дає змогу одночасно діяти на декілька ланок патогенезу дегенерації хрящової тканини.

Таблиця 13.

Результати біохімічного дослідження крові кролів при проведенні експерименту

Показники	Групи дослідних тварин					
	I група, n=6 Інтактна, контроль	II група, n=6 Пошкодження суглоба	III група, n=5 Профілактика гіалуаль-артро	IV група, n=5 Профілактика сингіал	V група, n=5 Лікування гіалуаль- артро	VI група, n=5 Лікування сингіал
Глікопротеїни, г/л	0,60±0,04	1,00±0,12 *	0,68±0,02 ◇	0,82±0,02	0,78±0,02 △	0,88±0,01 Δ
Загальний білок, г/л	69,5±1,81	66,3±1,32	67,7±1,68	67,7±1,19	68,1±2,58	68,5±2,42
Хондроїтинсульфати, г/л	0,124±0,003	0,505±0,041 *	0,129±0,007	0,123±0,012	0,112±0,002	0,166±0,013Δ
Загальні ГАГ, ум. од.	10,8±0,43	27,9±3,51 *	12,7±0,86	16,4±1,52	10,0±0,71	11,1±0,40
I фракція ГАГ	6,7±0,33	16,0±2,14 *	7,2±0,51	9,6±0,74	6,2±0,41	6,9±0,20
II фракція ГАГ	3,3±0,20	9,0±1,01 *	4,6±0,43	4,2±0,87	2,0±0,25	1,9±0,28
III фракція ГАГ	0,8±0,05	2,9±0,54 *	0,9±0,15 ◇	2,6±0,37	1,7±0,11 △	2,4±0,13 Δ
Лужна фосфатаза, У/л	383,0±21,6	113,0±11,5 *	271,0±53,3	315,0±18,7	285,0±56,2	279,0±50,6
Загальний кальцій, ммоль/л	3,18±0,03	2,51±0,10	2,95±0,05	2,87±0,04	2,90±0,06	2,72±0,06
Іонізований кальцій, ммоль/л	1,45±0,03	1,19±0,11	1,50±0,06	1,56±0,09	1,40±0,05	1,20±0,03
Калій, ммоль/л	9,0±0,19	8,95±1,07	8,26±0,16	8,93±0,18	7,16±0,06	6,57±0,13
Натрій, ммоль/л	154,6±2,20	135,9±1,37	132,5±1,73	126,7±1,32	134,1±0,67	131,6±1,21

Примітки: * – $p < 0,05$ при порівнянні 1-ї та 2-ї груп тварин; ◇ – $p < 0,05$ при порівнянні 3-ї та 4-ї груп тварин;
 Δ – $p < 0,05$ при порівнянні 5-ї та 6-ї груп тварин; △ – $p < 0,05$ при порівнянні 3-ї та 5-ї груп тварин.

ВИСНОВКИ

1. Кістково-хрящовий дефект надколінкової поверхні суглобового кінця стегнової кістки в строки спостереження 45 та 90 діб після травми заповнюється переважно фіброзним компонентом регенерату, хрящові клітини виявляються невеликими осередками, у вигляді волокнистого хряща. Суглобовий хрящ країв дефекту піддається виразним та розповсюдженим дегенеративним та некротичним процесам, які відповідають морфологічній картині посттравматичного остеоартрозу.
2. Використання 1% розчину гіалуронової кислоти у поєднанні з сукцинатом натрію сприяє більш активному формуванню хрящового регенерату в дефекті, ніж застосування монопрепарату 1% розчину гіалуронової кислоти. Це дозволяє нам вважати, що поєднання розчину гіалуронової кислоти з сукцинатом натрію оптимізує диференціювання скелетогенних клітин у хондроцити та сприяє інтегрованості хрящового регенерату.
3. Результати морфогістологічного дослідження показали, що у тварин обох груп протягом 45 діб після отримання трансхондрального ушкодження процес репаративного відновлення та заповнення дефекту суглобового хряща супроводжується розвитком дегенеративно-дистрофічних змін, які охоплюють не тільки регенерат, що формується, але й суглобовий хрящ поза зоною дефекту. Виразність цих патологічних змін з боку суглобового хряща, які є характерними для початкової стадії посттравматичного деформівного остеоартрозу, була меншою у тварин, яким у колінний суглоб після отримання трансхондрального дефекту, вводили розчин гіалуронової кислоти в поєднанні з сукцинатом натрію.
4. Проведеними біохімічними дослідженнями системи антиоксидантного захисту організму експериментальних тварин підтверджена наявність раніше встановленого порушення активності системи ВРПОЛ у плазмі крові кролів з ЕПОАКС, як інтегруючому середовищі організму. Це вказує на порушення її ліпідного складу внаслідок тривалої передуючої активації системи ВРПОЛ та дефіциту легкоокислюваних фракцій ліпідів. Крім цього, виявлено порушення активності системи ВРПОЛ у гомогенатах тканини печінки та міокарда кролів з експериментальною травмою колінного суглобу, які у сукупності засвідчили, відповідно, наявність значного структурного пошкодження тканини печінки та незначної активації системи ВРПОЛ у тканині міокарду.
5. При застосуванні у кролів інтрасуглобового введення препаратів Гіагуаль-артро та монопрепарату 1% гіалуронової кислоти для профілактики розвитку та лікування ЕПОАКС за показниками, що характеризують активність

системи ВРПОЛ, виявлена різна їхня ефективність як за вказаним призначенням, так і в окремих біологічних субстратах, які досліджувалися (плазма крові, тканина печінки та міокарду).

6. Зокрема, **при профілактичному застосуванні** вказаних препаратів у кролів на ранньому етапі формування ЕПОАКС визначалися:
 - часткова нормалізація активності системи ВРПОЛ у плазмі крові з певною, більшою ефективністю комбінації гіалуронату та сукцинату;
 - значна нормалізація пригніченого стану системи ВРПОЛ у тканині печінки, як ознаки структурно-функціонального ураження мембран гепатоцитів, препаратом Гіагуаль-артро, тоді як 1% гіалуронова кислота у монопрепараті значно поглиблювала вираженість виявлених порушень, вірогідно, внаслідок додаткового метаболічного навантаження на цей орган;
 - незначний вплив препарату Гіагуаль-артро на мало змінену активність системи ВРПОЛ у тканині міокарда, що супроводжувалося ознаками можливої стимуляції метаболічних процесів;
 - структурно-функціональні порушення у кардіоміоцитах під впливом 1% гіалуронової кислоти у монопрепараті.
7. При застосуванні вказаних препаратів у кролів **для лікування ЕПОАКС**, що сформувався, виявлені:
 - - значно виражений надлишковий антиоксидантний ефект препарату Гіагуаль-артро та не виражений аналогічний ефект препарату 1% гіалуронової кислоти у плазмі крові;
 - відсутність суттєвого впливу монопрепарату 1% гіалуронової кислоти на вираженість структурно-функціонального пошкодження тканини печінки та, навпаки, попередження цих порушень препаратом Гіагуаль-артро;
 - маніфестація порушень структурно-функціонального стану мембран кардіоміоцитів монопрепаратом 1% гіалуронової кислоти.
8. Гіагуаль-артро викликає прискорення репаративних процесів та зменшує запально-деструктивні зміни у хрящовій та кістковій тканині суглобів в експерименті, що засвідчили основні показники метаболізму кістково-хрящової тканини: глікопротеїни, білкові фракції, хондроїтину сульфат, фракції глікозаміногліканів, лужна фосфатаза та електролітний склад.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Н.Н. Экспериментальные и клинические аспекты применения мексидола при гипоксии / Н.Н. Андреева // Медицинский альманах. – 2009. – № 4. – С. 193–197.
2. Артроз з позиції теорії причинності/ Б. Сіменач, О.. Бабуркіна, П. Снісаренко, Б. Пустовойт // Ортопедия, травматология и протезирование .-Харьков, 2003. -N2. - С. 135-141
3. Астапенко М. Г. Итоги длительного изучения механизма дегенерации суставного хряща при первичном деформирующем остеоартрозе / М.Г. Астапенко, Т.Н. Копьева, Н.М. Фильчагин [и др.] // Терапевт. архив. – 1982. – № 6. – С. 115.
4. Барабой В.А., Орел В.Э. Спонтанная хемилюминесценция сыворотки крови в норме и при воздействии ионизирующей радиации//Биохемилюминесценция. - М.: Наука, 1983. - С.222-241.
5. Білозерська-Сміян С.І. Перекисне окислення ліпідів як можливий механізм пошкодження лімфоцитів крові у хворих на первинний остеоартроз. // Укр. кардіол. журнал. – 1995. - №5. – с.47-49.
6. Бур'янов О.А., Бруско А.Т., Соболевський Ю.Л. та ін. Морфологічна оцінка профілактики та лікування післятравматичного остеоартрозу при застосуванні тіотриазоліну в експерименті // Ортопед., травматол. и протезир. – 2009. – № 1. – С. 30-37.
7. Бур'янов О.А., Чекман І.С., Омельченко Т.М. та ін. Структурно-функціональні порушення при експериментальному остеоартрозі та напрямки їх корекції// Ортопедия травматология и протезирование. – 2007. - №4. –С.56-62
8. Виноградова Е.В. Механизмы деструкции и регенерации хряща коленного сустава при остеоартрозе // Ортопедия, травматология и протезирование. - 2000. - № 2. - С. 97.
9. Гайко Г.В. Остеоартроз – медико-соціальна проблема та шляхи її вирішення // Вісн. ортопед., травматол. та протезув. — 2003. - № 4. — С. 5—8.
10. Героева И. Б., Цыкунов М. Б. Консервативное лечение остеоартроза крупных суставов // Вестник травматологии и ортопедии.- № 3.- 1994.- С. 51-55.
11. Герцен Г.І. Деформівний артроз великих суглобів // Український медичний часопис: Наук.- практ. загальномедичний журн./ КМАПО ім. П.Л. Шупика МОЗ України.-Київ, 2003. -N5. - С. 55-60.
12. Грабовська О.А. Порівняльний аналіз віддалених наслідків лікування хворих на артроз при використанні різноманітних лікувальних засобів // Одеський медичний журнал.-Одеса, 2003. -N4. - С. 94-96

13. Дедух Н.В. Экспериментальное моделирование артроза, осложненного синовитом // Украинський медичний альманах.-Луганськ, 2003. -№2. - С. 61-65
14. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М., Медицина, 2005. – 543 с.
15. Коваленко В.Н., Борткевич О.П. Остеоартроз. Практическое руководство. – К.: Морион, 2003. – 448с.
16. Корж А.А. Артроз: классификация, эпидемиология клиника, диагностика и лечение // Международный медицинский журнал: Науч.- практ. журн./ Ин-т проблем криобиологии и криомедицины АМН Украины, Харьк. науч. мед. о-во.-Х, 2002. -Том8 №1/2. - С. 127-133
17. Корж М. О. Остеоартроз. Консервативная терапия / М.О. Корж, Н.В. Дедух, И. А. Зупанец – Х.: Золотые страницы, 2007. – 424 с.
18. Корнилов Н.В., Афиногенов Г.Е., Анисимова О.О., Редько К.Г. Морфологическое исследование хряща с использованием новых программных средств на примере экспериментального артроза у кроликов. // Травматология и ортопедия России. – 1996. - №1. – с.42-46.
19. Корпан М.І., Шуфрид О., Бур'янов О.А., та ін. Роль ліпопероксидації у патогенезі експериментального після травма-тичного остеоартрозу// Ортопедия травматология и протезирование. - 2006, -№4. – С. 89-91
20. Методические рекомендации по экспериментальному исследованию и клиническому изучению противоартрозных (хондромодулирующих) лекарственных средств / Под ред. д-ра мед. наук, проф. П.И. Середы. – К., 1999. – 56 с.
21. Морозенко Д.В. Біохімічні показники метаболізму сполучної тканини у діагностиці захворювань дрібних домашніх тварин: монографія / Д.В. Морозенко. – Харків, 2011. – 120 с.
22. Мшанецький С.Б. Динаміка параметрів перекисного окислення ліпідів у хворих деформуючим поліостеоартрозом ьпід впливом локального магнітнолазерного опромінення. // Укр. наук. мед. молодіж. журн. – 1995. - №1-2. – с.8-10.
23. Насонова В. А. Медико-социальные проблемы хронических заболеваний суставов и позвоночника / В.А. Насонова, О.М. Фломеева // Терапевт. арх. – 2000. – № 5. – С. 5–8.
24. Остеоартроз: генезис, діагностика, лікування /під РЕД. О.А.Бур'янов, Т.М. Омельченко). - К.: Ленвіт, 2009. 208 с.
25. Стежка В.А. Спосіб визначення активності вільнорадикального перекисного окислення ліпідів у біологічних субстратах//Патент України на корисну модель №14624. - Бюл.№5, 2006.
26. Стежка В.А. Функциональное состояние системы свободнорадикального окисления как патогенетически обоснованный критерий гигиенической

оценки воздействия на организм факторов производственной и окружающей среды// Довкілля та здоров'я, 1999. -№1. – С.2-9

27. Фармакотерапевтическая активность натрия сукцината, энергостима и мексидола. Применение в парадонтологии / В.Л. Попков, В.К. Леонтьев, П.А. Галенко-Ярошевский // Парадонтология. – 2009. – № 2. – С. 39–45.
28. Цурко В.В. Строение и функции суставного хряща. Роль цитокинов в патогенезе остеоартроза // Клиническая геронтология. – 2001. -Т.7. – 159 с.
29. Яременко О.Б., Корниенко Е.Б., Тер-Вартаньян С.Х. Опыт применения имплантата синовиальной жидкости Гиалуаль АРТРО в лечении больных с гонартрозом//Укр. ревмат. Журн.
30. Buckwalter J. A. Articular cartilage and osteoarthritis / J.A. Buckwalter, H.J. Mankin, A.J. Grodzinsky // Instr. Course Lect. – 2005. – Vol. 54. – P. 465–480.
31. Cook S.D., Patron L.P., Christakis P.M. et al. Direct current stimulation of titanium interbody fusion devices in primates // Spine J. – 2004. – № 4 (3). – P. 300-311.
32. Frenkel S.R., Bradica G., Brekke J.H. et al. Regeneration of articular cartilage an evaluation osteochondral defect repair in the rabbit using multiphasic implants // Osteoarthritis Cartilage. – 2005. – Vol. 13. – P. 798-807.
33. Mainil-Varlet P., Aigner T., Brittberg M. et al. Histological assessment of cartilage repair. A report the histology endpoint committee of the International Cartilage Repair Society (ICRS) // J. Bone Jt Surg. – 2003. – Vol. 85-A, № 1. – P. 45-57.
34. Munirah S., Samsudin O.S., Chen et al. Articular cartilage restoration in load-bearing osteochondral defects by implantation of autologous chondrocyte-fibrin constructs. Exspermental study in sheep // J. Bone Jt Surg. – 2007. – Vol. 89-B, № 8. – P. 1099-1109
35. O'Driscoll S. W., Keeley F.W., Salter R.B. Durability regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joints surfaces the influence of continuous passive motion: a follow-up report at one year // J. Bone Jt Surg. – 1988. – Vol. 70-A, № 8. – P. 595-606.
36. Yoshioka M., Couttis R.D., Amill D. et al. Characterization of a model of osteoarthritis in the rabbit knee // Osteoartr. Cartilage. – 1966. – № 4. – P. 87-98.