

УДК 59

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХОНДРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ВОДОРАСТВОРИМЫХ АНТИОКСИДАНТОВ МЕКСИДОЛ И ТС-13

**Попова О.А., Сахаров А.В., Макеев А.А., Просенко А.Е., Кандалинцева Н.В.**

*ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет»,  
Новосибирск, e-mail: oksanochkapopova@mail.ru*

На модели повреждения суставного хряща методами биохимии и морфологии были исследованы антиоксидантная активность и хондропротекторные свойства препаратов «Мексидол» и нового синтетического антиоксиданта ТС-13 в сравнительном аспекте. Установлено, что активность свободнорадикального перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты в организме крыс обеих групп не имеют достоверных различий. Вместе с тем исследование в проходящем свете образцов суставного хряща дистального эпифиза бедренной кости у животных данных групп доказывает преобладание хондропротекторного эффекта антиоксиданта ТС-13 по сравнению с мексидолом. Особенностью посттравматической регенерации хрящевой ткани сустава при использовании антиоксиданта ТС-13 является формирование полноценного органотипического регенерата. Полученные результаты доказывают перспективность использования ТС-13 совместно с базисными препаратами при лечении патологий, связанных с деструктивными изменениями суставного хряща.

**Ключевые слова:** активные кислородные метаболиты, суставной хрящ, антиоксидант мексидол, антиоксидант ТС-13.

## THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF CHONDROPROTECTIVE PROPERTIES OF WATER-SOLUBLE ANTIOXIDANTES MEXIDOL AND TC-13

**Popova O.A., Sakharov A.V., Makeyev A.A., Prosenko A.E., Kandalintseva N.V.**

*Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, e-mail: oksanochkapopova@mail.ru*

The antioxidant activity and chondroprotective properties of drugs meksidol and new synthetic antioxidant TC-13 were investigated in a comparative perspective on the model of the articular cartilage damage by the methods of biochemistry and morphology. The investigations have established that the activity of lipid peroxidation and the antioxidant system in both groups of rats have not significant differences. However, the research of specimens of articular cartilage of the distal epiphysis of the femur in animals of these groups in transmitted light proves the effect of the predominance of chondroprotective antioxidant TC-13 over mexidol. Peculiarity of post-traumatic regeneration of tissue of articular cartilage with the use of the antioxidant TC-13 is the formation of a full-fledged organotypic regenerate. The results indicate the prospects of using the TC-13 with basic drugs for the treatment of pathologies associated with destructive changes of the articular cartilage.

**Keywords:** reactive oxygen metabolites, articular cartilage, antioxidant mexidol, antioxidant TS-13.

Управление посттравматической регенерацией гиалинового хряща коленного сустава остается одной из приоритетных задач современной травматологии [4; 8]. Низкая эффективность лечения повреждений суставного хряща во многом связаны с недостаточно изученными механизмами патогенеза повреждения гиалиновой хрящевой ткани сустава. Одним из важных и наименее изученных механизмов деструктивных изменений хрящевой ткани является свободнорадикальный. По мнению В.Ю. Куликова, активные кислородные метаболиты (АКМ) *подавляют биосинтез и* пролиферативную активность хондрогенных клеток, а также способны к повреждению всех макромолекулярных компонентов соединительной ткани [1; 3; 5]. *Отсутствие в существующих протоколах и схемах лечения травматических повреждений суставного хряща элементов антиоксидантной терапии* явилось основанием для оценки эффективности управления посттравматической регенерацией суставного хряща с использо-

ванием водорастворимых антиоксидантных соединений в эксперименте на лабораторных животных.

Среди группы фармакопейных водорастворимых антиоксидантов мексидол относится к гетероароматическим антиоксидантам – аналогам соединений группы витамина В (6) и является одним из наиболее действенных препаратов. Несмотря на его широкое применение в медицине как высокоэффективного средства антиоксидантной защиты при повреждении структурных элементов нервной и сердечно-сосудистой систем, использование мексидола в качестве хондропротектора при травматическом повреждении суставного хряща никем не проводилось. В числе новых водорастворимых антиоксидантных соединений, синтезированных в Новосибирском НИИ антиоксидантов, ТС-13 по своей специфической активности мог бы конкурировать с мексидолом. Это обстоятельство явилось основанием для изучения дифференциальной антиоксидантной активности и хондропротектор-

текторных характеристик указанных антиоксидантов в сравнительном аспекте.

**Цель исследования** – оценить хондропротекторные свойства антиоксидантов мексидол и ТС-13 при травматическом повреждении суставного хряща в сравнительном аспекте.

### Материалы и методы исследования

Исследования проводили на девятимесячных крысах линии Wistar ( $n = 30$ ). Всем животным под эфирным наркозом производили оперативное вмешательство в области суставной поверхности дистального эпифиза бедренной кости. В межмышечковой ямке специально изготовленным инструментом производили удаление гиалинового хряща до переходной зоны. Определение глубины травмы основывалось на известных представлениях о возможности формирования органотипического регенерата гиалинового хряща при его повреждении до данного уровня. В послеоперационном периоде всем животным внутримышечно вводили антибиотик линкомицин в дозе 5 мг один раз в сутки в течение двух недель.

Методом случайной выборки из всех оперированных крыс было создано три группы экспериментальных животных – основная и две группы сравнения по 10 животных в каждой. У крыс основной группы ( $n = 10$ ) производили дефект суставного хряща и в послеоперационном периоде не использовали антиоксиданты. Крысам первой группы сравнения ежедневно внутривенно вводили 1 мл водного раствора антиоксиданта мексидол (50 мг/кг), второй – 1 мл водного раствора ТС-13 (50 мг/кг). Крысам основной группы вместо антиоксидантов аналогично вводили 1 мл дистиллированной воды. Интактные животные ( $n = 10$ ) содержались в стандартных условиях вивария и специальных манипуляций с ними не проводилось.

У животных всех групп через двадцать суток эксперимента под эфирным наркозом забирали кровь из нижней полой вены для изучения состояния процессов липопероксидации и функциональной активности системы антиоксидантной защиты (АОЗ). Уровень процессов свободнорадикального перекисного окисления липидов (СПОЛ) определяли по содержанию в плазме малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК). Функциональное состояние системы АОЗ оценивали по показателям активности каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД) в плазме крови крыс. МДА определяли в плазме крови в реакции с трихлоруксусной и 2-тиобарбитуровой кислотами. ДК выявляли в реакции с гептан-изопропаноловой смесью. Активность КАТ изучали в реакции перекиси водорода с добавлением молибдата аммония [7]. Активность СОД регистрировали по степени ингибирования хемилюминесценции раствора ксантина, лицигена и ксантиноксидазы сывороткой крови [10].

Для оценки хондропротекторных свойств у крыс всех групп в течение 10 мин после эктаназии выпиливали эпифизы бедренной кости с дефектом суставного хряща и помещали для фиксации в 10% -й раствор нейтрального формалина. Образцы декальцинировали в забуференном растворе ЭДТА и проводили по стандартной методике [7]. Для изучения общей морфологической картины обзорные препараты окрашивали гематоксилином Бёмера и эозином. Распределение суммарных кислых гликозаминогликанов (сГАГ) и коллагена в межклеточном веществе регенерата

определяли по Сиддену и Маллори соответственно [9]. Поскольку травма представляла собой прямолинейный дефект, расположенный параллельно поверхности межмышечковой ямки, гистологические срезы сустава готовили во фронтальной плоскости.

Статистическую обработку данных проводили с использованием  $t$ -критерия Стьюдента и считали достоверной при значении  $p \leq 0,05$  и  $p \leq 0,01$ .

### Результаты исследований и их обсуждение

Результаты биохимического анализа плазмы крови крыс показали, что при травме суставного хряща в организме крыс основной группы регистрируется статистически достоверное превышение первичных (ДК) и вторичных (МДА) продуктов СПОЛ на 36,5 и 31,3% соответственно по сравнению с интактными животными. При этом уровни СОД и КАТ в образцах крыс основной группы снижались по сравнению с образцами интактных крыс на 25,4 и 36,8% соответственно (рис. 1). Данные результаты свидетельствуют о повышении процессов липопероксидации в организме при травме и депрессии ферментативного звена системы АОЗ. В соответствии с классическими постулатами свободнорадикальной биологии данное состояние характеризуется как окислительный стресс.

Полученные результаты согласуются с данными Е.Б. Меньшиковой (2008) о развитии окислительного стресса при травме тканей различных органов и были использованы для оценки специфической активности нового антиоксидантного соединения ТС-13 в сравнении с фармакопейным водорастворимым антиоксидантом мексидол. Результаты исследования показали, что мексидол и ТС-13 достоверно снижают показатели окислительного стресса по сравнению с аналогичными показателями крыс основной группы (таблица).

При сравнении специфической активности между мексидолом и ТС-13 достоверных отличий не обнаружено. Отсутствие различий в антиоксидантной активности между мексидолом и ТС-13 на организменном уровне, но принадлежность их к различным классам по химической структуре определили необходимость изучения особенностей их антирадикальной активности на тканевом уровне при повреждении суставного хряща.

Влияние мексидола на особенности ответной реакции гиалинового хряща наиболее показательно демонстрируются не на обзорных препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, а при постановке реакции на основные компоненты межклеточного вещества. Участок дефекта суставного хряща достаточно хорошо определяется по опилу в области медиального мышечка (рис. 2 А, Б).

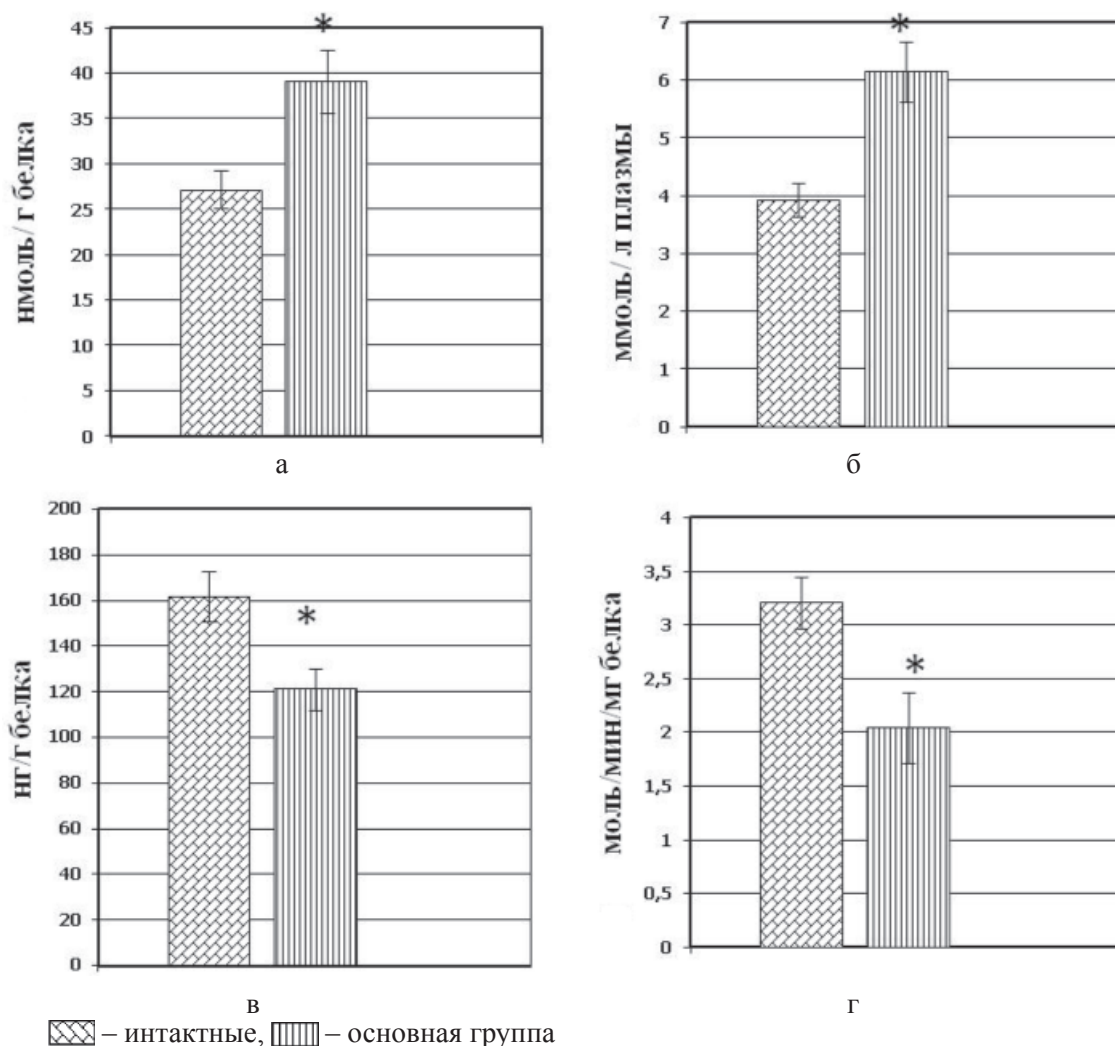


Рис. 1. Содержание продуктов свободнорадикального перекисного окисления и активность ферментов антиоксидантной защиты в плазме крови крыс:  
 а – содержание МДА; б – содержание ДК; в – активность СОД; г – активность КАТ.  
 Примечание. Достоверные различия по сравнению с показателями интактной группы (\*  $p \leq 0,05$ )

Характеристика интегральных показателей окислительного стресса в плазме крови крыс основной группы и групп сравнения

Группа	Показатели окислительного стресса			
	ДК, моль/л плазмы	МДА, нмоль/г белка	СОД, нг/г белка	Каталаза, моль/мин/мг белка
Контроль	6,14 ± 0,52	39,08 ± 3,41	121,04 ± 9,08	2,04 ± 0,33
Мексидол	4,34 ± 0,11*	29,08 ± 1,05*	159,34 ± 11,02*	2,92 ± 0,09*
ТС-13	4,08 ± 0,39**	29,43 ± 2,04*	167,08 ± 15,2*	3,01 ± 0,02*

Примечание. Статистически достоверные различия между показателями окислительного стресса основной группы и групп сравнения (\*  $p \leq 0,05$ , \*\*  $p \leq 0,01$ ).

В области латерального мышечка граница опила не имеет четких контуров. Локальная оссификация межклеточного вещества медиального мышечка при постановке гистохимических реакций на коллаген по Маллори в нехарактерной для этого процесса переходной и базальной зонах хряща свидетельствует

о том, что пролиферация хондроцитов и синтез данными клетками компонентов межклеточного вещества являются несовершенными (рис. 2, А). Важно отметить, что по краю раны матрикс хрящевой ткани латерального мышечка не имеет явных признаков деструктивных изменений, о чем свидетельствует

четкий контур границы дефекта (рис. 2, В). На незначительном удалении от торца опилен регенерация суставного хряща осуществляется за счет деления клеток изогенных групп. Низкий уровень пролиферативной активности клеток изогенных групп, а также незначительное изменение тинкториальных свойств

матрикса хрящевой ткани, которое особенно хорошо идентифицируется при постановке реакции на коллаген по Маллори, свидетельствуют о менее выраженном повреждении латерального компартмента суставной поверхности бедренной кости по сравнению с медиальным.

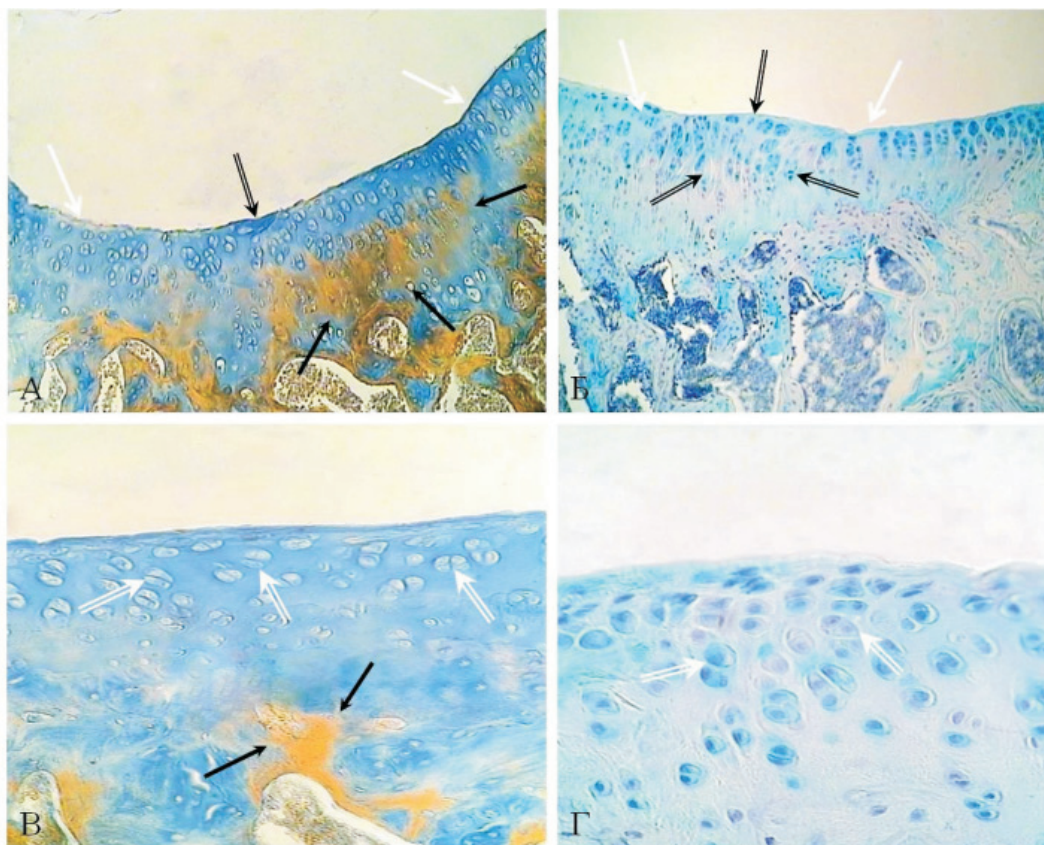


Рис. 2. Особенности регенерации гиалинового хряща дистального эпифиза бедренной кости крыс первой группы сравнения:

А – суставной хрящ дистального эпифиза. Окраска по Маллори. Ув.  $\times 100$ ; Б – окраска альциановым синим. Ув.  $\times 100$ ; В – область регенерации суставного хряща латерального мыщелка. Окраска по Маллори. Ув.  $\times 200$ ; Г – регенерат гиалинового хряща межмыщелковой ямки. Окраска альциановым синим. Ув.  $\times 200$ . Темной стрелкой показана оссификация межклеточного вещества; двойной темной – область регенерата; светлой стрелкой – торцы опилов хрящевого дефекта; двойной светлой – изогенные группы

Между опилами достаточно хорошо определяется область сформированного регенерата, приходящаяся на суставной хрящ межмыщелковой ямки, которая по данным литературного анализа испытывает равномерную нагрузку по сравнению с латеральным и медиальным мыщелками (рис. 2 Б, Г) [2]. Закономерностью для регенерата в этой области является полное восстановление структуры удаленной ткани (рис. 2, Г). Отличие от типичного суставного хряща заключается лишь в изменении морфологии клеток всех зон. Их характерными признаками являются крупные размеры. В плоскости среза преимущественное большинство

клеток имеют круглую или овальную форму и интенсивно-базофильную цитоплазму. Высокий уровень содержания сГАГ и коллагена в межтерриториальном матриксе свидетельствуют об их высокой функциональной активности.

При исследовании гистологических препаратов дистальных эпифизов бедренной кости животных второй группы сравнения установлено, что область дефекта представлена органотипическим регенератом – гиалиновым хрящом (рис. 3 А, Б). На малом увеличении о наличии повреждения хрящевой ткани специальным хирургическим инструментом свидетельствуют лишь

узуры на поверхности суставного хряща (рис. 3, В, Г). В отличие от препаратов крыс 1-й группы сравнения, получавших мексидол, в аналогичных образцах животных 2-й группы сравнения границы опилов на латеральном и медиальном мыщелке не имеют признаков увеличения объема хрящевой ткани. На препаратах заметно, что поверхность опилов формирующийся регенерат покрывает бесклеточная пластинка, которая имеет неровные контуры. Непосредственно под ней идентифицируются многочисленные клетки поверхностной

зоны (рис. 3, В, Г). При детальном изучении области регенерата латерального и медиального мыщелков обнаруживается, что зональное строение гиалинового хряща обеих локализаций в целом не имеют морфологических различий (рис. 2, В, Г). Лишь наличие единичных фокальных участков с расширенной зоной изогенных групп в структуре суставного хряща медиального мыщелка свидетельствует о наличии признаков его преимущественного повреждения по сравнению с латеральным.

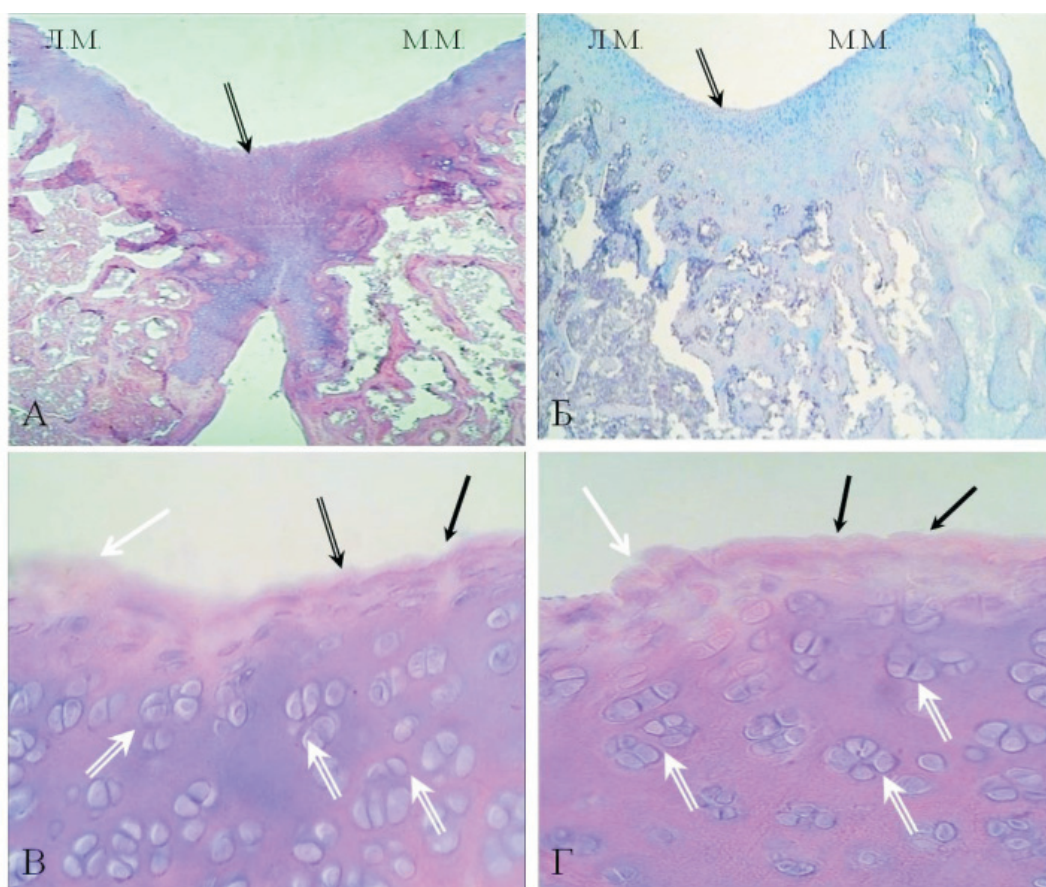


Рис. 3. Особенности регенерации гиалинового хряща дистального эпифиза бедренной кости крыс второй группы сравнения:

А – суставной хрящ дистального эпифиза бедренной кости. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 100$ ; Б – окраска альциановым синим. Ув.  $\times 100$ ; В – граница опилов хрящевого дефекта на латеральном мыщелке. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 400$ ; Г – граница опилов хрящевого дефекта на медиальном мыщелке. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.  $\times 400$ .

Темной стрелкой показаны узуры; двойной темной – область регенерата; светлой стрелкой – торцы опилов хрящевого дефекта; двойной светлой – изогенные группы.

Л.М. – латеральный мыщелок; М.М. – медиальный мыщелок

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют заключить, что водорастворимые антиоксиданты мексидол и ТС-13 не имеют достоверных различий в отношении снижения процессов сводно-радикального перекисного окисления липидов на организменном уровне. Однако

гистологический анализ образцов хрящевой ткани дистального эпифиза бедренной кости крыс обеих групп выявил преобладание хондропротекторных свойств ТС-13 по сравнению с мексидолом. Доказательством чему является сохранение высокой функциональной активности клеток хондрогенного

дифферона и завершение посттравматической регенерации суставного хряща у крыс 2-й группы сравнения реституцией. Данные результаты имеют важное значение при решении проблемы поиска новых эффективных препаратов для защиты клеток и межклеточного вещества хрящевой ткани от повреждающего воздействия АКМ.

### Список литературы

1. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Сорос. образоват. журн. – 2000. – № 12. – С. 13–19.
2. Заирный И.М. Биомеханика коленного сустава с точки зрения имплантации эндопротеза. – Электронный ресурс, 2004. URL: <http://www.orthopedica.org/page4b.htm> (дата обращения: 10.04.2013).
3. Куликов Ю.В. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани (обзор) // Медицина и образование в Сибири. – 2009. – № 4; URL: [http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text\\_full.php?id=363](http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=363) (дата обращения: 25.06.2013).
4. Лаврищева Г.И., Оноприенко Г.А. Морфологические и клинические аспекты репаративной регенерации опорных органов и тканей. – М.: Медицина, 1996. – 208 с.
5. Лушак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма // Биохимия. – 2007. – Т. 72, Вып. 8. – С. 995–1017.
6. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин и др. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
7. Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой: метод. указания. – М.: Федеральный центр Россанэпиднадзора Минздрава России, 2003. – 56 с.
8. Сахаров А.В. Биотехнологические подходы к восстановлению дефектов хрящевой ткани // Интеллект 2008: материалы Всерос. науч. конф. – Красноярск, 2008. – С. 79–83.
9. Семченко В.В., Барашкова С.А., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учеб. пособие. – Омск, 2006. – 152 с.
10. Laihia J.K. Lucigenin and linoleate enhanced chemiluminescent assay for superoxide dismutase activity // Free Radic. Boil. Med. – 1993. – Vol. 14. – P. 457–461.

### References

1. Vladimirov Ju.A. Svobodnye radikaly v biologicheskikh sistemah // Soros. obrazovat. zhurn. 2000. no. 12. pp. 13–19.

2. Zazirnyj I.M. Biomehanika kolennogo sustava s tochki zrenija implantacii jendoproteza. Jelektronnyj resurs, 2004. URL: <http://www.orthopedica.org/page4b.htm> (data obrashhenija: 10.04.2013).

3. Kulikov Ju.V. Rol' okislitel'nogo stressa v reguljacii metabolicheskoj aktivnosti vnekletocnogo matriksa soedinitel'noj tkani (obzor) // Medicina i obrazovanie v Sibiri. 2009. no. 4; URL: [http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text\\_full.php?id=363](http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=363) (data obrashhenija: 25.06.2013).

4. Lavrishheva G.I., Onoprienko G.A. Morfologicheskie i klinicheskie aspekty reparativnoj regeneracii opornyh organov i tkanej. M.: «Medicina», 1996. 208 p.

5. Lushhak V.I. Svobodnoradikal'noe okislenie belkov i ego svjaz' s funkcional'nym sostojaniem organizma // Biohimiya. 2007. T. 72, vyp. 8. pp. 995–1017.

6. Men'shnikova E.B. Okislitel'nyj stress: patologicheskie sostojanija i zabolevanija / E.B. Men'shnikova, N.K. Zenkov, V.Z. Lankin i dr. Novosibirsk: ARTA, 2008. 284 p.

7. Opredelenie himicheskikh jelementov v biologicheskikh sredah i preparatah metodami atomno-jemissionnoj spektrometrii s induktivno svjazannoj plazmoj: metod. ukazanija. M.: Federal'nyj centr Rossanjepidnadzora Minzdrava Rossii, 2003. 56 p.

8. Saharov A.V. Biotehnologicheskie podhody k vosstanovleniju defektov hrjashhevoj tkani / Materialy Vseros. nauch. konf. «Intellect 2008». Krasnojarsk, 2008. pp. 79–83.

9. Semchenko V.V., Barashkova S.A., Artem'ev V.N. Gistologicheskaja tehnik: ucheb. posobie. Omsk, 2006. 152 p.

10. Laihia J.K. Lucigenin and linoleate enhanced chemiluminescent assay for superoxide dismutase activity // Free Radic. Boil. Med., 1993. Vol. 14. pp. 457–461.

### Рецензенты:

Афанасьев С.А., д.м.н., профессор, зав. лабораторией молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, ФГБУ «Научно-исследовательский институт кардиологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Томск;

Ефремов А.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой патофизиологии, ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 01.08.2013.