

МОДЕЛЬ ОСТЕОАРТРИТА, ИНДУЦИРОВАННОГО МОНОЙОДАЦЕТАТОМ, У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Р.А. Далевич^{1,2,*}, И.А. Дьяченко^{1,2}

¹ Пушчинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 3

² Филиал ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 6

Разработка адекватной биомодели патологического состояния, сопоставимого с клиническим случаем, остаётся актуальной проблемой. Для изучения анальгетической, противовоспалительной активности потенциальных фармакологических веществ разработка модели воспаления с признаками дегенерации хрящевой ткани и болью, индуцированной воспалением, расширит возможности современных подходов. Модель артрита, индуцированного моноиодацетатом (МИА) («Sigma-Aldrich», США), осуществлялась на крысах, внутрисуставно вводили 3 мг МИА в 50 мкл стерильного физ. р-ра в правый коленный сустав. Оценку верификации модели проводили с использованием стандартной терапии нестероидными противовоспалительными средствами (мелоксикам, ибупрофен), введение проводили ежедневно с 3-го по 14-й день после МИА. Воспаление и поведенческие изменения, связанные с болью, оценивали на 3-й, 7-й и 14-й день. На 8-й и 15-й день крыс эвтаназировали и проводили сбор биологического материала (кровь и правый коленный сустав) для гистологического анализа. Измерение концентрации IL-1 β в синовиальной жидкости проводили на 8-е и 15-е сут после введения МИА в коленный сустав крыс. Однократное введение ибупрофена оказывает выраженное анальгетическое действие, не снижает силу хватания лапой, в которую вводили МИА, и предотвращает инвалидизацию животных. В отличие от ибупрофена, селективный ингибитор циклооксигеназы (ЦОГ2) – мелоксикам – способен только снизить механическую гиперчувствительность в тесте фон Фрея. Результаты однократного и курсового введения ингибиторов ЦОГ показали значительные сходства в болевых тестах, но при анализе уровня воспаления суставов регулярное введение исследуемых средств было более эффективным, чем разовое применение. При этом мелоксикам показал превосходство по сравнению с ибупрофеном. Результаты показаны после гистологического анализа коленного сустава, в который вводили МИА. Таким образом, разработана и охарактеризована модель остеоартрита, индуцированного МИА, на лабораторных животных.

Ключевые слова: остеоартрит, моноиодацетат, биомодель, мелоксикам, ибупрофен, крысы

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Далевич Р.А., Дьяченко И.А. Модель остеоартрита, индуцированного моноиодацетатом, у лабораторных животных. *Биомедицина*. 2024;20(3E):176–181. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-176-181>

Поступила 15.04.2024

Принята после доработки 30.09.2024

Опубликована 01.11.2024

MODEL OF MONOIDOACETATE-INDUCED OSTEOARTHRITIS IN LABORATORY ANIMALS

Renata A. Dalevich^{1,2,*}, Igor A. Dyachenko^{1,2}

¹ Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 3

² Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry
of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 6

The development of an adequate biomodel of a pathological condition, comparable to the observed clinical case, remains an urgent problem. In order to study the analgesic and anti-inflammatory activity of potential pharmacological substances, it is important to develop inflammation models with signs of cartilage tissue degeneration and pain induced by inflammation. This extends the capabilities of modern approaches. In this work, a model of arthritis induced by monoiodoacetate (MIA) (Sigma-Aldrich, USA) was carried out on rats. To that end, 3 mg of MIA in 50 μ l of sterile saline solution was administered intra-articularly into the right knee joint. The model was verified using standard therapy with non-steroidal anti-inflammatory drugs (meloxicam, ibuprofen), which were administered daily from day 3 to day 14 after MIA. Inflammation and behavioral changes associated with pain were assessed on days 3, 7, and 14. On days 8 and 15, the rats were euthanized, and biological material (blood and right knee joint) was collected for histological analysis. The concentration of IL-1 β in the synovial fluid was measured on days 8 and 15 after MIA administration to the knee joint of the rats. A single administration of ibuprofen had a pronounced analgesic activity, preventing disability and not weakening the grip strength of the paw into which MIA was administered. At the same time, the selective inhibitor of cyclooxygenase meloxicam was only capable of reducing mechanical hypersensitivity in a von Frey test. Therefore, the effects of a single and course administration were highly similar in terms of the level of influence in pain tests. However, regular administration of cyclooxygenase inhibitors reduced joint inflammation more effectively than a single dose. Meloxicam showed a higher efficiency than ibuprofen in reducing joint inflammation. The results are shown after histological analysis of the knee joint injected with MIA. Thus, a model of osteoarthritis induced by MIA in laboratory animals was developed and characterized.

Keywords: osteoarthritis, monoiodoacetate, biomodel, meloxicam, ibuprofen, rats

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Dalevich R.A., Dyachenko I.A. Model of Monoiodoacetate-Induced Osteoarthritis in Laboratory Animals. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):176–181. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-176-181>

Submitted 15.04.2024

Revised 30.09.2024

Published 01.11.2024

Введение

Артрит — воспалительное заболевание, характеризующееся деградацией поверхности суставов, постоянной болью и гипералгезией. Наиболее распространённым видом артрита является остеоартрит (ОА), от него страдает более 13% взрослого населения. ОА характеризуется прогрессирующей дегенерацией хряща сустава, что приводит к модификации периапфизарной кости,

синовиального сустава и адаптированных тканевых элементов [1, 6]. Традиционная терапия пациентов с ОА направлена на облегчение боли и основана на применении кортикостероидов и нестероидных противовоспалительных средств. Первичный выбор препаратов — ибупрофен и диклофенак, которые ингибируют изоформы циклооксигеназы ЦОГ-1 и ЦОГ-2, а также мелоксикам, преимущественно селективно блокирую-

ший ЦОГ-2, влияя на превращение арахидоновой кислоты в простагландины [10].

Разработка адекватной биомодели патологического состояния, сопоставимого с клиническим случаем, остаётся актуальной проблемой. Для изучения анальгетической, противовоспалительной активности потенциальных фармакологических веществ разработка модели воспаления с признаками дегенерации хрящевой ткани по типу остеоартрита расширит возможности поиска новых соединений, что и определило **цель** настоящей работы.

Материалы и методы

Модель остеоартрита, индуцированного моноиодацетатом (МИА) («Sigma-Aldrich», США), исследовалась на крысах, половозрелых самцах в возрасте 8 недель, масса тела которых на начало эксперимента составляла 213 ± 35 г. Животные были получены из Питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (Московская обл., Пущино). Условия содержания соответствовали стандартам, указанным в «Руководстве по содержанию и использованию животных» («The Guide for Care and Use of Laboratory Animals»). Все манипуляции, проводимые на животных, были рассмотрены и одобрены Институтской комиссией ФИБХ РАН по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных (IACUC).

Анестезию экспериментальных и контрольных животных на 0-й день, перед манипуляциями, проводили золетилом (20–40 мг/кг; «Sante Animale», Франция) и ксилазином (5–10 мг/кг; «Pharmamagis Ltd.»; Венгрия). Животным делали внутрисуставную инъекцию 3 мг МИА в 50 мкл стерильного физ. р-ра в правый коленный сустав. Контрольной группе внутрисуставно вводили такой же объём стерильного физ. р-ра. Левый сустав сохраняли интактным, как и в группах контроля. Тестируемые вещества вводили ежедневно с 3-го по 14-й день после

МИА. Физ. р-р вводили подкожно в объёме 2 мл/кг, мелоксикам (0,5 мг/кг; «Boehringer Ingelheim», Германия) — внутримышечно в объёме 0,3 мл/кг, ибупрофен (40 мг/кг; «Татхимфармпрепараты», Россия) — зондом в желудок в объёме 10 мл/кг.

Воспаление суставов и поведенческие изменения, связанные с болью, оценивали на 3-й, 7-й и 14-й день. На 8-й и 15-й день крыс эвтаназировали и проводили сбор биологического материала (кровь и правый коленный сустав) для гистологического анализа.

Боль после введения МИА оценивали с помощью следующих тестов: спонтанная двигательная активность (тест «Отрытое поле»); термическая анальгезия (тест «Горячая пластина»); механическая ноцицепция (альгометр на основе пинчера); тест «Сила хвата»; механическая чувствительность (тест «Нити фон Фрея»); функциональная активность лап (тест «Распрямление веса между задними лапами»).

Результаты и их обсуждение

Остеоартрит — одно из наиболее распространённых заболеваний суставов, характеризующееся деградацией суставного хряща, склерозом субхондральной кости, вторичным синовитом и хронической болью в суставах, что значительно снижает качество жизни пациентов. Воспаление тканей, сопровождающееся болью, молекулярными и структурными изменениями внеклеточного матрикса, которые снижают гибкость суставов, — всё это является отличительными признаками ОА [7, 8]. Считается, что модель ОА, индуцированная моноиодацетатом (МИА), воспроизводит процессы ОА в клинической практике [2, 9]. Введение МИА в коленный сустав крысы вызывает воспаление и дегенеративные изменения (деградацию хряща, изменения субхондральной кости, синовитальное воспаление) [4, 5]. Болевые ощущения у животных в индуцированной МИА модели воспаления (боль при нагрузке, тактильная

аллодиния и механическая гипералгезия) отражают клинические признаки, характерные для пациентов, страдающих ОА [3].

Была изучена модель с валидацией данных, ибупрофеном (неселективный ингибитор ЦОГ-1 и -2) и мелоксикамом (селективный ингибитор ЦОГ-2).

На 3-й день после введения МИА оценивали воспаление суставов и поведение, связанное с болью, через 60 мин после первого введения тестируемого вещества / физ. р-ра. Ни мелоксикам, ни ибупрофен не смогли уменьшить воспаление после однократного введения. Все тестируемые соединения полностью предотвращали механическую гиперчувствительность после первого введения и на протяжении всего исследования. Ибупрофен достоверно изменял показатели в тесте инвалидности и улучшал силу хвата после однократного введения на 3-й день. Таким образом, однократное введение ибупрофена оказывает выраженную анальгетическую активность, предотвращая инвалидность и не ослабевая силу хватания лапой, в которую вводили МИА. Тогда как селективный ингибитор ЦОГ-2 мелоксикам был способен только снизить механическую гиперчувствительность в тесте фон Фрея.

Эффекты курсового введения тестируемых веществ оценивали на 7-й день (5 дней лечения) и 14-й день (12 дней лечения). Обнаружено значительное влияние МИА на механическую гиперчувствительность и нарушение силы хвата во все временные точки эксперимента. Диаметр суставов и функциональная активность в тесте инвалидности значительно различалась на 3-й и 7-й день. Фармакологическое лечение уменьшили диаметр сустава на 7-й день, подтверждая свою противовоспалительную активность. Многократное введение ибупрофена эффективно предотвращало функциональные нарушения в тесте инвалидности и силы хвата, тогда как мелоксикам был практически неэффективен.

Таким образом, эффекты однократного и курсового введения были очень схожи по уровню влияния в болевых тестах, но регулярное введение ингибиторов циклооксигеназы уменьшало воспаление суставов результативнее, чем однократная доза. Селективный ингибитор ЦОГ-2 показал безопасность, переносимость, а также эффективность в лечении ОА лучше, чем неселективные ингибиторы циклооксигеназы, — как в нашем эксперименте, так и в клинике [12]. Причина их эффективности — более выраженная активность в очаге воспаления. Мелоксикам показал гораздо большую эффективность, чем ибупрофен в уменьшении воспаления суставов после гистологического анализа коленного сустава, в который вводили МИА, следовательно, он может иметь больше преимуществ в лечении хронических заболеваний.

Провоспалительные молекулы (цитокины или нейропептиды) накапливаются в поражённых суставах во время ОА и взаимодействуют с рецепторами на сенсорных нейронах, опосредуя ноцицептивные и нейропатические болевые реакции. Роль IL-1 β в развитии и прогрессировании остеоартрита широко обсуждается. Он индуцирует экспрессию матриксной металлопротеиназы, ответственной за деградацию хряща при ОА, и подавляет синтез протеогликанов [11]. В хирургических моделях ОА IL-1 β однозначно участвует в развитии заболевания, особенно на ранних стадиях [11]. В наших экспериментах мы обнаружили повышение уровня IL-1 β после индукции ОА, но в литературе имеются и другие результаты, полученные в данной модели. Разнонаправленным было действие мелоксикама на концентрацию IL-1 β в синовиальной жидкости. Мелоксикам приводил к значительному снижению концентрации IL-1 β на ранней стадии развития ОА (8-е сут) и не влиял на неё на 15-е сут. Гистологический анализ выявил, что мелоксикам эффективно предотвращает воспалительные изменения

в суставе и защищает хрящ от разрушения, подавляя структурные изменения суставного хряща, которые наблюдаются во всех группах с 8-го по 15-й день.

Выводы

Таким образом, разработана и охарактеризована модель остеоартрита, индуцированного моноиодацетатом, на лаборатор-

ных животных. Полученные результаты с использованием стандартных нестероидных противовоспалительных средств позволили оценить и верифицировать модель как адекватную клиническим случаям. Дальнейшее использование разработанной биомодели позволит изучить в эксперименте новые фармакологически активные вещества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Aspden R.M., Scheven B.A., Hutchison J.D. Osteoarthritis as a systemic disorder including stromal cell differentiation and lipid metabolism. *Lancet*. 2001;357(9262):1118–1120. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)04264-1
2. Combe R., Bramwell S., Field M.J. The monosodium iodoacetate model of osteoarthritis: A model of chronic nociceptive pain in rats? *Neurosci. Lett*. 2004;370(2-3):236–240. DOI: 10.1016/j.neulet.2004.08.023
3. Fernihough J., Gentry C., Malcangio M., Fox A., Rediske J., Pellas T., Kidd B., Bevan S., Winter J. Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee. *Pain*. 2004;112(1-2):83–93. DOI: 10.1016/j.pain.2004.08.004
4. Guingamp C., Gegout-Pottie P., Philippe L., Terlain B., Netter P., Gillet P. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: A dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry. *Arthritis Rheum*. 1997;40(9):1670–1679. DOI: 10.1002/art.1780400917
5. Guzman R.E., Evans M.G., Bove S., Morenko B., Kilgore K. Mono-iodoacetate-induced histologic changes in subchondral bone and articular cartilage of rat femorotibial joints: An animal model of osteoarthritis. *Toxicol. Pathol*. 2003;31(6):619–624. DOI: 10.1080/01926230390241800
6. Liu-Bryan R., Terkeltaub R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol*. 2015;11(1):35–44. DOI: 10.1038/nr-rheum.2014.162
7. Martel-Pelletier J., Barr A.J., Cicuttini F.M., Conaghan P.G., Cooper C., Goldring M.B., Goldring S.R., Jones G., Teichtahl A.J., Pelletier J.P. Osteoarthritis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2016;2:16072. DOI: 10.1038/nrdp.2016.72
8. Neogi D.S., Kumar A., Rijal L., Yadav C.S., Jaiman A., Nag H.L. Role of nonoperative treatment in managing degenerative tears of the medial meniscus posterior root. *J. Orthop. Traumatol*. 2013;14(3):193–199. DOI: 10.1007/s10195-013-0234-2
9. Pomonis J.D., Boulet J.M., Gottshall S.L., Phillips S., Sellers R., Bunton T., Walker K. Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain. *Pain*. 2005;114(3):339–346. DOI: 10.1016/j.pain.2004.11.008
10. Rao P., Knaus E.E. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J. Pharm. Sci*. 2008;11(2):81s–110s. DOI: 10.18433/j3t886
11. Vincent A.T., Schiettekatte O., Goarant C., Neela V.K., Bernet E., Thibeaux R., Ismail N., Mohd Khalid M.K.N., Amran F., Masuzawa T., Nakao R., Amara Korba A., Bourhy P., Veyrier F.J., Picardeau M. Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2019;13(5):e0007270. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007270
12. Yocum D., Castro W., Cornett M. Exercise, education, and behavioral modification as alternative therapy for pain and stress in rheumatic disease. *Rheum. Dis. Clin. North Am*. 2000;26(1):145–159. DOI: 10.1016/s0889-857x(05)70128-9

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Далевич Рената Амировна*, Пушкинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет», Филиал ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН;
e-mail: rdalevich@bk.ru

Renata A. Dalevich*, Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University, Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences;
e-mail: rdalevich@bk.ru

Дьяченко Игорь Александрович, д.б.н., доц.,
Пушкинский филиал ФГБОУ ВО «Российский
биотехнологический университет», Филиал
ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганиче-
ской химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН;
e-mail: dyachenko@bibch.ru

Igor A. Dyachenko, Dr. Sci. (Biol.), Assoc. Prof.,
Pushchino Branch of the Russian Biotechnological
University, Branch of the Shemyakin and Ovchin-
nikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Rus-
sian Academy of Sciences;

e-mail: dyachenko@bibch.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author