

*О.В.Пишак, О.Л.Кухарчук*

## **ВПЛИВ СИСТЕМНОЇ ЕНЗИМОТЕРАПІЇ НА ОСНОВНІ МЕХАНІЗМИ ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ У СУГЛОБАХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ОСТЕОАРТРОЗІ**

Буковинська державна медична академія

**Резюме.** Показано, що вплив системної ензимотерапії на гостре запалення у суглобах при експериментальному остеоартрозі реалізується через підвищення утворення імуносупресивного трансформувального фактора росту  $\beta 1$  за пригнічення локального вмісту у синовіально-хрящовому комплексі тканин інтерлейкіну- $1\beta$  і фактора некрозу пухлин  $\alpha$ .

**Ключові слова:** остеоартроз, флогензим, цитокіни, протеоліз, фібриноліз, ліпопероксидація.

**Вступ.** Визначена роль прозапальних цитокінів у патогенезі ревматоїдних захворювань. Зокрема, аналіз біоптатів синовіальної оболонки суглобів хворих в ранньому періоді остеоартрозу (ОА) виявив, що її потовщення, підсилення васкуляризації та інфільтрація лейкоцитами відбуваються за підвищення рівнів інтерлейкіну- $1\beta$  (ІЛ- $1\beta$ ) і фактора некрозу пухлин  $\alpha$  (ФНП $\alpha$ ) та зниження вмісту рецепторного антагоніста інтерлейкіну-1 [24]. У хрящовій тканині хворих на ОА хондроцити містять велику кількість ФНП $\alpha$  та ІЛ- $1\beta$  [16].

Відомо, що ІЛ- $1\beta$  індукуює синтез оксиду азота і супероксиданіонрадикала суглобовими хондроцитами та одночасно інгібує синтез протеогліканів внаслідок утворення пероксинітриду з оксиду азота та аніона супероксиду [18], а підвищений рівень NO при ОА асоціюється з деструкцією хряща [22]. Стимуляція вивільнення колагену з хрящової тканини онкостатином М, який взаємодіє з ІЛ- $1\beta$ , супроводжується збільшенням активності колагенази, що призводить до зруйнування хряща при ОА [10], тоді як трансформувальний фактор росту  $\beta_1$  (ТФР $\beta_1$ ) стимулює хондрогенез [15]. Водночас, вплив системної ензимотерапії на цитокінзалежні механізми ураження суглобів у ранньому періоді ОА практично не вивчений.

**Мета дослідження.** З'ясувати механізм впливу системної ензимотерапії на перебіг запалення у суглобах при експериментальному ОА.

**Матеріал і методи.** Застосовано схему експерименту, адаптовану до етапів розвитку ураження суглобів при експериментальному ОА [27]. Аналіз ефективності системної ензимотерапії базувався на визначенні впливу флогензиму на основні патогенетичні механізми ушкодження синовіальної оболонки і хрящової тканини суглобів при ОА: інтенсивність генерації активних форм кисню і процесів пероксидного окиснення ліпідів та активність ферментів протирадикального захисту [1, 3, 5-7], інтенсивність протеолітичної деструкції низько- і високомолекулярних білків та колагену [2], інтенсивність тканинного фібринолізу та його структуру [4], цитокінову регуляцію запального процесу в уражених суглобах [25].

Одержані результати оброблено методом варіаційної статистики з використанням регресійного та дисперсійного аналізу за програмою BioStat.

Для верифікації розвитку патологічного процесу в суглобах проведені гістологічні та електронно-мікроскопічні дослідження (автори висловлюють щире подяку проф. Б.В.Шутці за допомогу у виконанні цього розділу роботи).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Як свідчать дані, що наведені у таблиці, у щурів з експериментальним ОА інтенсивність хемілюмінесценції, індукованої гомогенатами синовіально-хрящового комплексу тканин (СХКТ) уражених запальним процесом суглобів, у 2,8 раза перевищувала контрольні величини, що супроводжувалося збільшенням вмісту дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА). Водночас спостерігалось суттєве пригнічення ферментів протирадикального захисту: активність супероксиддисмутази (СОД) зменшувалась відносно контролю в 2,1 раза, каталази (КТ) – на 36,4%, глутатіонпероксидази (ГПО) – на 36,3%.

Отже, при експериментальному ОА у синовіальній оболонці та хрящі суглобів підвищення інтенсивності генерації активних форм кисню відбувається за депресії систем ферментативного протирадикального захисту, що призводить до

**Вплив флогензиму на інтенсивність генерації активних форм кисню, пероксидного окиснення ліпідів, активність ферментів протирадикального захисту, протеоліз і фібриноліз та вміст цитокінів у синовіально-хрящовому комплексі тканин скакового суглоба щурів з експериментальним остеоартрозом ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники, що вивчалися	Контроль, n=9	Остеоартроз, n=9	Остеоартроз + флогензим, n=9
Хемілюмінесценція, мВт/хв	9,93±0,91	27,34±2,88 p<0,001	17,77±1,43 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,01
Дієнові кон'югати, мкмоль/г білка	0,214±0,014	0,961±0,120 p<0,001	0,441±0,043 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Малоновий альдегід, мкмоль/г білка	0,123±0,007	0,240±0,022 p<0,001	0,190±0,015 p<0,001
Супероксиддисмутаза, од/хв на мг білка	0,884±0,032	0,427±0,035 p<0,001	0,731±0,105 p <sub>1</sub> <0,02
Каталаза, мкмоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /хв на мг білка	18,84±1,02	11,98±1,48 p<0,01	18,62±3,25
Глутатіонпероксидаза, мкмоль GSH/хв на мг білка	0,686±0,063	0,437±0,045 p<0,01	0,700±0,057 p <sub>1</sub> <0,01
Лізис низькомолекулярних білків, мкг зоальбуміну/мг тканини за год	5,54±0,22	11,85±0,62 p<0,001	8,28±0,32 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Лізис високомолекулярних білків, мкг азоказеїну/мг тканини за год	2,94±0,26	6,44±0,91 p<0,01	4,12±0,33 p<0,02 p <sub>1</sub> <0,05
Лізис колагену, мкг азоколу/мг тканини за год	0,226±0,020	0,530±0,036 p<0,001	0,243±0,038 p <sub>1</sub> <0,001
Сумарна фібринолітична активність, мкг азофібрину/мг тканини за год	9,53±0,13	3,61±0,48 p<0,001	7,33±0,93 p<0,05 p <sub>1</sub> <0,01
Неферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/мг тканини за год	0,68±0,07	1,92±0,23 p<0,001	1,19±0,14 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,02
Ферментативна фібринолітична активність, мкг азофібрину/мг тканини за год	8,85±0,11	1,69±0,25 p<0,001	6,14±0,82 p<0,01 p <sub>1</sub> <0,001
Інтерлейкін-1β, пг/мг тканини	77,62±6,68	402,10±23,83 p<0,001	200,30±19,54 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001
Фактор некрозу пухлин α, пг/мг тканини	86,01±10,40	150,20±12,05 p<0,001	97,81±9,09 p <sub>1</sub> <0,01
Трансформувальний фактор росту β <sub>1</sub> , пг/мг тканини	108,90±13,58	209,80±20,26 p<0,001	351,10±22,99 p<0,001 p <sub>1</sub> <0,001

Примітки:

p - ступінь достовірності різниць показників відносно контролю;

p<sub>1</sub> - ступінь достовірності різниць показників відносно даних нелікованих тварин;

n - число спостережень.

активації процесів ліпопероксидації, який є одним з провідних механізмів альтераційної запальної реакції.

Призначення тваринам з ОА флогензиму супроводжувалося зниженням інтенсивності хемілумінесценції на 35,0% і зменшенням вмісту ДК у СХКТ в 2,2 рази. Тканинний рівень МДА також зменшувався, але недостовірно, залишаючись більшим за контроль на 54,5%. Під впливом флогензиму відновлювалися резерви ферментативного протирадикального захисту: активність СОД зростала на 71,2%, КТ – на 55,4%, ГПО – на 60,2%. Однак, активність усіх трьох ферментів не перевищувала контрольних показників, що за підвищення вмісту продуктів ліпопероксидації в СХКТ свідчить про прихований дефіцит ємності системи ензиматичного антиоксидантного захисту.

Отже, застосування системної ензимотерапії при експериментальному ОА зменшує інтенсивність генерації активних форм кисню і вмісту первинних продуктів ліпопероксидації в СХКТ та нормалізує активність ферментів протирадикального захисту.

Інтенсифікація процесів генерації кисневих радикалів за пригнічення активності ферментів протирадикального захисту вказує на ішемічний генез утворення активних форм кисню, що підтверджується результатами електронної мікроскопії (рис. 1). У синовіальній оболонці уражених суглобів значно збільшувалася кількість мікросудин з потовщеними стінками і звуженими просвітами внаслідок набряку ендотеліальних клітин капілярів. Порушення мікроциркуляції зумовлені не тільки змінами ендотеліоцитів, але й втратою еритроцитами дзета-потенціалу, що призводило до феномену сладжу (рис. 2).

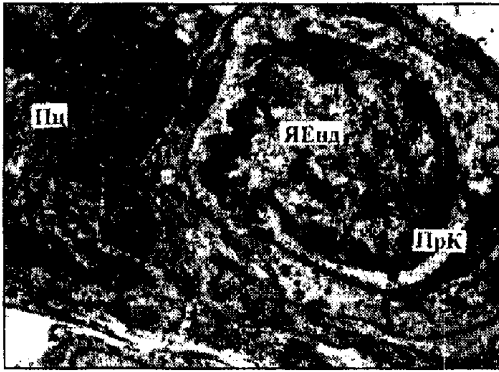


Рис. 1. Ультраструктура гемокapіляра синовіальної оболонки скакового суглоба при експериментальному остеоартрозі. Прк - просвіт капіляра; ЯЕнд - ядро ендотеліоцита; Пц - перицит. Електронна мікрофотографія. 3б. х6000.

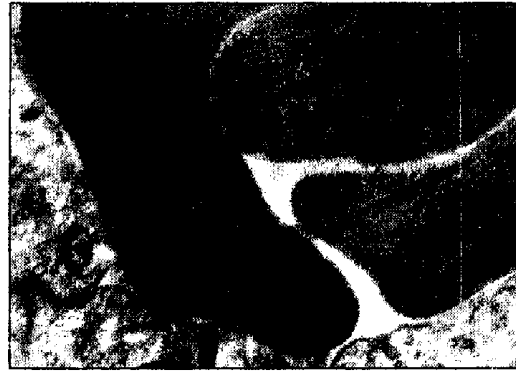


Рис. 2. Еритроцитарні сладжі у гемокapілярах синовіальної оболонки скакового суглоба при експериментальному остеоартрозі. Електронна мікрофотографія. 3б. х6000.

У щурів з ОА значно зростав тканинний протеоліз: інтенсивність лізису низькомолекулярних білків перевищувала таку у тварин контрольної групи в 2,1, високомолекулярних білків – у 2,2, колагену – в 2,3 рази. Під впливом флогензиму інтенсивність протеолітичної деструкції низькомолекулярних білків зменшувалася на 30,1%, високомолекулярних білків – на 36,0%, колагену – на 54,2%. Останній показник досягав контрольного рівня, тоді як перші два залишались вищими за контроль – на 49,5 та 40,1%, відповідно. Вміст білка в СХКТ зменшувався на 31,2% і відповідав даним тварин контрольної групи.

Отже, флогензим на початкових стадіях експериментального остеоартрозу суттєво знижує протеолітичну деградацію низько- і високомолекулярних білків та нормалізує інтенсивність колагенолізу в тканинах синовіально-хрящового комплексу уражених суглобів.

Збільшення інтенсивності протеолітичної деструкції високо-, низькомолекулярних білків і колагену призводило до порушення ультраструктури синовіоцитів (рис. 3, 4): значна їх частина мала розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, які містили матеріал слабкої електронної щільності. Мембрани останніх втрачали рибосоми. Протеолітична атака була спрямована не лише на синовіальні клітини, але й на хондроцити, будова яких зазнавала значних пато-

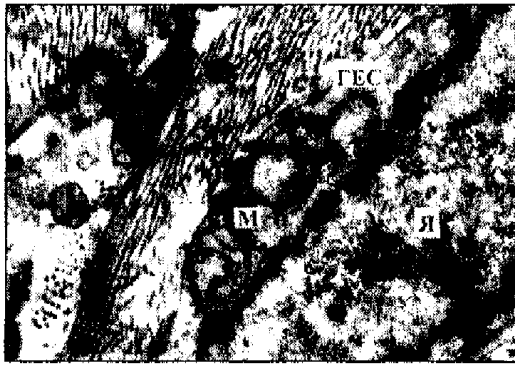


Рис. 3. Нормальна ультраструктура синовіоцита скакового суглоба. Я - ядро; ГЕС - гранулярна ендоплазматична сітка; М - мітохондрії. Електронна мікрофотографія. 36. x10000.

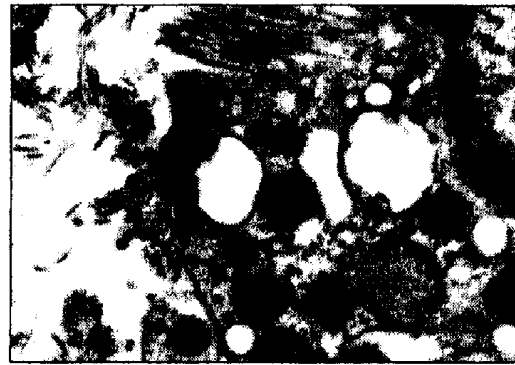


Рис. 4. Ультраструктурні зміни синовіоцитів скакового суглоба при експериментальному остеоартрозі. Електронна мікрофотографія. 36. x10000.

морфологічних змін (рис. 5, 6): редукція гранулярної ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі поєднувалася з набряком мітохондрій, дезорганізацією і зникненням крист.

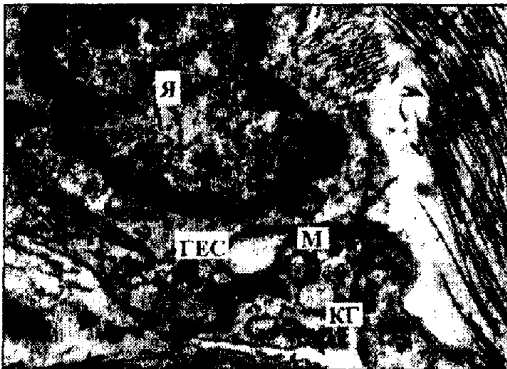


Рис. 5. Нормальний хондроцит поверхневого шару скакового суглоба щура. Я - ядро; ГЕС - гранулярна ендоплазматична сітка; ГК - комплекс Гольджі; М - мітохондрії. Електронна мікрофотографія. 36. x6500.



Рис. 6. Ультраструктурні зміни хондроцитів поверхневого шару скакового суглоба при експериментальному остеоартрозі. В - гігантська вакуоля; Лз - лізосоми. Електронна мікрофотографія. 36. x16000.

Відомо, що одним з джерел протеолітичних ферментів у зоні ушкодження синовії і хондроцитів скакового суглоба у щурів з експериментальним ОА є лізосоми зруйнованих клітин [27]. Крім того, за отриманими нами результатами електронної мікроскопії, в різко змінених поверхневих ділянках хряща зустрічалися лейкоцити, що проникали у зону ураження з синовіальної рідини (рис. 7), які не тільки привносять додатковий протеолітичний потенціал, але й здатні підсилити генерацію активних форм кисню в зоні асептичного запалення внаслідок "респіраторного вибуху" нейтрофілів за дегрануляції лейкоцитів (рис. 8), що призводило до вивільнення нейтральних мастоцитарних протеаз.

Введення флогензиму експериментальним тваринам з остеоартрозом в ранньому періоді розвитку патологічного процесу в суглобах у більшості випадків нормалізувало ультраструктуру синовіоцитів. Навколо синовіальних клітин спостерігалися проколагенові і зрілі колагенові фібрили з властивою поперековою посмугованістю (рис. 9). Утворення останніх супроводжувалося гіпертрофією хондроцитів, які мали кулясте ядро, значну кількість мітохондрій, каналців гранулярної ендоплазматичної сітки та міхурців комплексу Гольджі, що свідчить про інтенсифікацію синтетичних процесів (рис. 10).

Таким чином, застосування системної ензимотерапії з використанням флогензиму на ранніх етапах формування патологічного процесу в суглобах сприяє активації репараційних механізмів, що відновлюють структуру ураженого СХКТ.

У щурів з експериментальним ОА сумарна фібринолітична активність (СФА) СХКТ знижувалася майже втричі за збільшення неферментативного фіб-



Рис. 7. Проникнення лейкоцитів в ушкоджену поверхневу ділянку хряща скакового суглоба при експериментальному остеоартрозі. Електронна мікрофотографія. Зб. x8000.

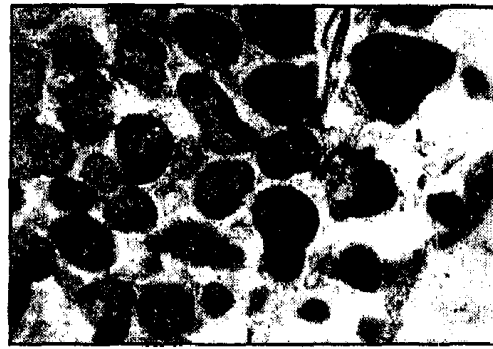


Рис. 8. Дегрануляція лаброцитів у зоні ушкодженої поверхневої ділянки хряща скакового суглоба при експериментальному остеоартрозі. Електронна мікрофотографія. Зб. x8000.

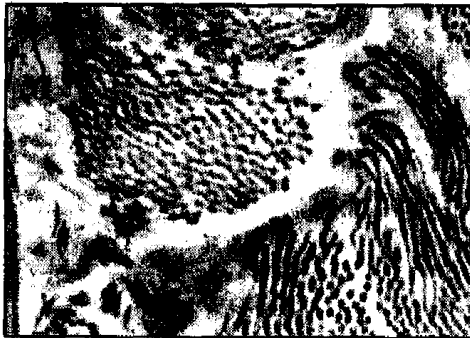


Рис. 9. Колагенові волокна поверхневого шару гіалінового хряща скакового суглоба щурів з експериментальним остеоартрозом, які отримували флогензим. Електронна мікрофотографія. Зб. x8000.

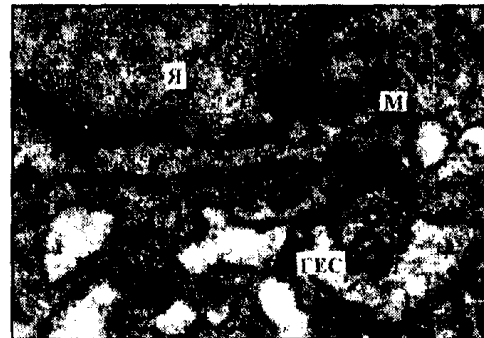


Рис. 10. Гіпертрофія внутрішньоклітинних структур хондроцита у щурів з експериментальним остеоартрозом, які отримували флогензим. Я - ядро; ГЕС - гранулярна ендоплазматична сітка; М - мітохондрії. Електронна мікрофотографія. Зб. x16000.

ринолізу (НФ) в 2,8 раза і зменшення швидкості ензиматичного лізису фібрину (ЕЛФ) в 5,2 раза.

Призначення тваринам флогензиму призводило до дворазового збільшення СФА в СХКТ, що зумовлено виключно підвищенням ЕЛФ, оскільки інтенсивність НФ зменшувалася на 38,0%, внаслідок чого структура тканинного фібринолізу наближалася до такої у тварин контрольної групи.

Отже, зміни тканинного фібринолізу в синовіальній оболонці і хрящі уражених суглобів у ранній період експериментального ОА характеризуються підвищенням НФ за значного пригнічення ЕЛФ і зменшення СФА. Флогензим збільшує інтенсивність ЕЛФ і нормалізує структуру СФА.

За результатами електронно-мікроскопічного аналізу, у щурів з ОА між синовіоцитами скакового суглоба відмічалася маса фібрину, який тісно контактував з цитолемою (рис. 11). При гістологічному дослідженні спостерігалось утворення грануляцій з боку крайового шару синовіальної оболонки, які наростали на хрящ (рис. 12), а деякі з них перетворювалися на фіброзну тканину з формуванням шварт, що вросли і деформували хрящ (рис. 13). Зауважимо, що у тварин з експериментальним ОА, яким призначали флогензим, подібних змін не встановлено (рис. 14). Пригнічення ЕЛФ в СХКТ ураженого остеоартрозом суглоба призводить до відкладання фібрину, який поряд з фібронектином є матрицею для міграції фібробластів (рис. 15) і росту фіброзної тканини. Активація фіброзогенезу зумовлює подальше порушення структур синовії та хряща, чому ефективно запобігає флогензим.

У щурів з експериментальним ОА відбувалися суттєві зміни вмісту цитокінів у СХКТ уражених суглобів: рівень ІІ-1 $\beta$  зростав у 5,2 раза, ФНП $\alpha$  – на 74,6%, ТФР $\beta_1$  – на 92,7%. Під впливом флогензиму відбувалося дворазове

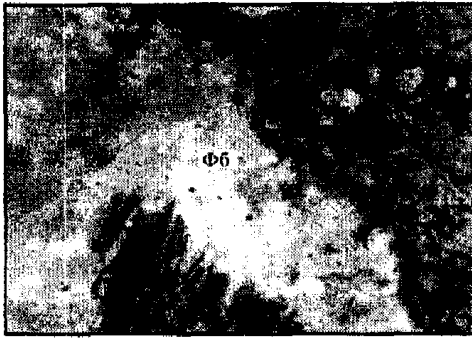


Рис. 11. Скупчення фібрину між синовіоцитами і колагеновими фібрилами у скаковому суглобі у щурів з експериментальним остеоартрозом. Фб - фібрин. Електронна мікрофотографія. 36. x8000.

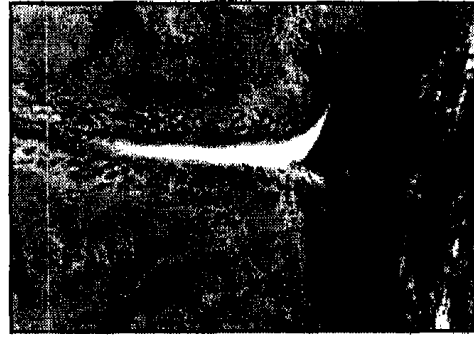


Рис. 12. Скаковий суглоб щура при остеоартрозі. Препарат синовіальної оболонки. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36. x70.



Рис. 13. Спайковий процес у скаковому суглобі при експериментальному остеоартрозі. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36. x70.

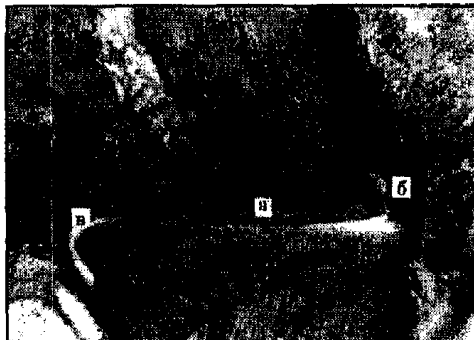


Рис. 14. Скаковий суглоб щурів з експериментальним остеоартрозом, які отримували флогензим: а - гіаліновий хрящ; б - суглобова капсула; в - суглобова порожнина. Забарвлення гематоксилін-еозином. 36. x35.



Рис. 15. Генерація колагену фібробластом у скаковому суглобі щурів з експериментальним остеоартрозом, які отримували флогензим. Електронна мікрофотографія. 36. x8000.

зменшення тканинного вмісту ІЛ-1 $\beta$ , рівень ФНП $\alpha$  знижувався на 34,9% і відповідав контрольним величинам, а кількість ТФР $\beta$ , у синовії і хрящі уражених суглобів збільшувалася відносно контролю в 3,2 раза та на 67,3% перевищувала показники у нелікованих тварин.

Відомо, що генерація активних форм кисню у хондроцитах низька [12], а ксантиноксидоредуктаза активується у відповідь на прозапальні цитокіни – ФНП $\alpha$  та ІЛ1- $\beta$ , які підвищують її оксидазну активність у 2 та 2,5 раза, відповідно [19]. Отже, інтенсифікація утворення кисневих

радикалів з наступною активацією пероксидного окиснення ліпідів у щурів з ОА зумовлена значним підвищенням локальних рівнів ФНП $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$ . Встановлене нами пригнічення активності ферментів протирадикального захисту узгоджується з даними Sumii Hiroshi et al. [26], які показали, що на ранніх стадіях ОА активність СОД у синовіальній рідині хворих на ОА знижується, що вважається маркером деструкції суглобів.

Ще одним підтвердженням ролі прозапальних цитокінів у патогенезі деструктивних змін при ОА є повідомлення про те, що локальний рівень ФНП $\alpha$  позитивно корелює з утворенням інгібітора-1 активатора плазміногену [17]. Це відповідає результатам нашого дослідження: пригнічення ензиматичного лізису фібрину в СХКТ поєднувалося з підвищенням тканинного вмісту ФНП $\alpha$ .

Дегрануляцію лаброцитів у хворих на ОА спостерігали й інші дослідники: встановлено збільшення кількості й активності лаброцитів, які вивільняють триптазу і химазу [9], що викликає розпад колагену II типу [11].

Одержані результати дають підставу вважати, що одним з основних механізмів лікувальної дії системної ензимотерапії при експериментальному ОА є вплив флогензиму на  $\text{TFR}\beta_1$ , підвищення якого, в свою чергу, змінює продукцію прозапальних цитокінів. Відомо, що оброблені  $\text{IL-1}\beta$  остеокласти виробляють фактор, який викликає зруйнування кісткової тканини [14], тоді як  $\text{TFR}\beta_1$  блокує остеокластогенез [21]. Крім того,  $\text{TFR}\beta_1$  активує колагеногенез внаслідок підвищення експресії мРНК колагену [8], знижує синтез прозапальних цитокінів лейкоцитами [13], має імуносупресивні властивості [20] та сприяє утворенню простагліцину, який є потужним дезагрегантом [23].

Щодо впливу флогензиму безпосередньо на трансформувальний фактор росту, зазначимо, що останній складається з двох протеїнів –  $\text{TFR}\alpha$  і  $\text{TFR}\beta$ , які є складовими суперродинами, що включає  $\text{TFR}\beta_{1,2}$ , морфогенетичні кісткові протеїни, активіни та інгібіни.  $\text{TFR}\beta_1$  людини є дисульфідно-зв'язаним негліколізованим гомодимером з молекулярною масою 25 kDa, консервативність якої у ссавців становить майже 100%.  $\text{TFR}\beta_1$  вивільняється з С-термінального кінця дисульфідзв'язаного димера про- $\text{TFR}\beta_1$  під впливом пропротеїнконвертуючої протеази. За нормальних умов  $\text{TFR}\beta_1$  секретується в неактивному або латентному комплексі. Існує 2 типи латентних комплексів. Малий латентний комплекс складається з  $\text{TFR}\beta_1$ , який нековалентно зв'язаний з дисульфідзв'язаним димером N-термінальної частки про- $\text{TFR}\beta_1$ , відомим як асоційований пептид латентності (АПЛ). Великий латентний комплекс додатково містить латентний  $\text{TFR}\beta_1$ -зв'язувальний протеїн (ЛТЗП), який дисульфідно зв'язаний з АПЛ. ЛТЗП полегшує секрецію і доступність латентного  $\text{TFR}\beta_1$ , а протеїн латентності забезпечує стабільність комплексу. Вільний  $\text{TFR}\beta_1$  має період напівжиття біля 2 хв, тоді як "латентний"  $\text{TFR}\beta_1$  – 90 хв. Біологічна активація потребує вивільнення  $\text{TFR}\beta_1$  з латентного комплексу, що моделюється *in vitro* зруйнуванням АПЛ (наприклад, ацидифікацією). Фізіологічний механізм звільнення від латентності, тобто контролю регуляції активності  $\text{TFR}\beta_1$ , залишається нез'ясованим, проте припускається, що таким є протеоліз АПЛ [25].

Не виключено, що підвищення рівня  $\text{TFR}\beta_1$  в уражених ОА суглобах зумовлено впливом флогензиму на вивільнення  $\text{TFR}\beta_1$  з латентного комплексу.

**Висновки.** 1. Ранній період експериментального остеоартрозу характеризується значним підвищенням вмісту в тканинах синовіально-хрящового комплексу прозапальних цитокінів, особливо  $\text{IL-1}\beta$ , що супроводжується збільшенням тканинного рівня  $\text{TFR}\beta_1$ . 2. Призначення щурям з ОА флогензиму підвищує рівень  $\text{TFR}\beta_1$ , тоді як вміст  $\text{IL-1}\beta$  та ФНП $\alpha$  в тканинах уражених суглобів, навпаки, знижується. 3. Збільшення вмісту в синовіально-хрящовому комплексі трансформувального фактора росту  $\beta_1$  у щурів з експериментальним остеоартрозом супроводжується зменшенням інтенсивності генерації активних форм кисню, ліпопероксидації і протеолізу за підвищення ферментативної фібринолітичної активності, що поєднується з покращанням морфологічних характеристик суглобів.

**Література.** 1. Величковский Б.Т., Коркина Л.Г., Сулова Т.Б., Черемисина З.П. Высокочувствительный хемиллюминесцентный метод определения окислительного метаболизма лейкоцитов крови и тканевых макрофагов. Возможные применения в клинической медицине, гигиене, фармакологии // Метод. рекомендации. – М.: Изд-во АМН СССР, 1989. – 10 с. 2. Веремеенко К.Н., Голобородько О.П., Кизим А.А. Протеолиз в норме и при патологии. – К.: Здоров'я, 1988. – 200 с. 3. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19. 4. Кухарчук О.Л. Патогенетична роль та методи корекції інтегративних порушень гормонально-мессенджерних систем регуляції гомеостазу натрію при патології нирок: Автореф. дис... д.мед.н.: 14.03.05 / Одеський мед. ін-т. – Одеса, 1996. – 37 с. 5. Мецишнен И.Ф. Метод определения активности глутатион-S-трансферазы в крови // Применение ферментов в медицине. – Симферополь, 1987. – С. 135. 6. Стальная И.Д., Гаришевили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68. 7. Чевари С., Чаба И., Секкей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения её в биологических материалах // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678-681. 8. Bray P., Agrotis A., Bobik A. Transforming growth factor- $\beta$  and receptor tyrosine kinase-activating growth factors negatively regulate collagen genes in smooth muscle of hypertensive rats // Hypertension. – 1998. – Vol. 31, № 4. – P. 986-994. 9. Bucklen M.G., Gallagher P.J., Walls A.F. Mast cell

subpopulations in the synovial tissue of patients with osteoarthritis: Selective increase in numbers of tryptase-positive, chymase-negative mast cells // *J. Pathol.* - 1998. - Vol. 186, № 1. - P. 67-74.

10. *Cawston T.* The cellular and molecular biology of MMPs and TIMPs in joint erosion: Pap. 4th Int. Symp. Immunother. Rheum. Diseases, [Cyprus], 21-25 May, 1997 // *Ann. Rheum. Diseases.* - 1998. - Vol. 57, № 3. - P. 183.

11. *Freemont A.-J., Byers R.-J., Taiwo Y.O., Hoyland J.A.* In situ zymographic localisation of type II collagen degrading activity in osteoarthritic human articular cartilage // *Ann. Rheum. Diseases.* - 1999. - Vol. 58, № 6. - P. 357-365.

12. *Hiran T.S., Moulton P.J., Hancock J.T.* In situ detection of superoxide anions within porcine articular cartilage // *Brit. J. Biomed. Sci.* - 1998. - Vol. 55, № 3. - P. 199-203.

13. *Hodge G., Flower R., Han P.* Effect of factor VIII concentrate on leucocyte cytokine production: Characterization of TGF-beta as an immunomodulatory component in plasma-derived factor VIII concentrate // *Brit. J. Haematol.* - 1999. - Vol. 106, № 3. - P. 784-791.

14. *Jimi Eijiro, Nakamura Ichiro, Duong Le T. et al.* Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts/stromal cells // *Exp. Cell Res.* - 1999. - Vol. 247, № 1. - P. 84-93.

15. *Kawai Jun, Akiyama Harihiko, Shigeno Chohei et al.* Effects of transforming growth factor-beta signaling on chondrogenesis in mouse chondrogenic EC cells, ATDC5 // *Eur. J. Cell Biol.* - 1999. - Vol. 78, № 10. - P. 707-714.

16. *Moos V., Fickert S., Miller B. et al.* Immunohistological analysis of cytokine expression in human osteoarthritic and healthy cartilage // *J. Rheumatol.* - 1999. - Vol. 26, № 4. - P. 870-819.

17. *Morange P., Alessi M.C., Ventura N. et al.* PAI-1 antigen production by human adipose tissue is correlated with that of TNF-alpha: Abstr. 14th Int. Congr. Fibrinolysis and Thrombolysis, Ljubljana, June 22-26, 1998 // *Fibrinolysis and Proteolysis.* - 1998. - Vol. 12, Suppl. 1. - P. 33.

18. *Oh Masamichi, Fukuda Kanji, Asada Shigeki et al.* Concurrent generation of nitric oxide and superoxide inhibits proteoglycan synthesis in bovine articular chondrocytes: Involvement of peroxynitrite // *J. Rheumatol.* - 1998. - Vol. 25, № 11. - P. 2169-2174.

19. *Page S., Powell D., Benboubetra M. et al.* Xanthine oxidoreductase in human mammary epithelial cells: Activation in response to inflammatory cytokines // *Biochim. et biophys. acta. Gen. Subj.* - 1998. - Vol. 138, № 2. - P. 191-202.

20. *Pearson H.J.L., Stirling D., Ludlam C.A., Steel C.M.* TGF-beta is not the principal immunosuppressive component in coagulation factor concentrates // *Brit. J. Haematol.* - 1999. - Vol. 106, № 4. - P. 971-979.

21. *Rodman G.D.* Osteoclast differentiation and activity // *Biochem. Soc. Trans.* - 1998. - Vol. 26, № 1. - P. 7-13.

22. *Salvatierra J., Escames G., Hernandez P. et al.* Cartilage and serum levels of nitric oxide in patients with hip osteoarthritis // *J. Rheumatol.* - 1999. - Vol. 26, № 9. - P. 2015-2017.

23. *Schini-Kerth V.B., Bassus S., Fisslthaler B. et al.* Aggregating human platelets stimulate the expression of thrombin receptors in cultured vascular smooth muscle cells via the release of transforming growth factor-beta, and platelet-derived growth factor  $\alpha$  // *Circulation.* - 1997. - Vol. 96, № 11. - P. 3888-3896.

24. *Smith M.D., Triantafillou S., Parker A. et al.* Synovial membrane inflammation and cytokine production in patients with early osteoarthritis // *J. Rheumatol.* - 1997. - Vol. 24, № 2. - P. 365-371.

25. *Sporn M.B., Roberts A.B.* The transforming growth factor-beta // *Peptide Grown Factors and Their Receptors.* - New York: Springer-Verlag, 1990. - P. 419.

26. *Sumii Hiroshi, Inoue Hajime, Onoue Jinichi et al.* Superoxide dismutase activity in arthropathy: Its role and measurement in the joints // *Hiroshima J. Med. Sci.* - 1996. - Vol. 45, № 2. - P. 51-55.

27. *Williams R.O.* Rodent models of arthritis: Relevance for human disease // *Clin. and Exp. Immunol.* - 1998. - Vol. 114, № 3. - P. 330-332.

## THE EFFECT OF SYSTEMIC ENZYMOTHERAPY ON THE BASIC MECHANISMS OF AN INFLAMMATORY PROCESS IN THE JOINTS IN CASE OF EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS

*O.V.Pishak, O.L.Kukharchuk*

**Abstract.** It has been demonstrated that the effect of systemic enzymotherapy on an acute inflammation in the joints in experimental osteoarthritis is realized through an increase of the formation of the immunosuppressive transforming growth factor  $\beta_1$  to suppress the local content of interleukin-1b and tumor necrotizing factor  $\alpha$  in the synovial-cartilaginous complex.

**Key words:** osteoarthritis, Flogenzym, cytokines, proteolysis, fibrinolysis, lipoperoxidation.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

*Надійшла до редакції 13.05.2001 року*