

## Эндотелий-зависимые молекулярные механизмы ремоделирования суставного хряща и субхондральной кости в условиях сердечно-сосудистой коморбидности

Кабалык М. А., Невзорова В. А., Коваленко Т. С., Суханова Г. И.

ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России. Владивосток, Россия

**Цель.** Определить уровень экспрессии эндотелиальных факторов (VEGF-A, CD34<sup>+</sup>) в тканях суставов при экспериментальной артериальной гипертензии (АГ), гиперлипидемии (ГЛ) и их сочетании.

**Материал и методы.** Экспериментальное исследование проведено на 24 половозрелых самцах беспородных морских свинок. Все животные были разделены на 4 группы по 6 особей в каждой. В первой группе воспроизводили АГ путем внутримышечных инъекций раствора гидрокартизона. ГЛ у второй группы моделировали при внутрибрюшинной инъекции 1 раз в 3 нед. раствора Твин-80 и модификации рациона. В третьей группе воспроизводили сочетание АГ и ГЛ путем инъекций раствора гидрокартизона, Твин-80 и модификации рациона питания. На 60 сут. животные были выведены из эксперимента эвтаназией. Произведен забор тканей скакательных суставов задних конечностей, в которых с помощью пероксидазной иммуногистохимической реакции определяли экспрессию эндотелиального фактора роста сосудов А (VEGF-A), CD34.

**Результаты.** Установлено, что при экспериментальной АГ в субхондральной кости наблюдается повышенная экспрессия VEGF-A. При экспериментальной ГЛ в суставном хряще и субхондральной кости наблюдается преимущественная индукция VEGF-A и CD34. При комбинированном воздействии сердечно-

сосудистых факторов наблюдается наиболее высокая экспрессия молекулярных механизмов кардиометаболического стресса, включая VEGF-A и CD34.

**Заключение.** Получены результаты, свидетельствующие о том, что сердечно-сосудистые факторы оказывают влияние на суставные ткани. Это позволяет сделать предположение о принадлежности тканей суставов к органам-мишеням сердечно-сосудистых заболеваний и позволяют судить о важной роли сердечно-сосудистой коморбидности в патогенезе дегенеративно-воспалительных заболеваний суставов.

**Ключевые слова:** остеоартрит, артериальная гипертензия, гиперлипидемия, суставной хрящ, субхондральная кость.

**Конфликт интересов:** не заявлен.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2019;18(5):102–107  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2019-5-102-107>

Поступила 30/06-2019

Рецензия получена 22/08-2019

Принята к публикации 02/09-2019



### Endothelium-dependent molecular mechanisms of articular cartilage and subchondral bone remodeling in conditions of cardiovascular comorbidity

Kabalyk M. A., Nevzorova V. A., Kovalenko T. S., Sukhanova G. I.  
Pacific State Medical University. Vladivostok, Russia

**Aim.** To determine the expression level of endothelial factors (VEGF-A, CD34<sup>+</sup>) in the tissues of the joints in experimental arterial hypertension (AH), hyperlipidemia (HL) and their combination.

**Material and methods.** An experimental study was conducted on 24 sexually mature males of outbred guinea pigs. All animals were divided into 4 groups of 6 animals each. In the first group, AH was reproduced by intramuscular injection of a hydrocortisone solution. HL in the second group was simulated by intraperitoneal injection 1 time in 3 weeks of Tween 80 and diet modification. In the third group, the combination of AH and GL was reproduced by injection of a hydrocortisone solution, Tween-80 and diet modification. On the 60-day animals were pull out of the experiment by euthanasia. Hock joint tissue sampling was performed, in which the expression of endothelial vascular growth factor A (VEGF-A), CD34 was determined using a peroxidase immunohistochemical reaction.

**Results.** It was found that during experimental AH, expression of VEGF-A increased in the subchondral bone. In experimental HL,

preferential induction of VEGF-A and CD34 in the articular cartilage and subchondral bone is observed. When combined with cardiovascular factors, the highest expression of the molecular mechanisms of cardiometabolic stress, including VEGF-A and CD34 is observed.

**Conclusion.** The results indicate that cardiovascular factors affect the joint tissue. This allows us to make an assumption that the joint tissues belong to the target organs of cardiovascular diseases and make it possible to judge the important role of cardiovascular comorbidity in the pathogenesis of degenerative inflammatory joint diseases.

**Key words:** osteoarthritis, arterial hypertension, hyperlipidemia, articular cartilage, subchondral bone.

**Conflicts of Interest:** nothing to declare.

Cardiovascular Therapy and Prevention. 2019;18(5):102–107  
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2019-5-102-107>

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: maxi\_maxim@mail.ru,

тел.: +7 (964) 439-79-27

[Кабалык М. А. — к. м. н., доцент института терапии и инструментальной диагностики, ORCID: 0000-0003-0054-0202, Невзорова В. А. — д. м. н., профессор, директор института терапии и инструментальной диагностики, ORCID: 0000-0002-0117-0349, Коваленко Т. С. — лаборант центральной научно-исследовательской лаборатории, ординатор по специальности "терапия", ORCID: 0000-0002-6128-1737, Суханова Г. И. — д. м. н., профессор института терапии и инструментальной диагностики, ORCID: 0000-0002-4933-5085].

Kabalyk M. A. ORCID: 0000-0003-0054-0202, Nevzorova V. A. ORCID: 0000-0002-0117-0349, Kovalenko T. S. ORCID: 0000-0002-6128-1737, Sukhanova G. I. ORCID: 0000-0002-4933-5085.

Received: 30/06-2019 Revision Received: 22/08-2019 Accepted: 02/09-2019

АГ — артериальная гипертензия, ГЛ — гиперлипидемия, ИГХ-реакция — иммуногистохимическая реакция, ОА — остеоартрит, ОП — оптическая плотность, СХ — суставной хрящ, СХК — субхондральная кость, CD34 — мембранный рецептор эндотелия сосудов (маркер ангиогенеза и эндотелиальной дисфункции), SR — средняя площадь ИГХ-реакции, VEGF-A — фактор роста эндотелия сосудов (маркер эндотелиальной дисфункции).

Остеоартрит (ОА) — дегенеративно-воспалительное заболевания суставов, представляющее важную мультидисциплинарную проблему [1]. Это обусловлено множеством патогенетических и клинических причин. В частности, ОА характеризуется высокой связью с сердечно-сосудистыми заболеваниями и диктует необходимость учитывать имеющиеся сердечно-сосудистые риски при выборе терапевтической стратегии [2]. Все больше публикаций свидетельствует в пользу важной роли сердечно-сосудистых факторов в инициации и прогрессировании ОА. В частности, известно, что артериальная гипертензия (АГ), гиперлипидемия (ГЛ), системное сосудистое ремоделирование ассоциированы со структурными и клиническими проявлениями ОА [3, 4]. В понимание причинно-следственных связей вносят результаты исследований, показавших, что формирование сердечно-сосудистых паттернов предшествует дебюту ОА [5].

Ключевыми факторами сердечно-сосудистой коморбидности являются АГ и ГЛ. Изменение свойств эндотелия приводит к системному сосудистому ремоделированию за счет нарушения регуляции сосудистого тонуса, активации молекулярно-клеточных каскадов, способствующих пролиферации и утолщению сосудистой стенки. Финальным эффектом системного сосудистого ремоделирования является тканевая ишемия. Последние годы стало известно, что эндотелиальная дисфункция является не только фактором системного сосудистого ремоделирования, но и патологического (эктопического) ангиогенеза. Было показано, что при АГ фактор роста эндотелия сосудов (VEGF-A) — важный участник эндотелиальной дисфункции экспрессируется в почечной паренхиме экстравазально, участвуя в неоваскуляризации ишемизированной ткани почек, что указывает на системный характер эндотелиальной дисфункции [6].

В условиях эндотелиальной дисфункции активируются не только гуморальные, но и клеточные механизмы. Увеличивается число циркулирующих CD34-позитивных эндотелиоцитов и прогенераторных клеток, которые обладают ангиопротективными свойствами за счет способности восстанавливать поврежденный эндотелий [7]. С другой стороны, высокий уровень CD34 ассоциирован с высоким сердечно-сосудистым риском и ранними изменениями сосудистой стенки. Число CD34 положительных клеток ассоциировано с гипертрофией левого

желудочка и высокой артериальной жесткостью у лиц с ГЛ и АГ [8]. Это свидетельствует о том, что при воздействии сердечно-сосудистых факторов происходит системный сбой регуляции эндотелиальной функции, реализующийся на клеточном и гуморальном уровнях.

Таким образом, учитывая тесную связь сердечно-сосудистых заболеваний и ОА возникает закономерный вопрос о возможных общих механизмах их развития и прогрессирования. Интересным видится вопрос о роли комбинации указанных факторов в ремоделировании тканей суставов. Раскрытие этой области интереса будет способствовать лучшему пониманию роли сердечно-сосудистых факторов риска в развитии ОА.

Цель исследования — определить уровень экспрессии эндотелиальных факторов (VEGF-A, CD34<sup>+</sup>) в тканях суставов при экспериментальной АГ, ГЛ и их сочетании.

## Материал и методы

Экспериментальное исследование проведено на 24 половозрелых самцах беспородных морских свинок (возраст 28-30 нед., вес 750-900 г) в соответствии с положениями Хельсинкской декларации и рекомендациями Директивы Европейского сообщества (86/609 Г.С). Дизайн и протокол экспериментального исследования одобрен междисциплинарным комитетом по этике ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России.

Все животные были разделены на 4 группы по 6 особей в каждой. В первой группе воспроизводили АГ путем внутримышечных инъекций раствора гидрокартизона (Фармак, Украина) в дозе 0,001 мг/г (4 раза/нед.) в сочетании с замещением питьевой воды на 0,9% хлорид натрия. ГЛ у второй группы моделировали при внутривенной инъекции 1 раз в 3 нед. раствора Твин-80 (1,2 мл/кг) и модификации рациона, который включал 50% животных жиров, 40% сахаров и 10% клетчатки. В третьей группе воспроизводили сочетание АГ и ГЛ путем инъекций раствора гидрокартизона, Твин-80 и модификацией рациона питания. Контрольная группа получала сбалансированный рацион. На протяжении эксперимента всем животным проводили еженедельные измерения систолического артериального давления, пульса в плечевой области передней конечности с использованием аппарата ML125/R (ADInstruments, Австрия). На 60 сут. выводили животных из эксперимента передозировкой ксилотила и прометара. В сыворотке крови определяли уровень общего холестерина на биохимическом анализаторе IDEXX (VetTest, США).

Ткани коленных суставов задних лап фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, декальци-

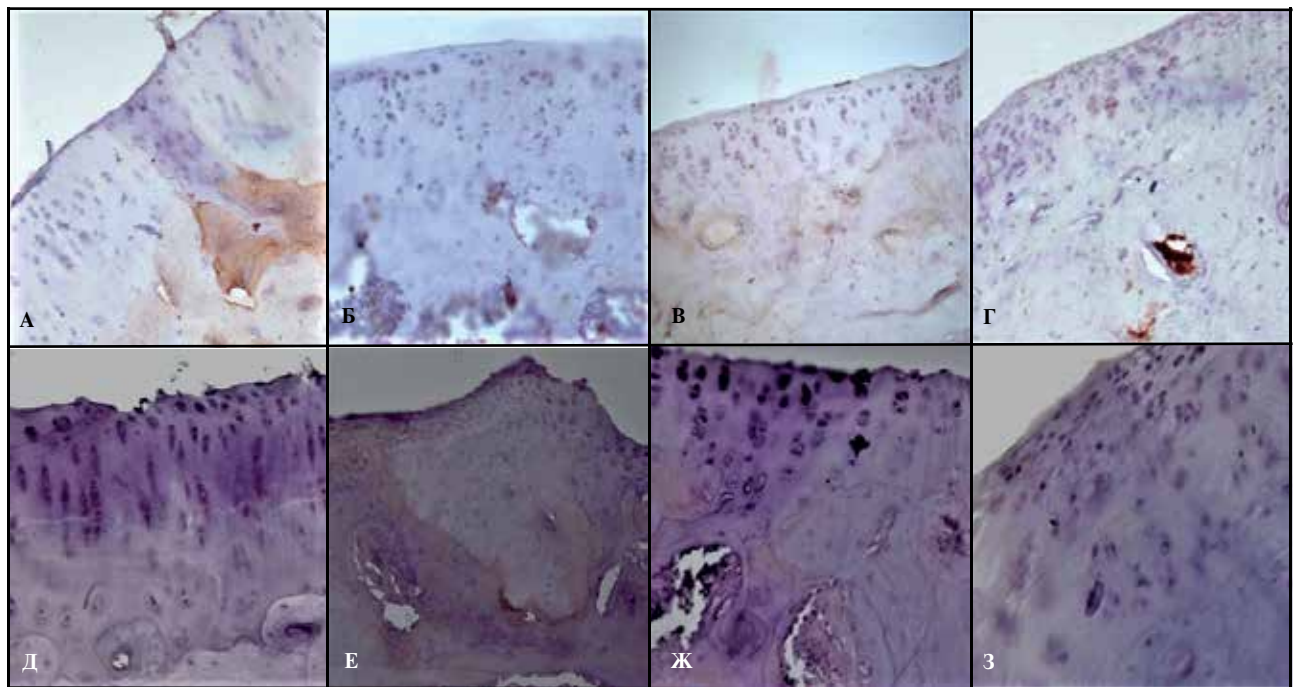


Рис. 1 Экспрессия VEGF-A (фрагменты А-Г), CD34 (фрагменты Д-З) в группах животных с экспериментальной АГ (фрагменты А, Д), ГЛ (фрагменты Б, Е), сочетанием АГ и ГЛ (фрагменты В, Ж) и контрольной группе (фрагменты Г, З).

нировали в электролитном растворе (Biovitrum, Россия), по стандартному методу проводили заключение в парафин и получали срезы толщиной 3 мкм, которые подвергали пероксидазной иммуногистохимической (ИГХ) реакции с целью выявления эндотелиального фактора роста сосудов А (VEGF-A), CD34<sup>+</sup> (CD34). ИГХ-реакцию проводили по общепринятому протоколу, согласно рекомендациям производителя антител. В работе с материалом были использованы первичные моно- и поликлональные антитела авидные к протеинам морских свинок (Abscam, США). Гистологические препараты просматривали в световом микроскопе Olympus U-TV0,35XC-2 (Токио, Япония) при 200-кратном увеличении, и фотографировали при помощи цифрового фотоаппарата Olympus CX41 (Токио, Япония). Морфометрическую оценку полученных изображений осуществляли с помощью программы ImageJ 4.1. Количественную оценку ИГХ-реакции определяли, измеряя плотность преципитата (ОП) и средней площади (SR) гистохимической реакции.

Статистический анализ результатов проводили с помощью Statistica 10.0 (StatSoft, США). Нормальность распределения показателей оценивали по Колмогорову-Смирнову. Поскольку в изучаемых выборках распределение значений было отлично от нормального, полученные данные представляли в виде медианы (Me) и квартилей [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>]. Для оценки достоверности различий при сравнении двух групп переменных использовали U-критерий Манна-Уитни и трех — непараметрический H-критерий Краскела-Уоллиса. Достоверными считали различия показателей при  $p < 0,05$ .

## Результаты

В ходе исследования было изучено содержание маркеров эндотелиальной дисфункции (VEGF-A, CD34) в контрольной группе животных и трех экс-

периментальных группах (рисунок 1). В контрольной группе животных иммуногистохимическая реакция суставного хряща (СХ) на VEGF-A определялась в виде одиночных низкоинтенсивных преципитатов в области околоклеточного матрикса базальных слоев хондроцитов. В субхондральной кости (СХК) единичные преципитаты эндотелиального фактора роста сосудов встречались в центральных частях гаверсовых систем. Высокоинтенсивная реакция на VEGF отмечалась в красном костном мозге. В группе животных с АГ реакция СХ на VEGF-A определялась во всех зонах хряща. Наибольшая интенсивность ее была в надхрящнице, по периферии зон деструкции СХ. В пределах нечеткой остеохондральной линии определялись элементы эктопической сосудистой инвазии по типу неоваскулярной экспансии в СХ с положительной реакцией на VEGF. Максимальная экспрессия VEGF-A обнаруживалась в области контакта СХК с деструкцией СХ. При гиперлипидемии СХ имел положительную реакцию на VEGF-A в области хондроцитарных лакун гипертрофированных хондроцитов во всех слоях хрящевой пластинки. В СХК фактор роста эндотелия сосудов обнаруживался в области очагов несовершенного остеогенеза, красном костном мозге. Максимальная тканевая экспрессия VEGF была в группе животных с сочетанием ГЛ и АГ. VEGF-позитивные преципитаты обнаруживались во всех отделах хрящевой пластинки, вокруг зон деструкции, располагались экстрацеллюлярно вокруг хондроцитов во всех слоях. В СХК реакция на VEGF была гомогенно-положи-

Таблица 1

Показатели интенсивности и относительной площади экспрессии искомым молекул  
в суставном хряще у экспериментальных животных (Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>])

| Показатель | Группы животных                            |                                 |                                  |                   | Н-критерий     |
|------------|--------------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------|
|            | I (АГ)                                     | II (ГЛ)                         | III (АГ+ГЛ)                      | Контроль          |                |
| VEGF-A     |                                            |                                 |                                  |                   |                |
| ОП, о.е.   | 32,5 [31,1; 36,4] <sup>§</sup>             | 56,8 [50,1; 61,0] <sup>*§</sup> | 64,7 [63,1; 68,1] <sup>*†§</sup> | 16,7 [15,0; 20,1] | 19,9, p=0,0002 |
| SR, %      | 16,0 [12,0; 18,0] <sup>§</sup>             | 26,3 [25,1; 29,4] <sup>*§</sup> | 36,5 [31,0; 38,0] <sup>*†§</sup> | 9,0 [8,0; 10,0]   | 21,6, p=0,0001 |
| CD34       |                                            |                                 |                                  |                   |                |
| ОП, о.е.   | 17,7 [17,1; 19,0] <sup>§</sup>             | 70,9 [64,6; 73,2] <sup>*§</sup> | 63,1 [60,2; 64,8] <sup>*§</sup>  | 12,6 [11,0; 14,6] | 21,6, p=0,0001 |
| SR, %      | 9,3 [7,9; 10,8] <sup>§</sup> z=2,2, p=0,03 | 27,9 [25,9; 29,0] <sup>*§</sup> | 15,0 [14,4; 15,8] <sup>*†§</sup> | 4,7 [3,8; 6,8]    | 21,6, p=0,0001 |

Примечание: \* — различия статистически значимы по сравнению с первой группой (артериальная гипертензия) при p<0,05, † — различия статистически значимы по сравнению со II группой (гиперлипидемия) при p<0,05, § — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой при p<0,05.

Таблица 2

Показатели интенсивности и относительной площади экспрессии искомым молекул  
в субхондральной кости у экспериментальных животных (Ме [Q<sub>25</sub>; Q<sub>75</sub>])

| Показатель | Группы животных                |                                 |                                  |                   | Н-критерий     |
|------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------|
|            | I (АГ)                         | II (ГЛ)                         | III (АГ+ГЛ)                      | Контроль          |                |
| VEGF-A     |                                |                                 |                                  |                   |                |
| ОП, о.е.   | 82,4 [80,0; 84,1] <sup>§</sup> | 54,6 [52,2; 58,6] <sup>*§</sup> | 67,8 [66,0; 70,0] <sup>*†§</sup> | 34,4 [31,8; 38,4] | 21,2, p=0,0001 |
| SR, %      | 57,0 [55,3; 60,1] <sup>§</sup> | 36,5 [33,6; 38,9] <sup>*§</sup> | 46,9 [45,7; 47,6] <sup>*†§</sup> | 10,8 [9,2; 11,4]  | 21,0, p=0,0001 |
| CD34       |                                |                                 |                                  |                   |                |
| ОП, о.е.   | 43,3 [42,7; 44,6] <sup>§</sup> | 77,7 [72,6; 80,0] <sup>*§</sup> | 60,5 [58,1; 61,4] <sup>*†§</sup> | 15,5 [13,9; 17,5] | 21,9, p=0,0001 |
| SR, %      | 39,6 [38,2; 41,1] <sup>§</sup> | 50,5 [48,5; 51,6] <sup>*§</sup> | 45,3 [44,6; 46,0] <sup>*†§</sup> | 6,5 [5,6; 7,6]    | 21,3, p=0,0001 |

Примечание: \* — различия статистически значимы по сравнению с первой группой (артериальная гипертензия) при p<0,05, † — различия статистически значимы по сравнению со II группой (гиперлипидемия) при p<0,05, § — различия статистически значимы по сравнению с контрольной группой при p<0,05.

тельной в области сформированного остеоподобного матрикса на месте компактной части СХК.

Тканевая реакция на CD34 определялась в базальной части СХ в виде мембранных преципитатов молодых хондроцитов. В СХК реакция на CD34 в контрольной группе была выражена слабо за исключением костномозговых лакун. При экспериментальной АГ CD34 имел низкоинтенсивную ИГХ-реакцию в суставном хряще, которая была выражена в большей степени в базальной зоне. В области остеохондральной линии CD34 определялся в составе очагов эктопической неоваскуляризации. В условиях АГ CD34 определялся в области каналов костной резорбции и элементов несовершенного остеогенеза. У животных с ГЛ CD34 определялся в базальной зоне СХ, остеохондральной линии. При этом CD34 имел более выраженную реакцию в составе эктопических очагов ретикуло-эндотелия на границе с СХ. В группе комбинации сердечно-сосудистых факторов хондроциты верхней и средней зоны имели реакцию на CD34. Наиболее выраженной данная реакция была в области деструкции хряща. В СХК CD34 обнаруживали в виде гомогенных отложений в зоне дна хрящевых деструкций, очагов неоваскуляризации и несовершенного остеогенеза.

Тканевую экспрессию искомым молекул оценивали с помощью интегральной оптической плотности и относительной площади ИГХ-реакции в СХ (таблица 1) и СХК (таблица 2). Плотность преципитатов VEGF-A в СХ была статистически значимо выше в 3 группе животных, у которых моделировали сочетание АГ и ГЛ, по сравнению с 1-й, 2-й и контрольной группами — z=3,2 (p=0,001); z=2,5 (p=0,01); z=3,5 (p<0,001), соответственно. Оптическая плотность (ОП) преципитата тканевой реакции на VEGF-A в СХ во второй группе была статистически значимо выше относительно группы животных с АГ и контрольной группы — z=2,9 (p=0,004); z=3,2 (p<0,001), соответственно. В 1-й группе интенсивность реакции эндотелиального фактора роста сосудов в хряще была достоверно выше относительно контроля (z=2,6, p=0,008), но наименьшей среди экспериментальных групп (H=19,9, p=0,0002).

Площадь реакции на VEGF-A в хрящевой ткани суставов была статистически значимо выше при сочетании сердечно-сосудистых факторов относительно групп АГ, ГЛ и контроля — z=3,3 (p=0,001); z=2,4 (p=0,01); z=3,2 (p<0,001), соответственно. В группе животных с экспериментальной ГЛ площадь VEGF-A-реакции в СХ была достоверно выше относительно группы АГ и контроля — z=2,7

( $p=0,006$ );  $z=2,9$  ( $p=0,004$ ), соответственно. У животных с АГ относительная площадь ИГХ-реакции на VEGF-A была значимо выше относительно группы контроля ( $z=2,2$ ,  $p=0,03$ ) и минимальной среди экспериментальных групп ( $N=21,6$ ,  $p=0,0001$ ).

Эндотелиальный маркер CD34, измеренный в ИГХ-реакции по оптической плотности, был статистически значимо выше в СХ животных 2-й группы относительно 1-й группы и контроля —  $z=2,9$  ( $p=0,004$ );  $z=3,5$ , ( $p<0,001$ ), соответственно, не имела различий по сравнению с 3-й группой животных ( $z=1,7$ ,  $p=0,06$ ). ОП CD34 в хрящевой ткани 3-й группы была достоверно выше по сравнению с 1-й и контрольными группами —  $z=3,3$  ( $p<0,001$ );  $z=3,2$  ( $p<0,001$ ), соответственно. Наименьшие значения ОП реакции хряща на CD34 среди экспериментальных групп были зафиксированы у животных с экспериментальной АГ ( $N=21,6$ ,  $p=0,0001$ ). Площадь позитивной реакции на CD34 в СХ была достоверно наибольшей во 2-й группе относительно 1-й, 3-й и контрольных групп —  $z=2,9$  ( $p=0,004$ );  $z=2,9$  ( $p=0,004$ );  $z=3,2$  ( $p<0,001$ ), соответственно. В группе ГЛ значения показателя SR CD34 были достоверно выше по сравнению с группами АГ и контроля —  $z=2,6$  ( $p=0,008$ );  $z=2,9$  ( $p=0,004$ ), соответственно. У животных с АГ площадь ИГХ-реакции была достоверно выше по сравнению с контрольной группой ( $z=2,2$ ,  $p=0,03$ ), но была наименьшей среди экспериментальных групп ( $N=21,6$ ,  $p=0,0001$ ).

В СХК оптическая плотность ИГХ-реакции VEGF-A была статистически значимо выше в 1-й группе (АГ) по сравнению со 2-й, 3-й и контрольной —  $z=2,7$  ( $p=0,006$ );  $z=-2,9$  ( $p=0,004$ );  $z=3,3$  ( $p<0,001$ ), соответственно. У животных с ГЛ и АГ (3-я группа) ОП реакции на VEGF-A была достоверно выше относительно 2-й и контрольной групп животных —  $z=2,5$  ( $p=0,01$ );  $z=3,2$  ( $p<0,001$ ), соответственно. Наименьшая экспрессия VEGF-A в СХК среди экспериментальных групп наблюдалась во 2-й группе (21,2,  $p=0,0001$ ), но была достоверно выше по сравнению с контрольной группой ( $z=3,2$ ,  $p<0,001$ ).

Площадь тканевой реакции на VEGF-A в СХК была также статистически значимо выше при АГ относительно 2-й, 3-й групп и контроля —  $z=3,0$  ( $p=0,003$ );  $z=2,9$  ( $p=0,004$ );  $z=3,5$  ( $p<0,001$ ), соответственно. В группе животных с экспериментальным сочетанием АГ и ГЛ площадь VEGF-A-реакции в СХК была достоверно выше относительно группы ГЛ и контроля —  $z=2,6$  ( $p=0,009$ );  $z=3,5$  ( $p<0,001$ ), соответственно. У животных с ГЛ данный показатель ИГХ-реакции на VEGF-A был значимо выше относительно группы контроля ( $z=3,3$ ,  $p<0,001$ ) и минимальной среди экспериментальных групп ( $N=21,0$ ,  $p=0,0001$ ).

Маркер сосудистого эндотелия CD34, измеренный в ИГХ-реакции по ОП, был статистически значимо выше в СХК животных 3-й группы относительно 1-й, 2-й и контрольной групп —  $z=1,1$  ( $p=0,3$ );  $z=2,9$  ( $p=0,004$ );  $z=3,3$  ( $p<0,001$ ), соответственно. ОП CD34 в костной ткани в группе АГ была достоверно выше по сравнению со 2-й и контрольными группами —  $z=-2,7$  ( $p=0,006$ );  $z=2,5$  ( $p=0,01$ ), соответственно. Наименьшие значения ОП реакции СХК на CD34 среди экспериментальных групп были зафиксированы у животных с экспериментальной ГЛ ( $N=20,1$ ,  $p=0,0002$ ). Площадь положительной реакции СХК на CD34 была достоверно выше во 2-й группе относительно 1-й, 3-й и контрольных групп —  $z=2,8$  ( $p=0,005$ );  $z=2,4$  ( $p=0,02$ );  $z=3,5$  ( $p<0,001$ ), соответственно. В группе животных с экспериментальной ГЛ значения показателя SR CD34 в СХК были достоверно выше по сравнению с группами АГ и контроля —  $z=2,8$  ( $p=0,005$ );  $z=3,4$  ( $p<0,001$ ), соответственно. У животных с АГ площадь ИГХ-реакции была достоверно выше по сравнению с контрольной группой ( $z=3,2$ ,  $p<0,001$ ), но была наименьшей среди экспериментальных групп ( $N=21,3$ ,  $p=0,0001$ ).

## Обсуждение

В условиях экспериментального воспроизведения АГ, ГЛ и их сочетания в тканях суставов наблюдается активация VEGF-A, увеличивается число CD34-позитивных клеток. Это дает основание предположить, что в условиях ангиометаболического стресса в суставных тканях развивается тканевая гипоксия, которая приводит к снижению pH. Тканевой ацидоз, как было показано [9] (2010), приводит к снижению экспрессии хондроцитами гена коллагена I типа (*COL1*), активирует экспрессию VEGF. Известно, что тканевой VEGF-A представляет собой димерный гликопротеин массой 40–45 кДа. Связываясь с рецептором VEGFR-2 фактор роста эндотелия сосудов стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиоцитов, повышает сосудистую проницаемость [10]. Аногенный эффект VEGF-A заключается в пролиферации CD34<sup>+</sup> эндотелиальных клеток-предшественников [11]. В свою очередь CD34<sup>+</sup> в физиологических условиях способствуют неоваскуляризации и стабилизации эндотелия через фосфатидил-инозитол-3-киназы (PI3K) — Akt-зависимую активацию эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [12]. Однако в СХ, который является бессосудистой тканью, и в низковаскуляризированной СХК стимуляция CD34-положительных клеток способствует патологическому ангиогенезу, пролиферации костной ткани и ремоделированию тканей суставов [13].

В представленном исследовании установлено, что при экспериментальной АГ в СХК наблюдается повышенная экспрессия VEGF-A. Полученные

результаты позволяют предположить, что в условиях АГ формируется дисфункция эндотелия, приводящая к активации неэндотелиального VEGF-A, что способствует формированию гипертрофической дифференцировки хондроцитов и патологической неоваскуляризации СХ [14].

При экспериментальной ГЛ в СХ и СХК наблюдается преимущественная индукция VEGF-A и CD34. Выявленные молекулярные особенности влияния системной ГЛ на ткани суставов можно объяснить способностью липидов депонироваться в суставном хряще [3]. Отложение липидов в тканях, как известно, приводит к активации матричных металлопротеиназ и деградации межклеточного матрикса. С другой стороны, окисление липидов ведет к NADPH-зависимому окислительному стрессу [4]. Накопление активных форм кислорода в свою очередь запускает эндотелиальную и экстравазальную экспрессию VEGF-A, способствует миграции и дифференцировки CD34-позитивных клеток [15]. Было показано (2016), что количество CD34-положительных эндотелиоцитов в СХК при ОА ассоциировано с выраженностью субхондрального склероза, что позволило авторам предположить важную роль ангиопролиферации в патогенезе ОА [13].

При комбинированном воздействии кардиоваскулярных факторов наблюдается наиболее высокая экспрессия молекулярных механизмов кардио-

метаболического стресса, включая VEGF-A и CD34. Это позволяет судить о том, что комбинация двух ключевых управляемых факторов сердечно-сосудистой коморбидности способствует синергичному сочетанию описанных механизмов, приводя в конечном итоге к неоваскуляризации и ремоделированию соединительной ткани СХ и СХК.

## Заключение

Таким образом, получены результаты, свидетельствующие о том, что сердечно-сосудистые факторы оказывают влияние на суставные ткани. Изученный процесс реализуется, в т.ч. через эндотелиальную дисфункцию, антигенные факторы и, как показали проведенные исследования, способен приводить к неадаптивному ремоделированию СХ и СХК. Это позволяет сделать предположение о принадлежности тканей суставов к органам-мишеням сердечно-сосудистых заболеваний. Полученные данные позволяют судить о важной роли сердечно-сосудистой коморбидности в патогенезе дегенеративно-воспалительных заболеваний суставов, могут способствовать разработке стратегии совместной профилактики сердечно-сосудистых и суставных заболеваний.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

## Литература/References

- Kabalyk MA. Prevalence of osteoarthritis in Russia: regional aspects of the dynamics of statistical indicators for 2011-2016. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya*. 2018;56(4):416-22. (In Russ.) Кабалык М.А. Распространенность остеоартрита в России: региональные аспекты динамики статистических показателей за 2011–2016 гг. *Научно-практическая ревматология*. 2018;56(4):416-22. doi:10.14412/1995-4484-2018-416-422.
- Oganov RG, Simanenkov VI, Bakulin IG, et al. Comorbidities in clinical practice. Algorithms for diagnostics and treatment. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2019;18(1):5-66. (In Russ.) Оганов Р.Г., Симаненков В.И., Бакулин И.Г. и др. Коморбидная патология в клинической практике. Алгоритмы диагностики и лечения. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2019;18(1):5-66. doi:10.15829/1728-8800-2019-1-5-66.
- Tiku ML, Shah R, Allison GT. Evidence linking chondrocyte lipid peroxidation to cartilage matrix protein degradation. Possible role in cartilage aging and the pathogenesis of osteoarthritis. *J Biol Chem*. 2000;275(26):20069-76.
- Kabalyk MA. Molecular phenotypes of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2018;26(1):173. doi:10.1016/j.joca.2018.02.376.
- Radovanovic CA, dos Santos LA, Carvalho MD, Marcon SS. Arterial hypertension and other risk factors associated with cardiovascular diseases among adults. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2014;22(4):547-53.
- Holwerda KM, Burke SD, Faas MM, et al. Hydrogen sulfide attenuates sFlt1-induced hypertension and renal damage by upregulating vascular endothelial growth factor. *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(4):717-25. doi:10.1681/ASN.2013030291.
- Daub K, Langer H, Seizer P, et al. Platelets induce differentiation of human CD34+ progenitor cells into foam cells and endothelial cells. *FASEB J*. 2006;20(14):2559-61.
- Marketou ME, Kalyva A, Parthenakis FI, et al. Circulating endothelial progenitor cells in hypertensive patients with increased arterial stiffness. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2014;16(4):295-300. doi:10.1111/jch.12287.
- Das RH, van Osch GJ, Kreukniet M, et al. Effects of individual control of pH and hypoxia in chondrocyte culture. *J Orthop Res*. 2010;28(4):537-45. doi:10.1002/jor.20994.
- Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling — in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(5):359-71.
- Kamei N, Atesok K, Ochi M. The Use of Endothelial Progenitor Cells for the Regeneration of Musculoskeletal and Neural Tissues. *Stem Cells Int*. 2017;2017:1960804. doi:10.1155/2017/1960804.
- Urbich C, Dimmeler S. Risk factors for coronary artery disease, circulating endothelial progenitor cells, and the role of HMG-CoA reductase inhibitors. *Kidney Int*. 2005;67(5):1672-6.
- Geurts J, Patel A, Hirschmann MT, et al. Elevated marrow inflammatory cells and osteoclasts in subchondral osteosclerosis in human knee osteoarthritis. *J Orthop Res*. 2016;34(2):262-9. doi:10.1002/jor.23009.
- Studer D, Millan C, Öztürk E, et al. Molecular and biophysical mechanisms regulating hypertrophic differentiation in chondrocytes and mesenchymal stem cells. *Eur Cell Mater*. 2012;24:118-35.
- Lassègue B, San Martín A, Griendling KK. Biochemistry, physiology, and pathophysiology of NADPH oxidases in the cardiovascular system. *Circ Res*. 2012;110(10):1364-90. doi:10.1161/CIRCRESAHA.111.243972.