

**ЗМІНИ АКТИВНОСТІ КОЛАГЕНАЗИ, ОБМІНУ
ГІДРООКСИПРОЛІНУ ТА ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНУ В
СИНОВІАЛЬНІЙ РІДИНІ І СИРОВАТЦІ КРОВІ ПРИ
АСЕПТИЧНОМУ АРТРИТІ У КОНЕЙ**

Герун Л.В., аспірант Луганського національного аграрного університету*

Хронічний асептичний артрит у коней супроводжується підвищенням в синовіальній рідині активності колагенази, одного із ключових ферментів в метаболізмі основного білку сполучної тканини - колагена, підвищення концентрації вільної фракції гідрооксіпроліну, біохімічного маркера резорбції кісткової тканини, а також підвищення зниження вмісту білковозв'язаного гідрооксіпроліну, маркера синтезу білку колагену.

Аналіз даних по концентрації глікозаміногліканів, особливо в суглобовій рідині показав, що їх кількість значно перевищує ці показники клінічно здорових тварин, що свідить про деструктивні зміни в хрящевій тканині.

Ключові слова: суглоб, асептичний артрит, синовіальна рідина, колаген аза, гідроксіпролін.

Постановка проблеми та аналіз останніх публікацій. Біохімічні зміни суглобового хряща при запальних процесах у суглобі різнобічні і неоднозначні. Це пояснюється неможливістю вияснити чітких розбіжностей між патологічними змінами в хрящі від фізіологічних вікових змін, а з другої сторони – значною варіабельністю патологічних змін у різних ділянках одного і того ж хряща, в залежності від того, в яких біомеханічних умовах знаходиться ця ділянка в функціонуючому суглобі. За даними Павлової В.П. (1980) є відповідно суттєві особливості якісного складу глікозаміногліканів і інтенсивності їх обміну в навантажених і ненавантажених ділянках хряща [1].

Відомо, що у хрящовій тканині не виявляються клітини, спеціалізованих до участі в катаболітичних процесів, які можна по аналогії з остеокластами вважати хондрокластами. Відповідно, катаболізм являється функцією хондроцитів, які повинні мати відповідні ферменти.

Вважають, що деградація макромолекул хрящової тканини – колагену і протеогліканів проходить у дві стадії. Спочатку макромолекули розпадаються на крупні, не сприятливі до дифузії фрагменти. На другому етапі ці фрагменти попадають в середину клітин, де під дією лізосомальних протеолітичних ферментів проходить їх розщеплення. У хондроцитах знайдені всі ферменти, необхідні для деградації глікозаміногліканів, за

* Науковий керівник – докт. вет. наук, професор Іздепський В.Й.

виключенням гіалуронідази. Остання може попадати в матрикс хряща із синовіальної рідини [2].

Характерною ознакою руйнування хряща при асептичному артриті на ранній стадії є втрата глікозаміногліканів матриксом, основним чином, в поверхневому і середньому шарі. Вихід протеогліканів із хряща пов'язаний з порушенням їх синтезу в хондроцитах. [5] Значне руйнування суглобового хряща на останній стадії асептичного артрити супроводжується різким зменшенням кількості глікозаміногліканів. Таким чином, дане захворювання характеризується паралельними дистрофічними та некротичними змінами з неповноцінною репаративною регенерацією суглобового хряща.

У механізмі розвитку асептичного артрити велике значення має порушення роботи ферментних систем - активації кислій фосфатази, нейтральної протеїнази, катепсина та ін. [3]

Підвищення активності ферментів, які приймають участь в катаболізмі матриксу є, безумовно, одним із головних ланцюгів патогенезу асептичного артрити. Існує думка, що деякі ферменти, в тому числі одна із колагеназ, активність якої вже значна на ранній стадії цього захворювання, грають в механізмі розвитку цього процесу роль одного із пускових механізмів.[8]

Встановлено, що лізосомальні ферменти проявляють свою активність при кислих значеннях рН, а відомо, що рН в матриксі нормального хряща знаходиться в межах 6,95-7,4. Крім цього, вивільнення цих ферментів відбувається тільки при руйнування або загибелі клітин, тому їх роль проявляється тільки в патологічному хрящі. Так, у сироватці крові з деструктивним асептичним артритом постійно підвищується рівень оксипроліну, що є наслідком деструкції сполучної тканини, в якійсь мірі синовіальній оболонці суглобу та епіфізарному хрящі.

Таким чином, приведені літературні дані свідчать, що в розвитку асептичного артрити приймають участь багато факторів. Все це має значення в розумінні основ механізму розвитку ОА та розробки методів лікування.

Мета дослідження: вивчення змін в метаболізмі колагену і глікозаміногліканів у здорових та хворих тварин на різних стадіях асептичного артрити метатарзального суглобу дорослих коней за допомогою біохімічних показників синовіальної рідини та сироватки крові.

Досліджено було 48 голів коней у віці від 4 до 10 років, хворих на хронічний асептичний артрит скакального суглобу. Контролем були 12 клінічно здорових коней у віці 4-10 років. У сироватці крові і синовіальній рідині тварин досліджували наступні біохімічні показники: активність колагенази (Lindy S., Halme J., 1973), фракції гідроксипроліна (Frey S., 1965), глікозаміноглікану (Кляцкин С.А., Лифшиц Р.И, 1989).

Результати досліджень. Ми розподілили тварин у групи, провівши наступні дослідження: клінічне обстеження і виявлення кульгавості, радіографічне дослідження, вміст лейкоцитів та вміст загально білку у синовіальній рідині. Критерії розподілу по групам вказані в табл.1.

Таблиця 1

Критерії розподілу по групам коней, хворих на хронічний асептичний артрит

Показники	1 ст	2 ст	3ст	здорові
Рівень кульгавості за 5 бальною шкалою	1-3	1-3	1-3	0
Виповнення синовіальних виворотів	Слабке	Середнє	Середнє, сильне	N
Рентгенологічне дослідження	чіпи	Вузька суглобова щілина, остеофіти	Вузька суглобова щілина, остеофіти, склероз субхондральної кістки	N
Вміст загального білку в синовіальній рідині г/л	Менше 15	20-40	Більше 40	Менше 25
Кількість лейкоцитів у синовіальній рідині	0- 1.5	0-2.0	0-6.0	Менше 1.0

З метою виявлення метаболічних порушень в органічній основі сполучної тканини нами було досліджено біологічні рідини (сироватка крові та синовіальна рідина) тварин, хворих на асептичний артрит (табл.2).

Таблиця 2.

Біохімічні показники синовіальної рідини коней, хворих на асептичний артрит

Показники	Колагеназа, кмоль/л*год	Фракції ГП ,кмоль/л		ГАГ, г\л
		вільний	Білково зв'язний	
Здорові	0,86±0,19	1,08±0,25	1,7±0,3	0,0017±0,03
	0.91± 0,21	0,41± 0,23	0,7±0,2	0,03±0,002
Легка форма хрон.	3,43±0,20*	0,92±0,14	1,39±0,29	0,067±0,07
	1,67±0,19	0,51±0,13	0,68±0,3	0,07±0,001
Середній хронічний	4,2±0,15**	2,47±0,2**	1,21±0,12	0,082±0,09
	2,25±0,13**	1,41±0,16**	1,24±0,11	0,08±0.009*
Тяжкий хронічний	7,3±0,8***	4,86±0,3***	0,98±0,23	0,112±0,05
	4,12±0,9***	2,75±0,22***	1,33±0,2*	0,12±0,04**

Примітка: чисельник – сироватка крові; знаменник – синовіальна рідина
*-p<0,05, **-p<0,01, ***- p<0,001 відносно норми.

При дослідженні синовіальної рідини у даних хворих тварин виявили високу активність колагенази, яка досягає - 5,02 кмоль\л*год, одного з ключових ферментів в метаболізмі основного білка сполучної тканини – колагену.

У цих тварин спостерігається висока концентрація вільної фракції гідроксипроліну, біохімічного маркера резорбції кісткової тканини, що супроводжується зниженням вмісту білковозв'язного гідроксипроліну, біохімічного маркера синтезу білка колагену.

Аналіз даних по вмісту глікозаміногліканів (ГАГ) показав, що їх концентрація досягає 0,124 г/л в синовіальній рідині, та 0,117 г/л в сироватці крові, що значно перевищує ці показники у здорових тварин.

Як відомо, ГАГ визначають фізіологічні і біомеханічні властивості хрящової тканини.

Таким чином, ми спостерігаємо, що у хворих на асептичний артрит путового суглобу 1 стадії порушені метаболічні процеси як основного білка сполучної тканини - колагену, так і в обміні глікозаміногліканів.

При аналізі даних хворих тварин на другій стадії захворювання, ми відмічали ще більші зміни в активності колагенази, як сироватці крові, так і в синовіальній рідині, що становили 2,25 кмоль\л*год і 4,2 кмоль\л*год відповідно ($p < 0,01$). Показники метаболітів обміну колагену відображають високу концентрацію вільної фракції гідроксипроліну, біохімічного маркера катаболічної фази білка колагену, і низька концентрація білковозв'язного гідроксипроліну – маркера синтезу вище вказаного білка. Особливо виражені зміни спостерігаються в обміні ГАГ, що досягають 0,08 г/л у синовіальній рідині, та 0,082 г/л в сироватці крові. Отримані біохімічні дані відображають деструктивні зміни в тканинах суглобів даної групи хворих тварин.

Показники отримані при дослідженні хворих коней з тяжкими ураженнями суглобу, яких ми умовно віднесли до 3 стадії виявили ще більш високу активність як колагенази ($p < 0,001$), так і глікозаміногліканів, кількість яких досягали 0,12 г\л та 0,112 г\л у синовії та сироватці крові відповідно.

Висновки. Катаболічні процеси в органічній основі хрящової тканини хворого суглобу супроводжується деструктивними порушеннями, що призводять до розвитку патологічного процесу.

Список використаних джерел:

1. Федорук Р.С. Глікопротеїни структура та функції / Р.С., Федорук, О. П. Долайчук // Науково-технічний Бюлетень Інституту біології тварин УААН. – 2009. – Т.10, №2 – С. 53 – 55.

2. Analysis of glucosamine and chondroitin sulfate content in marketed products and the CaCo-2 permeability of chondroitin sulfate raw materials. / A.O. Adebowale, D.S. Cox, Z. Liang [et al.] // J. Am. Nutraceut Assoc. 2000;3:37-44.

3. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А.М. Горячковский . - Одесса, Экология, 2005. - 616 с.

4. Деханд А.Е. Содержание фракций гидроксипролина в плазме крови и биоптате кишечника при деструктивных заболеваниях желудочно-кишечного тракта / А.Е. Деханд // Матер. Всеросс. 67-й студ. научн. конф. им. Н.И. Пирогова. - 2008., Томск. - С. 190-191.

5. Lindy S. Collagenolytic activity in rheumatoid synovial tissue/ S. Lindy, J. Halme // Clin. Chem. Acta. -1973. - 47, N 2. - P. 153-157.

Герун Л.В. Изменение активности коллагеназы, обмена гидроксипролина и гликозаминогликанов в синовиальной жидкости и сыворотке крови при асептическом артрите у лошадей

Хронический асептический артрит у лошадей сопровождается повышением в синовиальной жидкости активности коллагеназы, одного из ключевых ферментов в метаболизме основного белка соединительной ткани – коллагена, увеличения концентрации свободной фракции гидроксипролина, биохимического маркера резорбции костной ткани, а также снижения содержания белоксвязанного гидроксипролина, биохимического маркера синтеза белка коллагена.

Анализ данных по содержанию гликозаминогликанов, особенно в суставной жидкости показал, что их концентрация значительно превышает этих показателей клинически здоровых животных, что свидетельствует о деструктивных изменениях хрящевой ткани.

Ключевые слова: сустав, асептический артрит, синовиальная жидкость, коллагеназа, гидроксипролин.

Gerun L.V. Changes in activity of collagenase, exchange of hydroxyproline and glycosaminoglycans in synovial liquid and serum blood under aseptic arthritis in horses

Chronic aseptic arthritis in horses accompanied Improving fluid in synovialnoy activism kollahenazy, one of klyuchevykh enzymes in metabolyzme basic protein soedynitelnoy tissue - collagen, Increase Concentration svobodnoy fraction hydrooksyprolyna, biochemically kostnoy tissue resorption marker, as well Reduction CONTENT beloksvyazannoho hydrooksyprolyna, biochemically marker protein collagen synthesis.

Analysis of data on the Contents hlykozamynohlykanov, especially in sustavnoy fluid showed, that's Concentration Significantly prevyshaet etyh indicators Clinically zdorovykh animals, that svydetelstvuet at destruktyvnykh Changes hryashevoy tissue.

Keywords: joints, aseptic arthritis synovialnaya fluid, collagenase, hydroksyprolyn.