

РОЛЬ АНТИАПОПТОЗНОЇ СКЛАДОВОЇ У МЕХАНІЗМІ РЕАЛІЗАЦІЇ ХОНДРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ПРЕПАРАТУ «АРТРИТАН»

Набока Ю. М., Зупанець І. А., Шебеко С. К., Отрішко І. А.

Кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

clinpharm@nuph.edu.ua

Апоптоз є одним із видів клітинної загибелі, при якому клітина сама активно ініціює і реалізує своє руйнування. Характерними для апоптозу є наступні морфологічні та біохімічні маркери: конденсація хроматину і фрагментація ДНК; поява на поверхні клітини специфічних маркерів; зморщування клітини і втрата контактів із сусідніми клітинами та матриксом; зміна ядерної мембрани; вакуолізація та утворення апоптозних тілець. У суглобовому хрящі у відповідь на здавлювання, механічне ушкодження, порушення трофіки чи експериментальний вплив відбуваються процеси апоптозу, який є основним механізмом загибелі хондроцитів при остеоартрозі. При цьому формується патологічний процес, що супроводжується надмірною активацією процесів вільнорадикального окиснення. Саме виникнення вільних радикалів у мітохондріях, наслідком якого є перекисне окиснення ліпідів, що призводить до виходу цитохрому С з мітохондрій, і запускає апоптоз клітин суглобового хряща. У світлі провідної ролі апоптозу у розвитку ОА обґрунтованим представляється використання лікарських препаратів, які б зменшували явища перекисного окиснення, таким чином, стримуючи запрограмовану загибель хондроцитів. З іншого боку, дослідження рівня апоптозу клітин суглобового хряща внаслідок терапії класичними «протиартрозними» препаратами (НПЗП, хондропротектори) може слугувати одним з маркерів їх терапевтичної ефективності. Отже, дослідження апоптозу – важливий та високоінформативний елемент вивчення ушкодження хряща.

Оцінку впливу комбінованого препарату для внутрішнього застосування, що є сумішшю препаратів «Артритан», «Неврин» та «Нефролік» у співвідношенні 1:1:0,5 (комбінація АНН) у дозі 0,1 мл/кг на процеси апоптозу хондроцитів проводили імуногістохімічно на напівтонких парафінових зрізах методом TUNEL-реакції.

При співставленні рівня апоптозу інтактних тварин і тварин з експериментальною патологією безсумнівним є той факт, що клітинна загибель – важливий компонент, який характеризує розвиток ОА. Якщо у інтактних щурів рівень апоптозу суглобового хряща знаходився у межах 1-2 %, то після впливу дексаметазону від 40 до 60 % клітин знаходились на тій чи іншій стадії апоптозної загибелі.

При використанні дослідної комбінації АНН число TUNEL-позитивних клітин, що містять чітко профарбоване ядро і цито-плазматичні мітки, знижувалось до 15,0 %, що в 3 рази менше, ніж у тварин з групи контрольної патології. У ряді мікропрепаратів дані клітини спостерігались у всіх шарах суглобового хряща, а у деяких – тільки в проміжному. При цьому в полі зору мікроскопа, як правило, перебувало від 4 до 7 апоптозних клітин.

Більшість зафіксованих випадків апоптозу характеризувалися полі-

морфізмом. Так, значна частина TUNEL-позитивних клітин перебувала на початковій стадії процесу, що візуалізувалося фарбуванням по периметру ядра. При цьому у багатьох випадках апоптозні мітки були виражені вкрай слабо, що говорить про низький ступінь дефрагментації ядерного матеріалу. Лише поодинокі апоптозні клітини були на стадії завершення процесу, що характеризувалося повним стисканням ДНК ядра у щільну пікнотичну грудочку з інтенсивно чорним забарвленням.

При цьому структура тканини у мікропрепаратах характеризувалася слабо вираженими патологічними змінами. У багатьох зразках щільність клітин залишалася високою, зональність їх розташування відповідала нормі. В окремих випадках були відзначені незначні безклітинні поля. Кількість ізогенних груп клітин і їх число слабо відрізнялися від інтактної групи, але, в той же час, в них спостерігалися явища апоптозу. У ряді випадків спостерігалися запустілі лакуни.

На відміну від вищеописаної картини, лікування тварин препаратом «Артрон Флекс» у дозі 50 мг/кг призводило до дещо більшого зниження частки апоптозних хондроцитів – до 12,5 %, що у 3,6 разу менше, ніж в групі контрольної патології. У ході дослідження TUNEL-позитивні клітини виявлялися не тільки в глибоких і проміжних зонах, але й, у тому числі, у поверхневому шарі. Як правило, в полі зору визначалося не більше 4-5 TUNEL-позитивних клітин, проте в окремих випадках на малоклітинних ділянках до 7-8 клітин мали ядерні та цитоплазматичні апоптозні мітки. При цьому їх забарвлення варіювало від синього до темно-фіолетового. У той же час, у деяких мікропрепаратах випадки апоптозу хондроцитів носили поодинокий характер і визначалися також у поверхневій та проміжній зонах хряща.

У ході проведених досліджень найбільш значущий вплив на запобігання чи уповільнення апоптозної загибелі хондроцитів було відмічено під впливом референтного препарату «Артрон Флекс», але при застосуванні дослідної комбінації АНН також спостерігалась вагома антиапоптозна дія на рівні референтного засобу. Слід відмітити, що обидва препарати і тестовий, і референтний чинили вірогідний вплив у порівнянні з щурами групи контрольної патології, але при цьому все ж таки статистично не досягали показників інтактної групи.

Отже, результати проведених досліджень підтвердили вагому роль антиапоптозної складової у механізмі впливу дослідної комбінації на дистрофічно змінену хрящову тканину. За умов розвитку модельної патології даний препарат підвищує захисні властивості хондроцитів до впливу проапоптозного фактору – дексаметазону і при цьому за рівнем антиапоптозної активності не поступається референс-препарату «Артрон Флекс». Слід зазначити, що антиапоптозна складова є найвагомим елементом в механізмі реалізації хондропротекторної дії дослідної комбінації АНН. Таким чином, за результатами проведених досліджень дослідна комбінація АНН може бути оцінена як засіб, що проявляє хондропротекторну активність на рівні відомих препаратів-хондропротекторів з перспективою подальшого застосування у пацієнтів із дегенеративно-дистрофічними захворюваннями суглобів, зокрема, з ОА, особливо у разі виявлення хронічного вираженого суглобового синдрому або формуванні вторинного ОА.