



© М.А. Кабалык, В.А. Невзорова, М.А. Цыганков, В.С. Дубов, 2019

УДК 616.72-002-092.9-085.275.3

DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(3).67-72

ВЛИЯНИЕ ХОНДРОИТИНА СУЛЬФАТА НАТРИЯ И БЕТАМЕТАЗОНА НА РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ СУСТАВНОГО ХРЯЩА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОАРТРИТЕ

КАБАЛЫК МАКСИМ АЛЕКСАНДРОВИЧ, канд. мед. наук, доцент института терапии и инструментальной диагностики ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 690002, Владивосток, пр. Острякова, 2, тел. 8(964)439-79-27, e-mail: maxi_maxim@mail.ru

НЕВЗОРОВА ВЕРА АФАНАСЬЕВНА, докт. мед. наук, профессор, директор института терапии и инструментальной диагностики ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 690002, Владивосток, пр. Острякова, 2, тел. 8(914)790-48-52, e-mail: nevzorova@inbox.ru

ЦЫГАНКОВ МИХАИЛ АЛЕКСАНДРОВИЧ, студент VI курса по специальности «лечебное дело» ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 690002, Владивосток, пр. Острякова, 2

ДУБОВ ВИТАЛИЙ СЕРГЕЕВИЧ, студент VI курса по специальности «лечебное дело» ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Россия, 690002, Владивосток, пр. Острякова, 2

Реферат. Цель исследования – на животной модели остеоартрита оценить влияние внутрисуставного введения хондроитина сульфата на экспрессию матриксной металлопротеиназы-9 и фактора роста эндотелия сосудов.

Материал и методы. Исследование было проведено на 18 беспородных морских свинках. В контрольной и опытных группах моделировали повреждение коленных суставов задних лап механическим путем через нанесение закрытой скарификационной травмы стерильной иглой. В контрольной группе животным внутрь пораженных суставов вводили физиологический раствор натрия хлорида. Животным экспериментальных групп вводили внутрисуставно хондроитина сульфат натрия и бетаметазон. Через 4, 6 и 8 нед производили забор образцов суставов особей. Для выявления тканевой экспрессии фактора роста эндотелия сосудов и матриксной металлопротеиназы-9 применяли иммуногистохимический метод с пероксидазной реакцией. После осуществления исследования была проведена оценка препаратов, количественную оценку иммуногистохимической реакции определяли по значению тканевой экспрессии. **Результаты и их обсуждение.** Анализ тканевой экспрессии сосудистого фактора роста эндотелия (VEGF) и матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9) поврежденных суставов показал что на 30-е сут эксперимента у животных, получавших бетаметазон, отмечалось статистически значимое снижение тканевой экспрессии VEGF, увеличение экспрессии MMP-9 относительно контроля. В группе животных, получавших хондроитина сульфат внутрисуставно, отмечались достоверно более высокие показатели концентрации MMP-9 в суставном хряще по сравнению с контролем. На 45-й день эксперимента в группе, получавшей бетаметазон, отмечалось статистически значимое снижение по сравнению с группой контроля иммуногистохимической реакции суставного хряща на VEGF, увеличение концентрации MMP-9. На 60-й день интраартикулярного введения бетаметазона отмечалось статистически значимо более низкая тканевая экспрессия VEGF относительно контрольной группы и значимо более высокая экспрессия MMP-9. В группе животных, получавших хондроитина сульфат, зафиксированы достоверно более низкие показатели экспрессии VEGF и MMP-9 относительно контроля. Результаты проведенного исследования показали, что внутрисуставное введение хондроитина сульфата у животных с экспериментальным остеоартритом блокирует активацию ангиогенного фактора VEGF в суставном хряще на протяжении всего эксперимента. **Выводы.** На животной модели остеоартрита установлено, что внутрисуставные инъекции хондроитина сульфата приводят к ингибированию экспрессии эндотелиального фактора роста сосудов и матриксной металлопротеиназы-9, что демонстрирует хондропротективный потенциал.

Ключевые слова: остеоартрит, хондроитина сульфат, бетаметазон, металлопротеиназа, фактор роста.

Для ссылки: Влияние хондроитина сульфата натрия и бетаметазона на ремоделирование суставного хряща при экспериментальном остеоартрите / М.А. Кабалык, В.А. Невзорова, М.А. Цыганков, В.С. Дубов // Вестник современной клинической медицины. – 2019. – Т. 12, вып. 3. – С. 67–72. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(3).67-72.

THE EFFECT OF SODIUM CHONDROITIN SULFATE AND BETAMETHASONE ON ARTICULAR CARTILAGE REMODELING IN EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS

KABALYK MAXIM A., C. Med. Sci., associate professor of Institute of internal medicine and instrumental diagnostics of Pacific State Medical University, Russia, 690002, Vladivostok, Ostryakov ave., 2, tel. 8(964)439-79-27, e-mail: maxi_maxim@mail.ru

NEVZOROVA VERA A., D. Med. Sci., professor, the Head of the Institute of internal medicine and instrumental diagnostics of Pacific State Medical University, Russia, 690002, Vladivostok, Ostryakov ave., 2, tel. 8(914)790-48-52, e-mail: nevzorova@inbox.ru

TSYGANKOV MIKHAIL A., VI year student, general medicine specialty, Pacific State Medical University, Russia, 690002, Vladivostok, Ostryakov ave., 2

DUBOV VITALY S., VI year student, general medicine specialty, Pacific State Medical University, Russia, 690002, Vladivostok, Ostryakov ave., 2

Abstract. Aim. The aim of the study was to evaluate the effect of intra-articular chondroitin sulfate injection on the expression of matrix metalloproteinase-9 and vascular endothelial growth factor in osteoarthritis animal model. **Material and methods.** The study was conducted on 18 outbred guinea pigs. In control and experimental groups, the knee joints of the hind legs were mechanically modeled by closed scarification injury application with a sterile needle. In the control group, physiological saline sodium chloride was injected into the affected joints. The animals in the experimental groups were administered intra-articular sodium chondroitin sulfate and betamethasone. The samples of the joints were taken after 4, 6 and 8 weeks. Immunohistochemical method with peroxidase reaction was used to identify tissue expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9. Upon completion of the study specimen evaluation was carried out. Immunohistochemical reaction quantitative evaluation was determined by the value of tissue expression. **Results and discussion.** Evaluation of tissue expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in damaged joints showed that on the 30th day of the experiment, animals receiving betamethasone showed a statistically significant decrease in VEGF tissue expression and an increase in MMP-9 expression comparing to control. Significantly higher MMP-9 concentrations in articular cartilage compared to the control were seen in the group of animals that received intra-articular chondroitin sulphate. On the 45th day of the experiment there was a statistically significant decrease in immunohistochemical reaction of articular cartilage on VEGF and an increase in MMP-9 concentration in the group that received betamethasone. On the 60th day of betamethasone intra-articular administration, significantly lower VEGF tissue expression and significantly higher MMP-9 expression comparing to the control group was observed. In the group of animals that received chondroitin sulfate, significantly lower levels of VEGF and MMP-9 expression comparing to the control were recorded. The results of the study showed that intraarticular chondroitin sulfate injection in animals with experimental osteoarthritis blocks VEGF angiogenic factor activation in articular cartilage throughout the experiment. **Conclusion.** In animal osteoarthritis model it was revealed that intraarticular chondroitin sulfate injections lead to vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase 9 expression inhibitions, which indicates the chondroprotective potential.

Key words: osteoarthritis, chondroitin sulfate, betamethasone, metalloproteinase, growth factor.

For reference: Kabalyk MA, Nevzorova VA, Tsygankov MA, Dubov VS. The effect of sodium chondroitin sulfate and betamethasone on articular cartilage remodeling in experimental osteoarthritis. The Bulletin of Contemporary Clinical Medicine. 2019; 12 (3): 67-72. DOI: 10.20969/VSKM.2019.12(3) 67-72.

Остеоартрит (ОА) является гетерогенным заболеванием крупных синовиальных суставов, развитие и прогрессирование которого приводит к значительному снижению качества жизни, необходимости тотального эндопротезирования. Остеоартрит обуславливает серьезные экономические проблемы в здравоохранении и социальной сфере в большинстве стран за счет высоких затрат, связанных с протезированием, длительной реабилитацией и необходимостью социальной поддержки инвалидов.

Исследования последних лет выявили неоднородность когорты больных ОА. В частности установлено, что гетерогенность этого заболевания проявляется в широком фенотипическом разнообразии, которое реализуется на молекулярном и клеточном уровнях, формируя индивидуальный пейзаж болезни. Немаловажную роль в понимании патогенеза ОА сыграло раскрытие роли провоспалительных цитокинов, матриксных металлопротеиназ, факторов транскрипции, принимающих активное участие в развитии и прогрессировании данного заболевания [1, 2]. К ключевым факторам развития и прогрессирования ОА относится фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Известно, что концентрация VEGF в синовиальной жидкости прямо коррелирует с рентгенологическими, ультразвуковыми и клиническими проявлениями остеоартрита коленного сустава [3]. Кроме того, на животной модели ОА были получены убедительные данные об увеличении экспрессии VEGF в суставном хряще (СХ) по мере прогрессирования заболевания [4]. Патологические эффекты VEGF связаны с остеохондральной неоваскуляризацией СХ, прогрессированием воспаления и дегенерацией хряща и субхондральной кости (СХК) [5]. Учитывая эти обстоятельства, высказано предположение о потенциальной терапевтической

пользе ингибирования VEGF для консервативного лечения ОА [1].

Важными участниками суставного ремоделирования при ОА являются матриксные металлопротеиназы (MMPs). Результаты метаанализа 10 исследований позволили установить, что экспрессия матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9) повышается в синовиальной жидкости и сыворотке крови больных ОА [2]. Было убедительно показано, что экспрессия MMP-9 в суставном хряще больных ОА способствует дегенерации хрящевого межклеточного матрикса [6]. Очевидно, что важной задачей современной фармакологии является разработка эффективных методов управления активностью MMPs, что будет способствовать сдерживанию разрушения СХ при ОА.

Среди препаратов, применяемых для лечения ОА, в плане ингибирования MMPs и VEGF привлекает внимание хондроитина сульфат натрия (ХС). Имеются сведения о возможности ХС оказывать ингибирующее влияние на системную экспрессию VEGF [7]. Инкубация синовиальной оболочки, полученной от больного ОА в питательной среде с добавлением ХС, показала антиангиогенный и противовоспалительный эффект данного препарата [8]. Кроме того, ХС обладает способностью восстанавливать баланс тканевой концентрации MMP-9 и тканевых ингибиторов MMPs [9]. Несмотря на накопленные знания о потенциальных возможностях ХС влиять на молекулярные механизмы ОА, на сегодняшний день отсутствуют исследования *in vivo*, направленные на уточнение механизмов ингибирования VEGF и MMPs в тканях суставов при ОА.

Цель исследования – на животной модели ОА оценить влияние внутрисуставного введения ХС на экспрессию матриксной металлопротеиназы-9 и фактора роста эндотелия сосудов.

Материал и методы. Сравнительное экспериментальное исследование было проведено на 18 беспородных морских свинок обоего пола в возрасте 28–30 нед, массой 490–700 г, содержащихся в стандартных условиях вивария НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. Сомова. Протокол экспериментов был составлен в соответствии с Конвенцией по защите животных, используемых в эксперименте и других научных целях (принятой Советом Европы в 1986 г.), с приказом МЗ РФ от 19.06.2003 № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики», соответствует требованиям Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным (2000), одобрен междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России.

Исходно животные были разделены случайным образом на 3 группы. В контрольной (6 животных) и опытных группах моделировали повреждение коленных суставов задних лап механическим путем через нанесение закрытой скарификационной травмы стерильной иглой. В контрольной группе животным внутрь пораженных суставов вводили физиологический раствор натрия хлорида по 0,5 мл 1 раз в 2 нед. Животным I группы (6 морских свинок) через 2 нед после травмы вводили внутрисуставно 1 раз в 2 нед раствор бетаметазона (Дипроспан, MSD, США) из расчета 0,1 мг/кг, во II группе (6 морских свинок) вводили внутрисуставно раствор хондроитина сульфата натрия (Артогистан, ООО «Гротекс», Россия) в дозе 2 мг на 1 кг веса животного 1 раз в 2 нед. Все инвазивные манипуляции, включая нанесение травмы, проводили под общей анестезией ксилозином (Рометар, Bioveta, Чешская Республика). Через 4, 6 и 8 нед (на 30, 45 и 60-е сут соответственно) передозировкой ксилозина из эксперимента выведены по 2 особи животных из каждой группы, после чего производили забор образцов суставов, поврежденных в начале эксперимента.

Ткани фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (24 ч), декальцинировали в электролитном растворе (Biovitrum, Россия), по стандартному методу проводили заключение в парафин и получали срезы толщиной 5 мкм. Для выявления тканевой экспрессии фактора роста эндотелия сосудов и матричной металлопротеиназы-9 применяли иммуногистохимический метод с пероксидазной реакцией по общепринятому протоколу. В работе с материалом были использованы первичные моноклональные антитела, авидные к протеинам морских свинок anti-VEGF-A (Abcam, ab38909, США), anti-MMP-9 (Spring, E3660, США). Препараты оценивали с помощью микроскопа CX41 (Olympus, Япония), оснащенного цифровой камерой. Количественную оценку иммуногистохимической (ИГХ) реакции определяли по значению тканевой экспрессии (ТЭ), измеренной как десятичный логарифм произведения плотности преципитата к проценту положительных клеток гистохимической реакции. Морфометрию осуществляли с помощью программы Image J 4.1.

Статистический анализ результатов проводили с помощью Statistica 10.0 (StatSoft, США). Распределение показателей показывали с использованием

медианы (Me) и квартилей [Q25; Q75]. Поскольку в изучаемых выборках распределение значений не соответствовало нормальному, для оценки достоверности различий при сравнении двух независимых групп переменных использовали z-критерий Манна – Уитни, двух зависимых – w-критерий Вилкоксона. Достоверными считали различия показателей при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Наглядные иллюстрации экспрессии VEGF и MMP-9 в суставном хряще и субхондральной кости представлены на рис. 1, 2. Анализ тканевой экспрессии VEGF (см. рис. 1) и MMP-9 (см. рис. 2) поврежденных суставов показал, что на 30-е сут эксперимента у животных, получавших БМЗ, отмечалось статистически значимое снижение тканевой экспрессии VEGF ($z = -2,3$; $p = 0,02$), увеличение ТЭ MMP-9 ($z = 2,6$; $p = 0,01$) относительно контроля. В группе животных, получавших ХС внутрисуставно, отмечались достоверно более высокие показатели концентрации MMP-9 в суставном хряще ($z = 3,5$; $p = 0,00002$) по сравнению с контролем. Однако ТЭ VEGF в ХС статистически значимо не отличалась относительно группы БМЗ ($z = 1,6$; $p = 0,1$).

На 45-й день эксперимента в группе животных, получавших БМЗ, отмечалось статистически значимое снижение по сравнению с группой контроля иммуногистохимической реакции ХС на VEGF ($z = -2,6$; $p = 0,01$), увеличение концентрации MMP-9 ($z = 3,3$; $p = 0,0009$). У животных, получавших в качестве экспериментального лечения интраартикулярно ХС, установлено достоверное снижение ТЭ VEGF и MMP-9 относительно контрольной группы (соответственно $z = -3,3$; $p = 0,00002$; $z = -3,5$; $p = 0,00002$). По сравнению с группой БМЗ зафиксированы статистически значимо более низкие показатели тканевой концентрации VEGF и MMP-9 (соответственно $z = -2,5$; $p = 0,00002$; $z = 3,3$; $p = 0,0009$).

На 60-й день интраартикулярного введения БМЗ отмечалась статистически значимо более низкая ТЭ VEGF относительно контрольной группы ($z = -2,9$; $p = 0,004$) и значимо более высокая экспрессия MMP-9 ($z = 2,5$; $p = 0,01$). В группе животных, получавших ХС, зафиксированы достоверно более низкие показатели экспрессии VEGF и MMP-9 (соответственно $z = -3,6$; $p = 0,00002$; $z = -2,9$; $p = 0,004$) относительно контроля и животных, получавших БМЗ (соответственно $z = -3,3$; $p = 0,0009$; $z = -3,6$; $p = 0,00002$).

Дана оценка динамики изменений тканевой экспрессии VEGF и MMP-9 в ходе эксперимента. В группе животных, не получавших лечение на 45-й день эксперимента, достоверно увеличение тканевой концентрации VEGF и MMP-9 (соответственно $w = 2,5$; $p = 0,02$; $w = 2,6$; $p = 0,009$). В конце эксперимента также было отмечено повышение изучаемых показателей MMP-9 и VEGF (соответственно $w = 2,3$; $p = 0,03$; $w = 2,9$; $p = 0,004$). Значимые различия в конце эксперимента на 45-е сут у контрольных животных были обнаружены относительно снижения экспрессии VEGF и повышения экспрессии MMP-9 (соответственно $w = -2,3$; $p = 0,03$; $w = 2,5$; $p = 0,01$).

На 45-й день эксперимента в группе животных, получавших БМЗ, отмечалось статистически

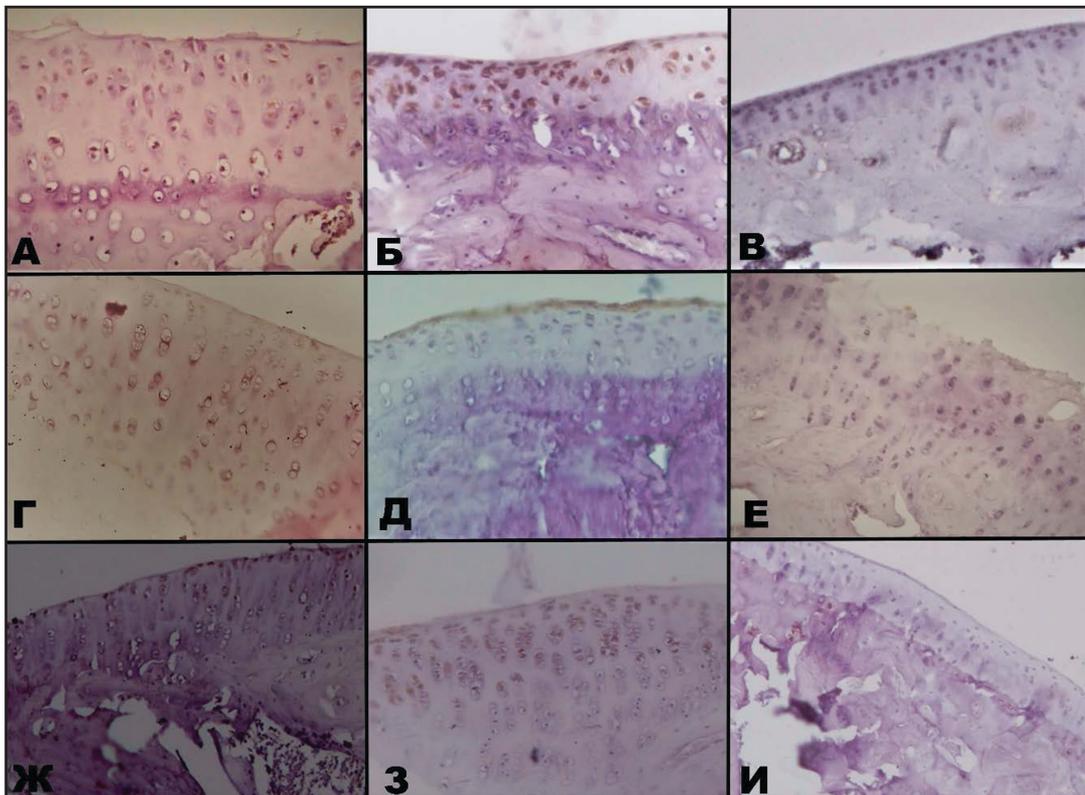


Рис. 1. Репрезентативные иллюстрации экспрессии VEGF в суставном хряще и субхондральной кости, полученные в ходе эксперимента. Фрагменты **А–В** – группа контроля, **Г–Е** – на фоне введения бетаметазона, **Ж–И** – на фоне введения хондроитина сульфата натрия. Фрагменты **А, Г, Ж** – на 30-е сут, **Б, Д, З** – на 45-е сут, **В, Е, И** – на 60-е сут. Иммуногистохимия, ув.×200

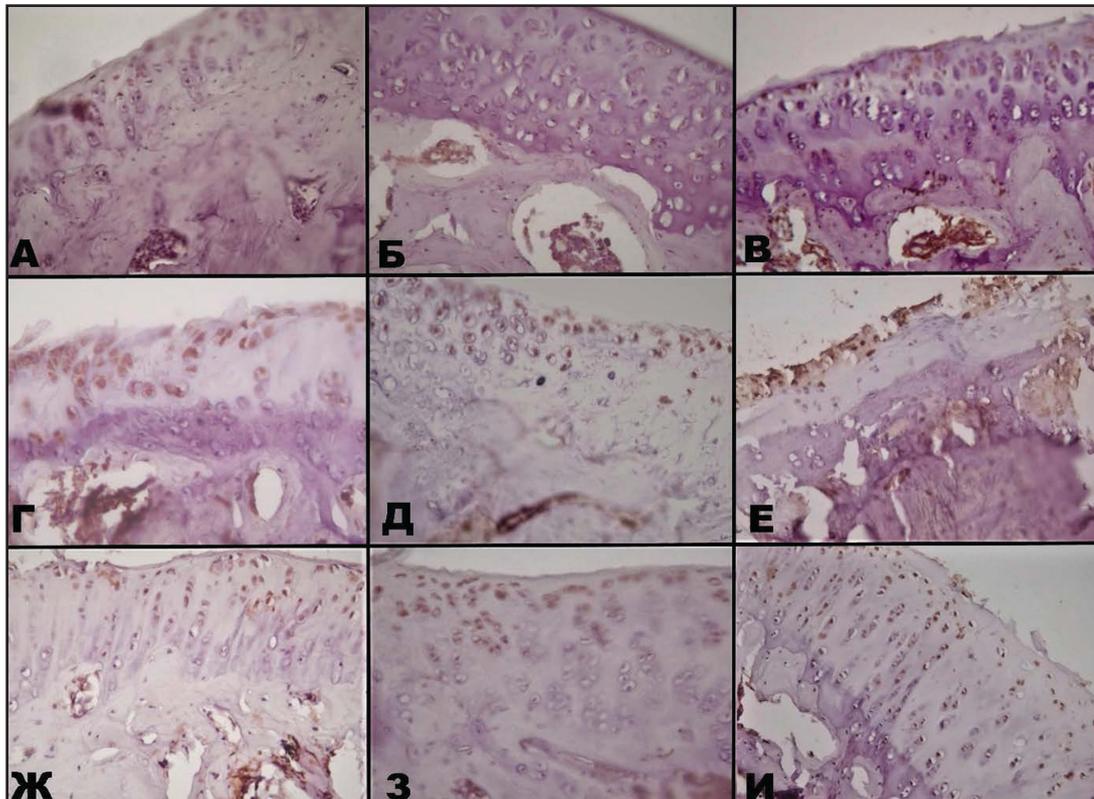


Рис. 2. Репрезентативные иллюстрации экспрессии MMP-9 в суставном хряще и субхондральной кости, полученные в ходе эксперимента. Фрагменты **А–В** – группа контроля, **Г–Е** – на фоне введения бетаметазона, **Ж–И** – на фоне введения хондроитина сульфата натрия. Фрагменты **А, Г, Ж** – на 30-е сут, **Б, Д, З** – на 45-е сут, **В, Е, И** – на 60-е сут. Иммуногистохимия, ув.×200

значимое снижение ТЭ MMP-9 ($w=-2,1$; $p=0,04$) и увеличение VEGF ($w=2,5$; $p=0,01$). В конце эксперимента в группе БМЗ зафиксировано по сравнению с исходными данными увеличение концентрации VEGF и снижение аналогичного показателя MMP-9 (соответственно $w=2,3$; $p=0,03$; $w=-2,5$; $p=0,01$). По сравнению с результатами на 45-е сут эксперимента установлено снижение концентрации MMP-9 ($w=2,6$; $p=0,01$) и отсутствие статистически значимых различий ТЭ VEGF ($w=-1,8$; $p=0,07$).

У животных, получавших внутрисуставные инъекции ХС на фоне экспериментального ОА, на 45-е сут эксперимента отмечено статистически значимое уменьшение ТЭ MMP-9 ($w=-2,6$; $p=0,01$) по сравнению с исходными данными. Показатели экспрессии VEGF с СХ при этом не имели достоверных различий ($w=-0,6$; $p=0,6$). На 60-е сут в этой группе животных зафиксировано значимое уменьшение тканевой концентрации MMP-9 ($w=-2,6$; $p=0,01$) по сравнению с исходными данными. Экспрессия VEGF с СХ при этом не имела статистически значимых различий по сравнению с исходными данными ($w=-1,1$; $p=0,3$). В группе лечения ХС в конце по сравнению с промежуточными данными отмечено достоверное увеличение ТЭ MMP-9 позитивных хондроцитов ($w=2,5$; $p=0,01$), в то время как параметры экспрессии VEGF в хряще значимо не менялись ($w=-1,1$; $p=0,3$). Более подробная информация относительно тканевой экспрессии отражена в *таблице*.

Известно, что вариабельность фенотипа хондроцитов определяется активностью тех или иных внутриклеточных сигнальных каскадов, активирующих факторы транскрипции цитокинов, MMPs, факторов роста и дифференцировки. В частности, в ответ на активацию внутриклеточного сигнального пути ядерного фактора транскрипции Nf-kB хондроциты начинают экспрессировать MMPs [10]. Это подтверждается полученными данными, согласно которым при моделировании ОА у животных в тканях суставов резко усиливается экспрессия MMP-9 – ключевой молекулы деградации хрящевого матрикса. Известно, что MMP-9 принимает участие в деградации молекул хрящевого матрикса [11], способствует поддержанию активации Nf-kB и экспрессии провоспалительных цитокинов [12]. В целях адаптации к проапоптотическим и провоспалительным стимулам хондро-

циты приобретают особый фенотип, отличный от нормального. Измененные фенотипически клетки утрачивают способность синтезировать полноценное межклеточное вещество.

Не менее важным феноменом в патоморфологии раннего ОА является нейроваскуляризация суставного хряща. Поскольку СХ в норме является бессосудистым, то появление эктопической васкуляризации несет новые патологические стимулы, приводящие к ремоделированию тканей суставов [13]. Можно предположить, что неоваскуляризация базальных отделов хряща вызвана ишемией СХК и ответной реакцией на нее ретикулоэндотелия с экспрессией ангиогенных факторов [14]. Этот универсальный механизм в норме лежит в основе адаптации тканей к гипоксии. Очевидно, что в данном случае этот феномен является патологическим, приводящем к эктопическому ангиогенезу СХ. Подтверждением этому предположению является гиперэкспрессия в СХ VEGF, ответственного за ангиогенез. В данном случае кроме сосудистой наблюдается экстравазальная экспрессия данного фактора роста, указывающая на измененный фенотип хондроцитов в ответ на ишемию. Известно, что эндотелиальный фактор роста экспрессируется тканями в условиях ишемии, обеспечивая вектор ангиогенеза [15].

Результаты проведенного исследования показали, что внутрисуставное введение хондроитина сульфата у животных с экспериментальным ОА блокирует активацию ангиогенного фактора VEGF в СХ на протяжении всего эксперимента. Полученные данные соотносятся с результатами других исследований, показавших, например, возможности ХС оказывать ингибирующее влияние на системную экспрессию VEGF у больных воспалительными заболеваниями кишечника, получавшие сопутствующую терапию ХС по поводу ОА [7]. В другом исследовании инкубация синовиальной оболочки, полученной от больного ОА в среде с ХС, показала антиангиогенный и противовоспалительный эффект данного препарата [8]. Экспрессия MMP-9 на фоне введения ХС усиливалась на 30-й день эксперимента, но затем существенно уменьшалась. Это указывает на то, что действие ХС связано с его способностью восстанавливать баланс тканевой концентрации MMP-9 и тканевых ингибиторов MMPs [9]. Результа-

Экспрессия VEGF и MMP-9 в суставном хряще исследуемых групп животных

Параметр, единицы измерения	Контроль (n=6)	Бетаметазон (n=6)	Хондроитина сульфат (n=6)
30-е сут			
ТЭ VEGF, у.е	8,9 [8,8; 9,0]	8,4 [8,3; 8,4]*	7,8 [7,3; 8,0]*#
ТЭ MMP-9, у.е.	8,2 [7,9; 8,4]	9,3 [9,2; 9,4]*	9,5 [9,4; 9,7]*#
45-е сут			
ТЭ VEGF, у.е	9,5 [9,4; 9,5]*	8,7 [8,6; 8,8]*	8,4 [8,1; 8,5]*#
ТЭ MMP-9, у.е.	8,6 [8,4; 8,8]*	9,0 [8,9; 9,1]*	8,2 [7,9; 8,3]*##
60-е сут			
ТЭ VEGF, у.е	9,2 [9,0; 9,3]#	8,6 [8,5; 8,8]*	8,4 [7,7; 8,4]*#
ТЭ MMP-9, у.е.	8,8 [8,7; 8,9]*	8,9 [8,7; 9,0]*#	8,5 [8,4; 8,6]*##

Примечание: *внутригрупповые различия по сравнению с исходными показателями на 30-е сут эксперимента статически значимы при $p<0,05$; #внутригрупповые различия по сравнению с показателями на 45-е сут эксперимента статистически значимы при $p<0,05$; *различия по сравнению с контролем статистически значимы при $p<0,05$; #различия по сравнению с группой животных, получавших бетаметазон, статистически значимы при $p<0,05$.

ты исследований других авторов также показали, что лечение ХС экспериментального артрита приводит к снижению концентрации и активности MMP-9 [16]. Полученные данные подтверждают концепцию замедленной структурной модификации и объясняют необходимость пролонгированных курсов лечения ОА данным классом препаратов.

Выводы. На животной модели ОА установлено, что внутрисуставные инъекции ХС приводят к ингибированию экспрессии эндотелиального фактора роста сосудов и матричной металлопротеиназы-9 в хряще уже через 2 нед от начала лечения. Таким образом, ХС при внутрисуставном введении оказывает прямое влияние на молекулярные механизмы развития ОА, демонстрирует хондропротективные и ангиопротективные потенциалы.

Поскольку молекулярные эффекты хондроитина сульфата натрия проявляются со временем, полученные результаты объясняют необходимость пролонгированных курсов введения хондроитина сульфата натрия при лечении ОА.

Результаты настоящего исследования могут быть отчасти экстраполированы на другие классы препаратов с замедленным структурно-модифицирующим действием и использованы в дальнейших исследованиях эффективности и безопасности локальной терапии ХС.

Прозрачность исследования. Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и других взаимоотношениях. Все авторы принимали участие в разработке концепции, дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

REFERENCES

1. Nagai T, Sato M, Kobayashi M, Yokoyama M, Tani Y, Mochida J. Bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, inhibits osteoarthritis. *Arthritis Res Ther.* 2014; 16 (5): 427. DOI: 10.1186/s13075-014-0427-y.
2. Zeng GQ, Chen AB, Li W, Song JH, Gao CY. High MMP-1, MMP-2, and MMP-9 protein levels in osteoarthritis. *Genet Mol Res.* 2015; 14 (4): 14811-14822. DOI: 10.4238/2015.November.18.46.
3. Kim HR, Lee JH, Kim KW, Kim BM, Lee SH. The relationship between synovial fluid VEGF and serum leptin with ultrasonographic findings in knee osteoarthritis. *Int J Rheum Dis.* 2016; 19 (3): 233-240. DOI: 10.1111/1756-185X.12486.
4. Tanaka E, Aoyama J, Miyauchi M, Takata T, Hanaoka K, Iwabe T, Tanne K. Vascular endothelial growth factor plays an important autocrine/paracrine role in the progression of osteoarthritis. *Histochem Cell Biol.* 2005; 123 (3): 275-281.
5. Wang QY, Dai J, Kuang B, Zhang J, Yu SB, Duan YZ, Wang MQ. Osteochondral angiogenesis in rat mandibular condyles with osteoarthritis-like changes. *Arch Oral Biol.* 2012; 57 (6): 620-629. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2011.12.006.
6. Lipari L, Gerbino A. Expression of gelatinases (MMP-2, MMP-9) in human articular cartilage. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2013; 26 (3): 817-823.
7. Linares PM, Chaparro M, Algaba A, Román M, Moreno Arza I, Abad Santos F, Ochoa D, Guerra I, Bermejo F, Gisbert JP. Effect of Chondroitin Sulphate on Pro-Inflammatory Mediators and Disease Activity in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Digestion.* 2015; 92 (4): 203-210. DOI: 10.1159/000439522.
8. Lambert C, Mathy-Hartert M, Dubuc JE, Montell E, Vergés J, Munaut C, Noël A, Henrotin Y. Characterization of synovial angiogenesis in osteoarthritis patients and its modulation by chondroitin sulfate. *Arthritis Res Ther.* 2012; 14 (2): R58. DOI: 10.1186/ar3771.
9. Campo GM, Avenoso A, Campo S, D'Ascola A, Ferlazzo AM, Samà D, Calatroni A. Purified human chondroitin-4-sulfate reduced MMP/TIMP imbalance induced by iron plus ascorbate in human fibroblast cultures. *Cell Biol Int.* 2006; 30 (1): 21-30.
10. Scotece M, Conde J, Abella V, López V, Francisco V, Ruiz C, Campos V, Lago F, Gomez R, Pino J, Gualillo O. Oleocanthol Inhibits Catabolic and Inflammatory Mediators in LPS-Activated Human Primary Osteoarthritis (OA) Chondrocytes Through MAPKs/NF- κ B Pathways. *Cell Physiol Biochem.* 2018; 49 (6): 2414-2426. DOI: 10.1159/000493840.
11. Xia B, Di Chen, Zhang J, Hu S, Jin H, Tong P. Osteoarthritis pathogenesis: a review of molecular mechanisms. *Calcif Tissue Int.* 2014; 95 (6): 495-505. DOI: 10.1007/s00223-014-9917-9.
12. Xue M, McKelvey K, Shen K, Minhas N, March L, Park SY, Jackson CJ. Endogenous MMP-9 and not MMP-2 promotes rheumatoid synovial fibroblast survival, inflammation and cartilage degradation. *Rheumatology (Oxford).* 2014; 53 (12): 2270-2279. DOI: 10.1093/rheumatology/keu254.
13. Wang Y, Xu J, Zhang X, Wang C, Huang Y, Dai K, Zhang X. TNF- α -induced LRG1 promotes angiogenesis and mesenchymal stem cell migration in the subchondral bone during osteoarthritis. *Cell Death Dis.* 2017; 8 (3): e2715. DOI: 10.1038/cddis.2017.129.
14. Noh KC, Park SH, Yang CJ, Lee GW, Kim MK, Kang YH. Involvement of synovial matrix degradation and angiogenesis in oxidative stress-exposed degenerative rotator cuff tears with osteoarthritis. *J Shoulder Elbow Surg.* 2018; 27 (1): 141-150. DOI: 10.1016/j.jse.2017.08.007.
15. Mapp PI, Walsh DA. Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2012; 8 (7): 390-398. DOI: 10.1038/nrrheum.2012.80.
16. Sandya S, Sudhakaran PR. Effect of glycosaminoglycans on matrix metalloproteinases in type II collagen-induced experimental arthritis. *Exp Biol Med (Maywood).* 2007; 232 (5): 629-637.