

Рекомендована д.м.н., професором М.О.Коржем

УДК 615.012:542.9+615.272+615.276

МЕТАБОЛІЗМ КОЛАГЕНУ ПРИ ЛІКУВАННІ ДИСТРОФІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ КОМБІНАЦІЄЮ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ З ПАРАЦЕТАМОЛОМ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

І.А.Зупанець, В.О.Туляков

Національний фармацевтичний університет

Показано, що найбільш перспективним серед досліджених є композиція глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом, яка виявила виражений анаболічний ефект при інгібуванні руйнування колагену в умовах кортикостероїдної дистрофії. Результати кількісного аналізу макромолекул сполучної тканини свідчать про істотну активацію білково-синтетичних процесів у експериментальних тварин внаслідок лікування композицією глюкозаміну гідрохлориду із парацетамолом у співвідношенні 4:1 у дозі 50 мг/кг, що підтверджується перерозподілом вмісту фракцій оксипроліну в сироватці їх крові. Так, у порівнянні з показниками контрольної групи у щурів з експериментальною кортикостероїдною дистрофією сполучної тканини, пролікованих зазначеною композицією, у сироватці крові було більше фракції білково-зв'язаного оксипроліну, що є показником біосинтетичної активності. У той же час катаболічні процеси, оцінювані за рівнем вільного оксипроліну, залишалися незмінними, що означає недостатню здатність зазначеної композиції в дослідженій дозі пригнічувати катаболізм макромолекул сполучної тканини і особливо колагену і колагеноподібних білків.

Порушення обміну системи “глікозаміноглікани — колаген” є головною ланкою патогенезу дистрофічно-деструктивних захворювань сполучної тканини. Значну частину останніх складають остеоартрози, які все частіше стали уражати людей середнього та молодого віку [3]. Колагенові волокна є структурною основою сполучної тканини [16]. Вони забезпечують левову долю її пружно-еластичних властивостей і найменші їх зміни призводять до суттєвих порушень зазначених якостей сполучної тканини [5]. Колаген присутній у всіх різновидах сполучної тканини. Особливо багато його у тих тканинах, на які припадає найбільше навантаження на розрив, а саме у зв'язках, синовіальних сумках суглобів, шкірі, суглобовому хрящі [10]. При розвитку остеоартрозу завжди спостерігається ураження метаболізму колагену, поступово зменшується синтез повноцінних молекул

кул за рахунок збільшення продукції непридатних, патологічно змінених молекул, зростає руйнація фібрил колагеназою та іншими металопротеазами [12]. Результатом цього стає зменшення міцності сполучної тканини, у випадку суглобового хряща зазначені зміни тягнуть за собою вивільнення із хрящової тканини макромолекул глікозаміногліканів і формування безхрящових локусів на голівках великих суглобів та відповідних западинах [13, 14].

Деякі автори відводять ураженню колагену головну роль у розвитку остеоартрозу, інші вважають, що остеоартроз починається з руйнації глікозаміногліканів, але всі збігаються на тому, що неможливо навіть призупинити перебіг остеоартрозу без нормалізації метаболізму колагену. В той же час більшість нестероїдних протизапальних засобів, які використовуються для зменшення болю та запалення при остеоартрозі, самі по собі здатні руйнувати хрящову тканину. Суттєву інформацію про обмін колагену можна одержати за допомогою біохімічних методів дослідження, які є ключовими для вивчення сполучної тканини, особливо на ранніх стадіях її змін [6, 7, 8, 11]. Метою роботи стало дослідження метаболізму колагену в експериментальних тварин із кортикостероїдною дистрофією, пролікованих композиціями глюкозаміну гідрохлориду із парацетамолом у різних співвідношеннях для вирішення питання про можливість використання зазначених композицій для медикаментозної корекції дистрофічно-деструктивних захворювань сполучної тканини, що супроводжуються болем та запальними ускладненнями.

Матеріали та методи

Кортикостероїдну дистрофію в експериментальних білих щурів лінії Вістар 3-місячного віку самців з масою тіла 180-200 г моделювали за методом R.G.Gray, N.L.Gottlieb [9] з нашими модифікаціями, що полягали у зменшенні добової дози гідрокортизону ацетату до 200 мг/кг і збільшенні тривалості введення до 14-ти діб. Досліджувані композиції вводили перорально один раз на добу у водному розчині чи суспензії без стабілізатора

Таблиця 1

Фракційний склад оксипроліну в сироватці крові експериментальних тварин з кортикостероїдною дистрофією, лікованих композиціями глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом у різних співвідношеннях (M±m)

Субстанція (композиція), доза	Вільний	Пептиднозв'язаний	Білковозв'язаний	Сума оксипроліну
Інтактна група	4,28±0,17	4,06±0,16	5,34±0,11	13,68±0,35
Контрольна група	5,34±0,17 +24,77%*	4,36±0,13 +7,39%*	3,24±0,13 -39,33%*	12,94±0,38 -5,41%*
Глюкозаміну гідрохлорид, 50 мг/кг	4,31±0,14 +0,70%* -19,29	4,12±0,12 +1,48%* -5,50%**	5,84±0,14 +9,36%* +80,25%**	14,27±0,31 +4,31%* +10,28%**
Глюкозаміну гідрохлорид+ парацетамол 2:1, 50 мг/кг	5,12±0,14 +19,63%* -4,12%**	4,07±0,16 +0,24%* -6,65%**	3,29±0,12 -38,39%* +1,54%**	12,48±0,41 -8,77%* -3,55%**
Глюкозаміну гідрохлорид+парацетамол 4:1, 50 мг/кг	4,86±0,15 +13,55%* -8,99%**	4,29±0,15 +5,67%* -1,60%**	5,67±0,17 +6,18%* +0,75%**	14,82±0,39 -6,21%* +14,53%**
Глюкозаміну гідрохлорид+парацетамол 8:1, 50 мг/кг	5,11±0,17 +19,39%* -4,31%**	4,15±0,15 2,22%* +1,10%**	3,39±0,13 -36,52%* +4,63%**	12,65±0,37 -7,53%* -2,24%**

* — у порівнянні з результатами інтактної групи тварин;

** — у порівнянні з результатами контрольної групи тварин.

протягом 21 доби. По закінченні експерименту піддослідних тварин забивали декапітацією під ефірним наркозом. При забої в них проводили забір крові і хрящового покриття тазостегнових, плечових і колінних суглобів.

У наших дослідженнях було вивчено три композиції глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом із масовим співвідношенням 2:1; 4:1 і 8:1 у сумарній дозі 50 мг/кг у порівнянні із глюкозаміну

гідрохлоридом у дозі 50 мг/кг. При цьому в композиції зі співвідношенням 2:1 доза глюкозаміну складала 35 мг/кг, парацетамолу — 15 мг/кг, із співвідношенням 4:1 — 40 мг/кг і 10 мг/кг відповідно та із співвідношенням 8:1 — 45 мг/кг і 5 мг/кг відповідно.

Ефективність досліджуваних композицій вивчали з використанням комплексу біохімічних методів оцінки стану сполучної тканини, у тому

Таблиця 2

Вміст компонентів органічного матриксу в суглобовому хрящі експериментальних щурів із кортикостероїдною дистрофією, пролікованих композиціями глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом у різних співвідношеннях (M±m)

Субстанція, доза мг/кг	Вміст оксипроліну у суглобовому хрящі, г/100 г	Відношення вмісту оксипроліну в суглобовому хрящі і в сироватці крові, л/100 г	Відношення вмісту білково-зв'язаної фракції оксипроліну до вмісту вільної фракції у сироватці крові
Інтактна група	4,31±0,16	0,315±0,027	1,247±0,078
Контрольна група	3,21±0,09 -25,52%*	0,248±0,024 -21,26%*	0,607±0,034 -51,32%*
Глюкозаміну гідрохлорид, 50 мг/кг	4,42±0,21 -2,55%* +37,69%**	0,305±0,031 -3,17%* +22,98%**	1,355±0,084 +8,66%* +123,23%**
Глюкозаміну гідрохлорид+ парацетамол 2:1, 50 мг/кг	3,49±0,09 -19,03%* +8,72%**	0,310±0,031 -1,59%* +25,00%**	0,625±0,041 -49,87%* +2,97%**
Глюкозаміну гідрохлорид+ парацетамол 4:1, 50 мг/кг	3,53±0,13 -18,10%* +9,97%**	0,238±0,030 -24,34* -4,03%**	1,167±0,040 -6,42%* +92,26%**
Глюкозаміну гідрохлорид+ парацетамол 8:1, 50 мг/кг	3,27±0,08 -24,13%* -1,90%**	0,258±0,022 -18,09%* +4,03%**	0,663±0,037 -46,83%* +9,23%**

* — у порівнянні з даними групи інтактних тварин;

** — у порівнянні з даними контрольної групи тварин.

числі показників, які характеризують метаболізм колагену.

Вміст у суглобовому хрящі сумарного оксипроліну вивчали за Н.Stegemann, R.Stalder [15].

Фракційний склад оксипроліну сироватки крові проводили за методом Л.І.Слуцького з нашими модифікаціями [4].

Результати біохімічних досліджень статистично обробляли за методом Фішера-Ст'юдента з визначенням для кожної групи по усіх вивчених показниках середніх арифметичних, стандартного відхилення і вірогідності ряду [2]. Після цього результати рядів експериментальних груп порівнювали з даними контрольної групи, а також між собою. Статистично достовірним вважали розходження при $P < 0,05$ і менше.

У дійсній статті представлені результати дослідження впливу комбінацій глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом у різних масових співвідношеннях на обмін колагену та колагенових білків.

Лікування експериментальних тварин з кортикостероїдною дистрофією композицією глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом у співвідношенні 2:1 не приводило до істотного впливу на обмін колагену. Вміст у сироватці крові фракцій і суми оксипроліну практично відповідав такому у групі контрольних щурів (табл. 1, 2).

Значних змін внаслідок лікування розглянутою композицією зазнала система обміну колагену, що виразилося в підвищенні вмісту фракції білковозв'язаного оксипроліну на 75,00% у порівнянні з таким у контрольних щурів навіть з наявністю тенденції до перевищення рівня інтактних щурів (табл.1).

Рівень вільного оксипроліну в експериментальних тварин з кортикостероїдною дистрофією, лікованих композицією глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом у співвідношенні 4:1, хоча і перевищував на 13,55% такий у інтактних щурів, але мав тенденцію до зниження останнього в порівнянні з контрольними щурами (табл. 1).

Рівень сумарного оксипроліну також був підвищений у порівнянні з таким у контрольних тварин і не поступався даному показнику у групі інтактних тварин (табл. 1). Ці зміни свідчать про активацію досліджуваною композицією анаболічних і пригніченні катаболічних процесів системи колагену і про наявність у даній композиції хондропротекторних властивостей.

Також була відзначена тенденція до підвищення вмісту оксипроліну в суглобовому хрящі, хоча тривалість впливу досліджуваної композиції виявилася недостатньою для повної нормалізації зазначеного параметра (табл. 2).

Розглянута композиція чинила дещо менш сприятливий вплив на обмін колагену, ніж попередня. Так, після лікування нею експериментальних тварин з кортикостероїдною дистрофією була виявлена лише тенденція до зниження інтенсивності руйнування колагенових структур, яку реєстрували за величиною вільної фракції оксипроліну, а також до активації синтетичних процесів, відзначеної за збільшенням вмісту білковосинтетичної фракції оксипроліну. Статистично достовірні відмінності від даних контрольної групи тварин не були зафіксовані (табл. 1).

Вміст оксипроліну в суглобовому хрящі експериментальних щурів з кортикостероїдною дистрофією, які одержували лікування композицією 8:1, не відрізнявся від такого в контрольних нелікованих тварин.

Отже, можна сказати, що композиція глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом у співвідношенні 8:1 по масі характеризується недостатніми хондропротекторними властивостями, а саме спостерігається розбалансування основних видів активності, необхідних для протиартрозного препарату, призначеного для застосування при наявності розвинутого остеоартрозу, який супроводжується вторинними запальними ускладненнями, або артриту з вторинним дегенеративно-дистрофічним процесом.

ВИСНОВКИ

1. Таким чином, комплексний аналіз біохімічних показників, які характеризують вплив на обмін колагену і колагенових білків композицій глюкозаміну гідрохлориду із парацетамолом у масовому співвідношенні 2:1; 4:1 і 8:1, показав, що парацетамол у низьких дозах володіє помірною хондропротекторною дією і стимулює репаративну регенерацію суглобового хряща в умовах кортикостероїдної дистрофії сполучної тканини.

2. У результаті експериментів виявлено, що композиції глюкозаміну гідрохлориду з парацетамолом у різних масових співвідношеннях у дозі 50 мг/кг діють на суглобовий хрящ різним чином. Найбільш сприятливий вплив на хрящову тканину, що знаходиться в стані кортикостероїдної дистрофії, було зафіксовано при співвідношенні зазначених компонентів 4:1, що склало для глюкозаміну гідрохлориду 40 мг/кг, а для парацетамолу — 10 мг/кг. Така композиція характеризується збалансованою дією на анаболічні і катаболічні процеси у системі макромолекул матриксу суглобового хряща, що є оптимальним для створення протиартрозного препарату нового покоління.

ЛІТЕРАТУРА

1. Крель А.А., Фурцева Л.Н. // *Вопросы мед. химии.* — 1968. — Т. 14, вып. 6. — С. 635.
2. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.* — К.: Морион, 2000. — 320 с.

3. *Остеоартроз. Консервативна терапія / За ред. М.О.Коржа, Н.В.Дедух, І.А.Зупанця. — Х.: Прапор, 1999. — 336 с.*
4. *Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани. — Л.: Медицина, 1969. — 375 с.*
5. *Arias J.L., Nakamura O., Fernandez M.S. et al. // Connect. Tissue Res. — 1997. — Vol. 36, №1. — P. 21-33.*
6. *Bello A.E., Garrett W.E. Jr., Wang H. et al. // Connect. Tissue Res. — 1997. — Vol. 5, №6. — P. 419-426.*
7. *Borisova N.V., Pokrovskaya A.Y., Zakharova E.Y., Krasnopolskaya K.D. // Connect. Tissue Res. — 1994. — Vol. 30, №3. — P. 177-190.*
8. *Clemens J.D., Herrick M.V., Singer F.R., Eyre D.R. // Clin.Chem. — 1997. — Vol. 43, №11. — P. 2058-2063.*
9. *Gray R.G., Gottlieb N.L. // Clin. Orthop. and Rel. Res. — 1983. — №177. — P. 235-263.*
10. *Morita I., Matsuno H., Sakai K. // Int. J. Tissue React. — 1998. — Vol. 20, №2. — P. 37-43.*
11. *Petersson J.F., Borgard T., Svensson B., Saxne T. // Br. J. Rheumatol. — 1998. — Vol. 37. — P. 46-50.*
12. *Poole A.R. Early changes in cartilage matrix turnover in osteoarthritis / XIV Eur. League Against Rheumatism Congr. Speackers Theses. — Glasgow, 1999. — P. 9.*
13. *Rapala K.T., Vaha-Kreula M.O., Heino J.J. // Experientia. — 1996. — Vol. 16, №52 (1). — P. 70-74.*
14. *Stahle-Backdahl M., Sandstedt B., Bruce K. // Lab. Invest. — 1997. — Vol. 76, №5. — P. 717-728.*
15. *Stegemann H., Stalder R. // Clin. Chim. Acta. — 1967. — №2. — P. 267-273.*
16. *Weinberg P.D., Carney S.L., Winlove C.P., Parker K.H. // Connect.Tissue Res. — 1997. — Vol. 36, №4. — P. 297-308.*

УДК 615.012:542.9+615.272+615.276

МЕТАБОЛИЗМ КОЛЛАГЕНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДИСТРОФИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ КОМБИНАЦИЕЙ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА С ПАРАЦЕТАМОЛОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

І.А.Зупанец, В.А.Туляков

Показано, что наиболее перспективной среди исследованных является композиция глюкозамина гидрохлорида с парацетамолом в соотношении 4:1 в дозе 50 мг/кг, выявившая выраженный анаболический эффект при ингибировании разрушения коллагена в условиях кортикостероидной дистрофии. Результаты количественного анализа макромолекул соединительной ткани свидетельствуют о значительной активации белково-синтетических процессов у экспериментальных животных вследствие лечения композицией глюкозамина гидрохлорида с парацетамолом в соотношении 4:1 в дозе 50 мг/кг, что подтверждается перераспределением содержания фракций оксипролина в сыворотке их крови. Так, в сравнении с показателями контрольной группы, у крыс с экспериментальной кортикостероидной дистрофией соединительной ткани, пролеченных указанной композицией, в сыворотке крови было больше фракции белково-связанного оксипролина. В то же время катаболические процессы, оцениваемые по уровню свободного оксипролина, оставались неизменными, что означает недостаточную способность указанной композиции в исследованной дозе подавлять катаболизм макромолекул соединительной ткани и особенно коллагена и коллагеноподобных белков.

UDC 615.012:542.9+615.272+615.276

THE COLLAGEN METABOLISM IN CONNECTIVE TISSUE DYSTROPHIA TREATMENT BY THE COMPOSITION OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE WITH PARACETAMOL IN EXPERIMENT

I.A.Zupanets, V.A.Tulyakov

The article has showed that most perspective from the researched objects is glucosamine hydrochloride with paracetamol composition in correlation of 4:1, which demonstrated anabolic effect with collagen destroy decrease in condition of corticosteroidal dystrophy. The results of quantitative analysis of connective tissue molecules testify about the great protein-synthesis process activation in experimental animals after the treatment by the composition of glucosamine hydrochloride with paracetamol in correlation of 4:1 in dose 50 mg/kg, what is confirmed by the redistribution of oxyproline fractions in the blood serum. In comparison to indexes of control group, the proteine-connected fraction of oxyproline, the parameter of biosynthetic activity, in the blood serum of rats with experimental corticosteroidal dystrophy, treated by this composition was more. The catabolic processes, which were valued by the free oxyproline level, were invariable. This means about the low ability of this composition in the researched dose to suppress the connective tissue macromolecules and, especially collagen and collagen-similar proteins metabolism.