

## Стимуляция репаративной регенерации суставного хряща под влиянием низкомолекулярной фракции кордовой крови (до 5 кДа)

UDC 616.72-018.3:615.361.018.5.013.8

A.K. GULEVSKY\*, V.I. GRISCHENKO, E.G. IVANOV

## Stimulation of Reparative Regeneration of Articular Cartilage Under the Effect of Cord Blood Low Molecular Fraction (below 5 kDa)

Изучали особенности репаративной регенерации суставного хряща у крыс под влиянием низкомолекулярной фракции (до 5 кДа), выделенной из криогемолизата кордовой крови, и препарата сравнения “Актовегина”. Установлены особенности биохимического состава хрящевой ткани в условиях эксперимента. Рентгенологически выявлено положительное морфологическое изменение состояния хрящевой ткани. Проведенное исследование показало нормализацию двигательной активности крыс к 28 суткам эксперимента.

**Ключевые слова:** репаративная регенерация, хрящ, жидкий азот, кордовая кровь, “Актовегин”, оксипролин, тирозин, гексозамин, гексуроновые кислоты, гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, гепарин.

Вивчали особливості репаративної регенерації суглобного хряща у щурів під впливом низкомолекулярної фракції (до 5 кДа), виділеної з криогемолізату кордової крові, та препарату порівняння “Актовегін”. Встановлені особливості біохімічного складу хрящової тканини в умовах експерименту. Рентгенологічно виявлена позитивна морфологічна зміна стану хрящової тканини. Проведене дослідження показало нормалізацію рухової активності щурів на 28 добу експерименту.

**Ключові слова:** репаративна регенерація, хрящ, рідкий азот, кордова кров, “Актовегін”, оксипролін, тирозин, гексозамін, гексуронові кислоти, гіалуронова кислота, хондроїтинсульфати, гепарин.

There were studied the features of reparative regeneration of articular cartilage in rats under the effect of low molecular fraction (below 5 kDa), isolated from cord blood cryohemolysate and the reference substance “Actovegin”. The peculiarities of biochemical composition of cartilage tissue under experimental conditions were established. Positive morphological change in cartilage tissue state was radiologically shown. The research performed demonstrated the normalisation of locomotor activity in rats to the 28<sup>th</sup> day of research.

**Key-words:** reparative regeneration, cartilage, liquid nitrogen, Actovegin, oxyproline, tyrosine, hexosamine, hexuronic acids, hyaluronic acid, chondroitin sulfates, heparin.

Одной из актуальных задач современной травматологии является эффективное лечение поврежденных суставного хряща различной этиологии. Среди лекарственных препаратов, способствующих репаративной регенерации хряща, наиболее эффективны те, в состав которых включены гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат и глюкозамин (“Артрон”, “Хондроксид”, “Терафлекс”). Их действие связано с активацией ферментных систем хондроцитов, ответственных за синтез элементов матрикса хряща по типу обратной связи [4–6]. Кроме того, существуют препараты, активирующие энергетический обмен в хондроцитах за счет низкомолекулярной фракции (до 5 кДа) из крови телят (“Солкосерил” и “Актовегин”). В результате наших исследований [2] сделано предположение, что препарат на основе низкомолекулярной фракции (до

One of the actual tasks in current traumatology is an efficient treatment of articular cartilage damages of different etiology. Among the drugs, contributing to the cartilage reparation, the most efficient are those, comprising hyaluronic acid, chondroitin sulfate and glucosamine (“Arthron”, “Chondroxide”, “Theraflex”). Their effect is associated to the activation of chondrocyte enzyme systems, responsible for the feedback synthesis of cartilage matrix elements [4–6]. In addition, there are the preparations, activating an energetic metabolism in chondrocytes due to a low molecular fraction (below 5 kDa) from calf blood (“Solcoseryl” and “Actovegin”). As a result of our research [2], the preparation, based on a low molecular fraction (below 5 kDa) of bovine blood, isolated from cattle cord blood cryohemolysate, was suggested as capable to stimulate the cartilage tissue regeneration.

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 373-41-35, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: cryo@online.kharkov.ua

\* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 4135, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

5 кДа) крови коров, выделенной из криогемолизата кордовой крови крупного рогатого скота, может стимулировать регенерацию хрящевой ткани.

Цель работы – изучение особенностей регенерации суставного хряща крыс после механической травмы, применения низкомолекулярной фракции из кордовой крови коров и “Актовегина”.

### Материалы и методы

Низкомолекулярную фракцию кордовой крови (ФКК) коров выделили по методу [2]. Исследования выполняли на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 290–310 г.

Животных распределили на 4 группы по 10 особей в каждой: 1 – здоровые животные (норма); 2 – животные с травмой хряща, не получавшие лечения (контроль); 3 – экспериментальные животные с травмой хряща, которым в течение всего срока исследования внутримышечно вводили ФКК в дозе 1,17 мг на 100 г массы тела (группа ФКК); 4 – экспериментальные животные с травмой хряща, которым в течение всего срока исследования внутримышечно вводили “Актовегин” (Nycomed, Австрия) в дозе 1,17 мг на 100 г массы тела (группа “Актовегин”).

Механический дефект хряща был осуществлен [3, 7] электрической бормашиной с наконечником в форме усеченного конуса (длина рабочей поверхности наконечника составляет 4 мм, диаметр внизу – 0,7 мм, вверху – 0,5 мм) высверливанием отверстия в хряще (дистальный отдел бедренной кости от межмышечковой зоны вглубь метадиафиза) длиной 4 мм и диаметром до 0,7 мм.

На 7, 14, 21 и 28-е сутки с момента моделирования механического повреждения хряща коленного сустава оценивали состояние двигательной активности крыс по методу [1], а также определяли содержание биохимических компонентов матрикса в регенерате хряща: тирозина [6], гексозамина [8], оксипролина [12], гексуриновых кислот [9], гиалуроновых кислот, гепарина и хондроитинсульфатов (гликозаминогликаны) [6]. Сразу после моделирования механической травмы хряща и на 28-е сутки наблюдения с помощью аппарата РУМ-4 (Россия) проведено рентгенологическое исследование поврежденного участка.

Эксперименты проведены в соответствии с “Общими принципами экспериментов на животных”, одобренными II Национальным конгрессом по биоэтике (20.09.04, Киев, Украина) и согласованными с положениями “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей” (Страсбург, 1985).

The research aim is to study the regeneration peculiarities of articular cartilage in rats after mechanical trauma, application of low molecular fraction from bovine cord blood and “Actovegin”.

### Materials and methods

The low molecular bovine cord blood fraction (CBF) was isolated according to the method [2]. The research was done in 40 Wistar male rats of 290–310 g.

Animals were divided into 4 groups by 10 individuals in each: 1 – healthy animals (the norm); 2 – the animals with cartilage trauma, non-treated (the control); 3 – experimental animals with cartilage trauma with CBF intramuscular injection in the dose of 1.17 mg per 100 g of body weight within the whole research period (CBF group); 4 – those with cartilage trauma with intramuscular injection of “Actovegin” (Nycomed, Austria) in the dose of 1.17 mg per 100 g of body weight within the whole research period (“Actovegin” group).

Mechanical cartilage defect was done [3, 7] using an electric drill with a handpiece in the form of flattened cone (4 mm length of handpiece operative surface, 0.7 and 0.5 mm of upper and lower diameters, correspondingly) by drilling the hole in the cartilage (femur distal part from an intercondylar area into the depth of methadiaphys) of 4 mm length and up to 0.7 mm diameter.

To the 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup>, 21<sup>st</sup> and 28<sup>th</sup> days from the moment of modelling of knee joint cartilage mechanical damage there was assessed the state of locomotor activation in rats by the method [1], as well as the content of biochemical component of matrix in cartilage regenerate: tyrosine [6], hexosamine [8], oxypoline [12], hexuronic acids [9], hyaluronic acids, heparin and chondroitin sulfate (glycosaminoglycans) [6] was determined. Right after modelling the cartilage mechanical damage and to the 28<sup>th</sup> observation day using the RUM-4 device (Russia) there was performed an X-ray study of a damaged site.

Experiments were done according to the “General ethical principles of experiments in animals”, approved by the 2<sup>nd</sup> National Congress on Bioethics (Kiev, 2004) and agreed with the statements of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985).

The data were statistically processed with the Microsoft Excel 2003 software using the Mann-Whitney U-test.

### Results and discussion

Cord blood and the one of animals of early ontogenesis has quite a high biological potential, stipulated

Данные статистически обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel 2003 с использованием U-критерия Манна-Уитни.

### Результаты и обсуждение

Кордовая кровь и кровь животных раннего онтогенеза обладает чрезвычайно высоким биологическим потенциалом, который обусловлен сбалансированностью специфических компонентов, поддерживающих и активирующих клеточный метаболизм. Особый интерес в этом отношении представляет низкомолекулярная фракция (до 5 кДа) кордовой крови крупного рогатого скота, которая способна стимулировать клеточный метаболизм, что в частности было установлено для “Солкосерила” и “Актовегина”, полученных из онтогенетически близкого источника – крови молочных телят [2].

Установлено, что ФКК стимулирует образование хрящевой ткани после механической травмы, однако рентгенологический анализ показал, что даже на 28-е сутки дефект хряща сохраняется. В группе животных с введением ФКК площадь повреждения на 28-е сутки составляла 7 мм<sup>2</sup>, что достоверно меньше, чем в контроле и больше, чем в группе с введением “Актовегина” (рис. 1).

Интенсивность образования хрящевой ткани определяется биосинтезом в хондроцитах матрикса гексозамина, гексуруновых кислот, тирозина, оксипролина, гиалуроновой кислоты, гепарина, хондроитинсульфатов и активностью фибробластов, синтезирующих соединительнотканые элементы регенерата хряща [6, 10, 11].

Данные о содержании гликозаминогликановых и протеогликановых компонентов в ткани хряща на 21-е сутки после нанесения травмы представлены в таблице.

Под влиянием ФКК и “Актовегина” в регенерате хряща достоверно увеличивается содержание всех исследуемых биохимических компонентов матрикса хрящевой ткани, особенно гиалуроновой кислоты. После введения “Актовегина” уровень последней в регенерате хряща выше в 6,3 раза, чем в группе животных, не получавших лечения. Под влиянием ФКК содержание гиалуроновой кислоты увеличивается всего в 3,3 раза по сравнению с группой животных, не получавших лечения. Однако к 21-м суткам наблюдения после применения ФКК и “Актовегина” содержание гиалуроновой кислоты значительно ниже, чем в группе здоровых животных.

Установлено, что под влиянием ФКК содержание хондроитинсульфатов увеличивается в 4,2 раза по сравнению с группой животных, не получавших лечения, а под влиянием препарата сравнения “Актовегина” – в 2,4 раза. Вместе с тем к 21-м суткам

with the balance of specific components, supporting and activating their cell metabolism. Of special interest in this respect is low molecular fraction (below 5 kDa) of cattle cord blood, enabling to sharply increase the cell energetic potential, in particular this was established for “Solcoseryl” and “Actovegin” originated from the ontogenetically close source, vealer blood [2].

It has been established that CBF stimulates the formation of cartilage tissue after mechanical trauma but X-ray analysis has shown the preservation of cartilage defect even to the 28<sup>th</sup> day. In the group of CBF-injected animals the area of damage to the 28<sup>th</sup> day made 7 mm<sup>2</sup>, that was statistically lower than in the control and higher if compared with the group with “Actovegin” (Fig. 1).

Intensity of cartilage formation is determined by biosynthesis in chondrocytes of matrix of hexosamine, gexuronic acids, tyrosine, oxypoline, hyaluronic acid, heparin and chondroitin-sulfates and activity of fibroblasts, synthesizing connective tissue elements of cartilage regenerate [6, 10, 11].

The data on the content of glucosamine glycans and proteoglycan components in cartilage tissue after trauma initiation are presented in the table.

Under CBF effect and “Actovegin” in the cartilage regenerate the content of all the studied biochemical components of cartilage tissue matrix increases, especially of hyaluronic acid. After “Actovegin” introduction the level of the latter in cartilage regenerate is 6.3 times higher than in the group of non-treated animals. Under CBF effect the content of hyaluronic acid increases only in 3.3 times if compared with the group of non-treated animals. However to the 21<sup>st</sup> observation day after application of CBF and “Actovegin” the content

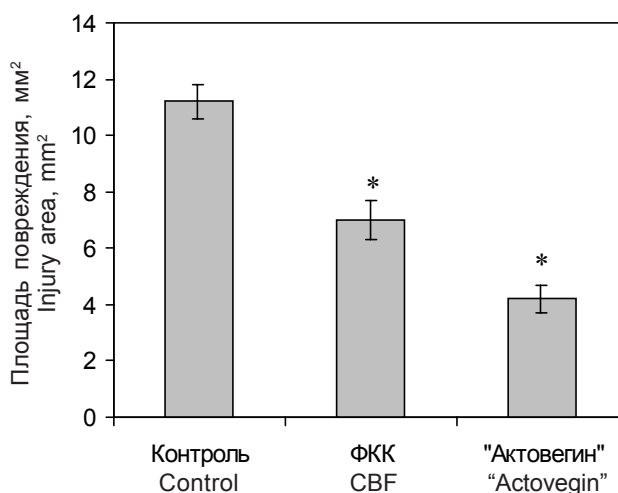


Рис. 1. Площадь повреждения хряща на 28-е сутки, вычисленная по рентгенограммам: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой животных, не получавших лечения.

Fig. 1. Injury cartilage area to 28<sup>th</sup> day, calculated with X-ray patterns: \* –  $p < 0.05$  if compared with the group of non-treated animal

Содержание основных элементов матрикса в регенерате хряща после его механической травмы на 21-е сутки  
Content of matrix basic elements in cartilage regenerate after its mechanic trauma to the 21<sup>st</sup> day

Группы животных Animal groups	Гексозамин, мг/% Hexosamine, mg/%	Гексуруновые кислоты, мг/% Hexuronic acids mg/%	Гиалуроновая кислота, мг/% Hyaluronic acid, mg/%	Хондроитин-сульфаты, мг/% Chondroitin sulfates, mg/%	Гепарин, мг/% Heparin, mg/%
Группа здоровых животных (1) Healthy animal group (1)	0,63 ± 0,02*	1,4 ± 0,069*	0,34 ± 0,034*	0,23 ± 0,004*	0,21 ± 0,009*
Группа животных, не получавших лечения (2) Group of non-treated animals (2)	0,34 ± 0,029	0,61 ± 0,03	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,007	0,07 ± 0,007
ФКК (3) CBF (3)	0,64 ± 0,032*	1,01 ± 0,076*	0,14 ± 0,02*	0,17 ± 0,012*	0,15 ± 0,013*
"Актовегин" (4) "Actovegin" (4)	0,66 ± 0,045*	1,08 ± 0,071*	0,26 ± 0,017*	0,1 ± 0,009*	0,15 ± 0,01*
Хрящевая ткань нетравмированной конечности Cartilage tissue of non-traumatized limb	0,6 ± 0,014*	1,43 ± 0,082*	0,31 ± 0,018*	0,22 ± 0,008*	0,23 ± 0,003*

**Примечание:** \* –  $p < 0,05$  по сравнению с группой животных, не получавших лечения.

**Note:** \* –  $p < 0.05$  if compared with the group of non-treated animals.

наблюдения содержание хондроитинсульфатов в хрящевой ткани опытных животных существенно ниже, чем в группе здоровых.

Аналогичную картину наблюдали при исследовании гексозамина, уровень которого при использовании ФКК и "Актовегина" повышался соответственно в 1,7 и 1,8 раза по сравнению с контрольной группой животных. Важно отметить, что при введении ФКК и препарата сравнения уровень гексозамина достоверно не отличался от такового в группе здоровых животных, что свидетельствует о стимуляции метаболизма.

В опытных группах и группе животных, не получавших лечения, отмечено различное содержание гепарина. В частности, под влиянием ФКК его содержание в регенерате хряща увеличивается в 2,1 раза. Содержание гепарина в регенерате хряща при введении ФКК и "Актовегина" незначительно отличается от такового в группе здоровых животных.

Аналогичные изменения выявлены при исследовании содержания в регенерате хряща гексуруновых кислот: под влиянием ФКК и препарата сравнения оно увеличивается в 1,6 и 1,7 раза соответственно по сравнению с группой животных, не получавших лечения. После применения ФКК и "Актовегина" уровень гексуруновых кислот в регенерате хряща был ниже в 1,3 и 1,4 раза соответственно, чем в группе здоровых животных.

Для изучения механизма действия ФКК и "Актовегина" на регенерацию хряща оценивали содержание основных компонентов матрикса не только в самом регенерате хряща опытных животных, но и в хрящевой ткани здоровой конечности

of hyaluronic acid is significantly lower than in the group of healthy animals.

It has been established that under the effect of CBF the content of chondroitin-sulfates increases in 4.2 times versus the group of non-treated animals, and under the effect of "Actovegin" it was in 2.4 times higher. In addition to the 21<sup>st</sup> observation day the content of chondroitin sulfates in cartilage tissue of experimental animals was significantly lower than in the group of healthy ones.

The same picture was observed when investigating hexosamine, the level of which when using CBF and "Actovegin" increased, correspondingly, in 1.7 and 1.8 times if compared with the control group of animals. It is important to note that during introduction of CBF and the preparation to compare the level of hexosamine did not statistically differ from that in the group of healthy animals, that testified to a high stimulation of metabolism.

In experimental groups and the one of non-treated animals different content of heparin was noted. In particular, under the CBF effect its content in cartilage regenerate increases in 2.1 times. Heparin content in cartilage regenerate when introducing CBF and "Actovegin" slightly differs from that in the group of healthy animals.

The same changes were found when investigating the content of hexuronic acids in cartilage regenerate: under CBF effect and the preparation to compare it increases in 1.6 and 1.7 times, correspondingly with the group of non-treated animals. After application of CBF and "Actovegin" the level of hexuronic acids in cartilage regenerate was lower in 1.3 and 1.4 times, correspondingly versus the group of healthy animals.

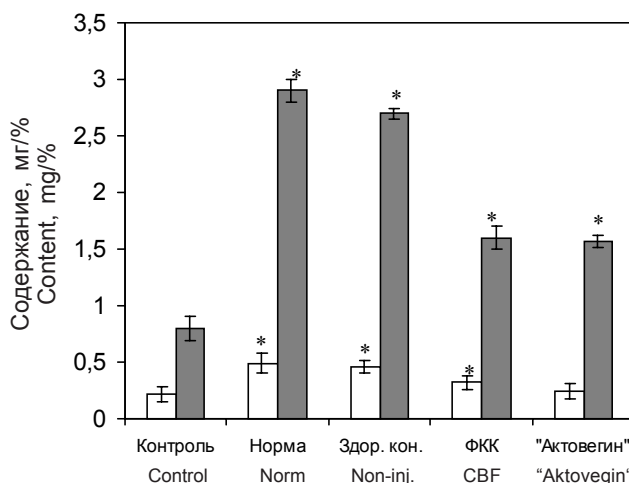
тех же крыс. Из данных таблицы, можно заключить, что ФКК и препарат сравнения достоверного влияния на содержание компонентов матрикса не оказывают, что, вероятнее всего, свидетельствует о их направленном биологически активном действии на пораженную хрящевую ткань.

В дальнейшем изучали влияние ФКК и “Актовегина” на концентрацию в регенерате хряща оксипролина и тирозина, по уровню которых можно определить содержание коллагеновых и неколлагеновых белков хряща [6, 10, 11], являющихся критерием активности фибробластов и хондроцитов в травмированном хряще [4, 12].

Из рис. 2 видно, что содержание тирозина в регенерате хряща групп животных с введением ФКК и “Актовегина” вдвое выше по сравнению с группой животных, не получавших лечения. В случае применения ФКК и “Актовегина” уровень тирозина к 21-м суткам после нанесения травмы ниже в 1,9 раза, чем в группе здоровых животных. Содержание оксипролина в регенерате хряща после применения ФКК в 2 раза выше по сравнению с группой животных, не получавших лечения, в то время как после введения препарата сравнения значительных изменений по сравнению с контрольными животными не выявлено. Установлено, что содержание оксипролина в регенерате хряща после применения ФКК меньше в 1,2 раза, чем в группе здоровых животных. Очевидно, что ФКК значительно стимулирует синтез оксипролина в пораженной хрящевой ткани. Как и при исследовании протеогликановых компонентов, не выявлены достоверные отличия в содержании данных аминокислот в хряще здоровой конечности опытных животных по сравнению с нормой.

Таким образом, исследование биохимических показателей позволило установить, что внутримышечное введение ФКК стимулирует накопление основных элементов матрикса и соединительнотканых элементов хряща на протяжении всего срока эксперимента. Это объясняет более быстрое восстановление структурно-функциональных свойств травмированного хряща под влиянием препарата ФКК по сравнению с контролем.

Для более точного установления эффективности проведенного лечения изучали динамику двигательной активности экспериментальных животных. Из рис. 3 видно, что введение ФКК и “Актовегина” стимулирует нормализацию двигательной активности значительно быстрее (на 7-е сутки – в 1,7 и 1,6 раза, 14-е сутки – в 1,4 и 1,3 раза соответственно, 21 и 28-е сутки – 1,2 раза) по сравнению с группой животных, не получавших лечения. Достоверные отличия влияния ФКК и “Актовегина” по сравнению с группой животных, не получавших лечения, отмечены уже на 7-е сутки наб-



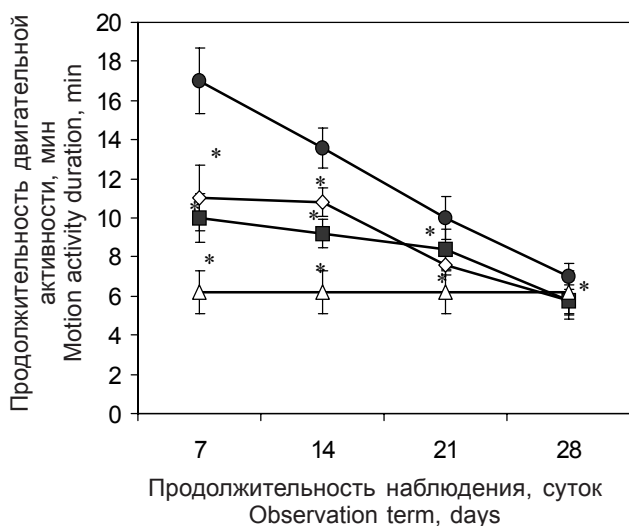
**Рис. 2.** Содержание аминокислот в регенерате хряща на 21-е сутки: ■ – тирозин; □ – оксипролин; Здор. кон. – здоровая конечность животных опытных групп; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

**Fig. 2.** Content of aminoacids in cartilage regenerate to the 21<sup>st</sup> day: ■ – tyrosine; □ – oxyproline; Non-inj. – non-injured limb of animal experimental groups; \* –  $p < 0.05$  if compared with the control.

To study the effect mechanisms of CBF and “Actovegin” on cartilage regeneration the content of main matrix components not only in the cartilage regenerate itself and in cartilage tissue of rat’s healthy extremity was studied. The table data show that CBF and the preparation to compare render no statistically significant effect on the content of the matrix components, likely testifying to their directed active effect on the impaired cartilage tissue.

Later there was studied the effect of CBF and “Actovegin” on concentration of oxyproline and tyrosine in cartilage regenerate, according to the level of those the content of collagen and non-collagen cartilage proteins [6, 10, 11], being the criteria of the activity of fibroblasts and chondrocytes in the traumatized cartilage may be examined [4, 12].

Fig. 2 demonstrates that the content of tyrosine in cartilage regenerate of the animals from the groups injected with CBF and “Actovegin” was twice higher if compared with those non-treated. In case of applying the CBF and “Actovegin” tyrosine level to the 21<sup>st</sup> day of trauma initiation was lower in 1.9 times, than in the group of healthy animals. Oxyproline content in cartilage regenerate after application of CBF is two times higher if compared with the group of non-treated animals, meanwhile after injection of the preparation to compare no significant changes versus non-treated animals were found. It has been established that oxyproline content in cartilage regenerate after application of CBF is 1.2 times less than in the group of healthy animals. It is evident that CBF strongly stimulates the synthesis of oxyproline in a damaged cartilage tissue. As well as during studying the proteoglycan compo-



**Рис. 3.** Динамика двигательной активности крыс: △ – норма; ● – контроль; ◆ – “Актовегин”; ■ – ФКК; \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем.

**Fig. 3.** Dynamics of rats' motion activity: △ – norm; ● – control; ◆ – “Actovegin”; ■ – CBF; \* –  $p < 0.05$  if compared with the control.

людения. Достоверных отличий влияния ФКК и “Актовегина” на двигательную активность крыс не выявлено. У животных, не получавших лечения, двигательная активность не восстанавливалась даже к 28-м суткам.

### Выводы

Установлено, что ФКК и “Актовегин” в эквивалентных дозах стимулируют накопление основных компонентов матрикса в регенерате хряща (гексоамина, гексуроновых кислот, гиалуроновой кислоты, гепарина и хондроитинсульфатов), а также важнейших аминокислот (оксипролина и тирозина), отражающих содержание коллагеновых и неколлагеновых элементов хряща. Это позволяет сделать заключение о положительном влиянии обоих препаратов на репаративную регенерацию хряща. Полученные экспериментальные данные подтверждены рентгенологическим исследованием хряща и результатами функциональной диагностики конечности подопытного животного. При сопоставлении ФКК и “Актовегина” выявлено, что эффективность ФКК практически аналогична действию “Актовегина” в эквивалентных дозах.

### Литература

1. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологической активности. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
2. Гулевский О.К., Грищенко В.И., Моисеева Н.М. Властивості і перспективи використання кордової крові в клінічній практиці // Укр. журн. гематології та трансфузіології. – 2005, №4. – С. 5–14.

nents no statistically significant differences were found in the content of these amino acids in the cartilage of healthy extremity of experimental animals if compared with the norm.

Thus the investigation of biochemical indices demonstrates that intramuscular injection of CBF significantly stimulates the accumulation of the main elements of the matrix and connective tissue elements in cartilage within the whole experimental term. This explain more rapid recovery rates of the traumatized cartilage if compared with control.

For elucidation of the efficiency of the performed treatment the dynamics of motor activity of experimental animals was studied. Fig. 3 shows that injection of CBF and “Actovegin” stimulates the normalization of motor activity much more rapid (to the 7<sup>th</sup> day in 1.7 times and 1.6 times, to the 14<sup>th</sup> in 1.4 and 1.3 times, correspondingly, to the 21<sup>st</sup> and 28<sup>th</sup> days in 1.2 times) if compared with the group of non-treated animals. Significant differences of the effect of CBF and “Actovegin” if compared with the group of non-treated animals were found even to the 7<sup>th</sup> observation day. Statistically significant differences of CBF and “Actovegin” effect on motor activity in rats were not revealed. In non-treated animals the motor activity did not recover even to the 28<sup>th</sup> day.

### Conclusions

It has been established that CBF and “Actovegin” under equivalent doses stimulate the accumulation of main components of the matrix in cartilage regenerate (hexosamine, hexuronic acids, hyaluronic acid, heparin and chondroitin sulfates), as well as the most important amino acids (oxyproline and tyrosine), reflecting the content of collagen and non-collagen cartilage elements. This enables to conclude about positive effect of both preparations on cartilage reparative regeneration. The experimental findings are confirmed with X-ray examination of the cartilage and the results of functional diagnostics of the limbs of experimental animal. When comparing CBF and “Actovegin” there was found that the efficiency of CBF is quite similar to the one of “Actovegin” under equivalent doses.

### References

1. Gatsura V.V. Methods of initial pharmacological study of biological activity. – Moscow: Meditsina, 1974. – 143 p.
2. Gulevsky O.K., Grischenko V.I., Moiseeva N.M. Peculiarities and perspectives of cord blood use in clinical practice// Ukrainiy Zhurnal Gematologii ta Transfuziologii. – 2005. – N4. – P. 5–14.
3. Malyshkina S.V. Structure-metabolic changes of articular cartilage after local cryoeffect: Authors' abstract of thesis of candidate of biol. sciences. – Kharkov, 1985. – 22 p.
4. Pavlova V.N., Kop'eva T.N., Slutskiy L.I., Pavlov G.G. Cartilage. – Moscow: Meditsina, 1988. – 320 p.

3. *Мальшикина С.В.* Структурно-метаболические изменения суставного хряща после локального криовоздействия: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.– Харьков, 1985.– 22 с.
4. *Павлова В. Н., Копьева Т. Н., Слуцкий Л. И., Павлов Г. Г.* Хрящ.– М.: Медицина, 1988.– 320 с.
5. *Риггз Б.Л., Мелтон III Л.Дж.* Остеопороз.– М.-СПб.: Издательство БИНОМ, “Невский диалект”, 2000.– 560 с.
6. *Слуцкий Л.И.* Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. – Л.: Медицина, 1969.– 376 с.
7. *Тарасенко В.И.* Криовоздействие при артропластике тазобедренного сустава: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.– Харьков, 1989.– 18 с.
8. *Boas N.P.* Method for the determination of hexosamines in tissues // J. Biol. Chem.– 1953. – Vol. 204, N2.– P. 553–562.
9. *Dische Z.* A new specific color reaction of hexuronic acid // J. Biol. Chem.– 1947.– Vol. 167, N1.– P. 189–198.
10. *Jordan J.M., Helmick C.G., Renner J.B. et al.* Prevalence of knee symptoms and radiographic and symptomatic knee osteoarthritis in African Americans and Caucasians: The Johnston County Osteoarthritis Project // J. Rheumatol.– 2007.– Vol. 34, N1.– P. 172–180.
11. *Kongtawelert P., Francis D.L., Brooks P.M., Ghosh P.* Application of an enzyme-linked immunosorbent-inhibition assay to quantitate the release of KS peptides into fluids of the rat sub-cutaneous air pouch model and the effects of chondroprotective drugs on the release process // Rheumatol. Int.– 1989.– Vol. 9, N2.– P. 77–83.
12. *Stegemann H., Stalder P.* Determination of hydroxiprolin // Clin. Chim. Acta.– 1967.– Vol. 18, N2.– P. 267–273.
5. *Riggz B.L., Melton L.J.* Osteoporosis.– Saint Petersburg: BINOM, Nevsky dialect, 2000.– 560 p.
6. *Slutsky L.I.* Biochemistry of normal and pathologically changed connective tissue.– Leningrad: Meditsina, 1969.– 376 p.
7. *Tarasenko V.I.* Cryoeffect at hip joint arthroplasty: Authors' abstract of thesis of candidate of med. sciences.– Kharkov, 1989.– 18 p.
8. *Boas N.P.* Method for the determination of hexosamines in tissues // J. Biol. Chem.– 1953. – Vol. 204, N2.– P. 553–562.
9. *Dische Z.* A new specific color reaction of hexuronic acid // J. Biol. Chem.– 1947.– Vol. 167, N1.– P. 189–198.
10. *Jordan J.M., Helmick C.G., Renner J.B. et al.* Prevalence of knee symptoms and radiographic and symptomatic knee osteoarthritis in African Americans and Caucasians: The Johnston County Osteoarthritis Project // J. Rheumatol.– 2007.– Vol. 34, N1.– P. 172–180.
11. *Kongtawelert P., Francis D.L., Brooks P.M., Ghosh P.* Application of an enzyme-linked immunosorbent-inhibition assay to quantitate the release of KS peptides into fluids of the rat sub-cutaneous air pouch model and the effects of chondroprotective drugs on the release process // Rheumatol. Int.– 1989.– Vol. 9, N2.– P. 77–83.
12. *Stegemann H., Stalder P.* Determination of hydroxiprolin // Clin. Chim. Acta.– 1967.– Vol. 18, N2.– P. 267–273.

*Accepted in 16.08.2009*

*Поступила 16.08.2009*