

ФАРМАКОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ХОНДРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ КОМПОЗИЦІЇ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ З ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДОМ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛЮВАННЯ ПОСТТРАВМАТИЧНОГО АРТРОЗУ

І.А.Зупанець, С.Б.Попов, І.А.Отрішко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: хондропротектори; суглобовий хрящ; рефракція глікозаміногліканів (ГАГ) та колагену; композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом; посттравматичний артроз

Наведені результати експериментального вивчення хондропротекторної активності композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом. Дослідження проведено на 40 білих безпородних щурах на моделі посттравматичного артрозу. Вивчення орієнтаційного упорядкування основних макромолекул матриксу суглобового хряща (ГАГ та колагену) проведено в поляризаційному світлі на мікроскопі "Ролту А". Показано, що лікувально-профілактичне застосування композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом сприяє стимуляції репаративних процесів та інгібуванню дистрофічних посттравматичних процесів в суглобовому хрящі. Фармакодинамічний потенціал композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при лікуванні запально-деструктивних захворювань суглобів обумовлений наявністю антиексудативного, антипроліферативного, хондропротекторного ефектів у механізмі його комплексної дії, а також здатністю аміноцукру глюкозаміну потенціювати протизапальні властивості диклофенаку натрію та стимулювати процеси репаративної регенерації. Хондропротекторна активність композиції обумовлена стимулюючим впливом глюкозаміну на синтез ендогенних ГАГ, колагену та білків, а також здатністю індукувати утворення факторів, які підсилюють процеси регенерації — лімфокінів, кейлонів. Результати проведених досліджень дозволяють рекомендувати препарат на основі композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом для проведення клінічного вивчення як протизапального та хондропротекторного засобу.

Проблема ревматичних захворювань розглядається в усьому світі як одна з найбільш значних не лише з медичної точки зору, а й з соціально-економічної. Ревматичні хвороби в Україні за поширеністю займають 3-тє місце після хвороб органів кровообігу і травлення [2, 8].

Одним із найбільш розповсюджених захворювань даної групи є деформуючий артроз — запально-деструктивне ураження тканин суглобів, що супроводжується руйнуванням та вивільненням із суглобу головних компонентів матриксу хряща, а саме, глікозамі-

ногліканів та колагену. Ці складові знаходяться в тісному взаємозв'язку, а своїми властивостями та відповідними функціями доповнюють один одного, що і забезпечує нормальне функціонування суглоба [1, 10, 14, 17].

Враховуючи головні ланки патогенезу артрозу, основними препаратами для його лікування є нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) та хондропротектори [3, 12, 15, 18-20, 22, 23].

З метою оптимізації лікування даного захворювання вченими НФаУ розроблено комплексний лікарський препарат на основі

диклофенаку натрію та глюкозаміну гідрохлориду. У якості протизапального компонента обрано диклофенак натрію, який по праву вважається "золотим стандартом ревматології" та на протязі тривалого часу добре зарекомендував себе як вискоєфективний та порівняно безпечний лікарський засіб. Глюкозамін — природний аміноцукор, що входить до складу біологічних мембран та сполучної тканини, має широкий спектр фармакологічної активності [5, 6, 9, 11, 13, 16, 21] та входить до складу ряду препаратів хондропротекторної дії ("Артепарон", "Дона-200 S", глюкозаміну гідрохлорид та ін.). Проте, на сьогоднішній день препарати глю-

Таблиця 1

Рефракція ГАГ (нм) на різних ділянках суглобового хряща щурів під впливом композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом (n=40)

Умови досліджу	Рефракція ГАГ (нм)		
	Ділянки суглобового хряща		
	зона дефекту	хрящ без клітин	хрящ зі збереженою цитоархітектонікою
Контроль	20,54±0,41	2,38±0,47	26,21±0,39
Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом	36,13±0,53 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	4,21±0,89 p<0,01 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	30,72±0,71 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Диклофенак натрію	21,13±0,38 p>0,05	2,42±0,42 p>0,05	26,12±0,51 p>0,05
Глюкозаміну гідрохлорид	27,24±0,29 p<0,001	3,91±0,69 p<0,01	26,81±0,65 p>0,05

Примітки:

- 1) p — достовірність різниці у відношенні контрольних тварин;
- 2) p₁ — достовірність різниці у відношенні глюкозаміну гідрохлориду;
- 3) p₂ — достовірність різниці у відношенні диклофенаку натрію.

козаміну відсутні на фармацевтичному ринку України. Тому створення вітчизняних конкурентоспроможних препаратів з комплексною протизапальною та хондропротекторною дією є актуальним та соціально значимим завданням сучасної фармакології.

Серія попередніх доклінічних досліджень підтвердила високу протизапальну, анагетичну активність композиції та її низьку токсичність.

Метою даної роботи стало вивчення впливу лікарського засобу на основі композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом на структурно-метаболічні показники суглобового хряща в експерименті на моделі посттравматичного артрозу у щурів та

з'ясування деяких механізмів хондропротекторної дії.

Матеріали та методи

Дослідження хондропротекторних властивостей композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом проводили на моделі посттравматичного артрозу у 40 щурів (по 10 тварин у кожній групі) масою 180-200 г віком 3 місяці [4]. Посттравматичний артроз тазостегнового суглоба моделювали нанесенням стандартного дефекту (діаметром 2 мм), який проникає через суглобовий хрящ у субхондральну кістку. Під барбітловим наркозом (0,6-0,8 мл 1% р-ну/100 г маси тіла тварини) через боковий доступ розрізали тазостегновий суглоб і кератомом

проводили різке надавлювання на суглобовий хрящ голівки до спеціальної відмітки на кератомі. Рану зашивали пошарово. Оперованих тварин розділили на наступні групи:

1 група — контрольні (неліковані) тварини отримували розчинник (воду очищену) у тому ж об'ємі, що і дослідні тварини;

2 група — тварини, які одержували композицію диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом у дозі 36 мг/кг;

3 група — тварини, які одержували диклофенак натрію у дозі, що входить до складу досліджуваної композиції (4 мг/кг);

4 група — тварини, які одержували глюкозаміну гідрохлорид у дозі, що входить до складу комбінованих таблеток (32 мг/кг).

Таблиця 2

Рефракція колагену (нм) на різних ділянках суглобового хряща щурів під впливом композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом (n=40)

Умови досліджу	Рефракція колагену (нм)		
	Ділянки суглобового хряща		
	зона дефекту	хрящ без клітин	хрящ зі збереженою цитоархітектонікою
Контроль	10,6±0,47	15,8±0,37	17,3±0,39
Композиція диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом	14,9±0,43 p<0,001 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	23,8±0,89 p<0,001 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001	26,3±0,69 p<0,01 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
Диклофенак натрію	10,4±0,52 p>0,05	15,8±0,31 p>0,05	18,1±0,34 p>0,05
Глюкозаміну гідрохлорид	14,4±0,89 p<0,001	20,4±0,51 p<0,001	25,9±0,78 p<0,001

Примітки:

- 1) p — достовірність різниці у відношенні контрольних тварин;
- 2) p₁ — достовірність різниці у відношенні глюкозаміну гідрохлориду;
- 3) p₂ — достовірність різниці у відношенні диклофенаку натрію.

Через 30 діб тварин виводили з експерименту (з дотриманням міжнародних біоетичних вимог роботи з тваринами). Оскільки за макромолекулярним складом матриксу суглобового хряща — ГАГ та колагеном — можна судити про перебіг репаративного процесу та установити можливі механізми регенерації, нами в проведених дослідженнях вивчено орієнтаційне упорядкування даних компонентів на різних ділянках хряща. Дослідження орієнтаційного упорядкування основних макромолекул матриксу суглобового хряща проводили в поляризаційному світлі на мікроскопі "Polmu A", оцінюючи величину рефракції ГАГ та колагену. Підготовку матеріалу для електронної мікроскопії проводили згідно з методичними рекомендаціями Б.Уїклі (1980).

Одержані результати оброблялись методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Ст'юдента за допомогою комп'ютерних програм [7].

Результати та їх обговорення

У результаті аналізу макромолекулярної організації ГАГ на різних ділянках суглобового хряща контрольних тварин (табл. 1) виявлено, що найвищі показники рефракції відмічені на ділянках зі збереженою цитоархітектонікою, а найнижчі — на ділянках хряща без клітин. Показники рефракції ГАГ на ділянках суглобового хряща тварин, яким вводили досліджувану композицію, були найвищими та достовірно відрізнялись від показників тварин, що одержували окремі компоненти композиції — диклофенак натрію та глюкозаміну гідрохлорид. Так, в

зоні дефекту показники рефракції ГАГ у тварин, яким вводили досліджувану композицію перевищували в 1,8 разів даний показник у групі контрольних тварин та в 1,3 рази показники тварин, що одержували глюкозаміну гідрохлорид. На ділянках більш віддалених від зони дефекту зі збереженою цитоархітектонікою показники рефракції ГАГ при застосуванні досліджуваної композиції перевищували показники контролю в 1,2 рази. Значення показників рефракції ГАГ при лікуванні диклофенаком натрію достовірно не відрізнялися від показників контрольних тварин, що повністю відповідає даним літератури про хондронейтральність диклофенаку натрію [5, 8].

Значення показників рефракції колагену представлені в табл. 2. За даним показником досліджувана композиція перевищувала показники рефракції колагену на ділянках суглобового хряща без клітин та зі збереженою цитоархітектонікою у тварин контрольної групи в 1,5 рази та на ділянках поблизу зони дефекту — в 1,4 рази. Індивідуально введений диклофенак натрію не впливав як на показники рефракції колагену різних ділянок суглоба тварин порівняно з контрольними тваринами так і на показники рефракції ГАГ, що підтверджує хондронейтральні властивості диклофенаку натрію.

Узагальнюючи одержані дані про макромолекулярну організацію матриксу суглобового хряща та орієнтаційну упорядкованість ГАГ та колагену, можна стверджувати, що лікувально-профілактичне застосування композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом сприяє акти-

вації синтезу ГАГ і колагену та стимуляції репаративних процесів у суглобовому хрящі. Дана активність підтверджена високими показниками рефракції ГАГ та колагену, що вказує про стимулюючий вплив досліджуваного об'єкту на синтез ГАГ і колагену, котрі відіграють головну роль в реалізації процесів репарації.

Фармакодинамічний потенціал композиції диклофенаку натрію з глюкозаміну гідрохлоридом при лікуванні запально-деструктивних захворювань суглобів забезпечує її комплексну дію і обумовлений наявністю антиексудативного, антипроліферативного, хондропротекторного ефектів, а також пов'язаний з потенціуючим впливом аміноцукру глюкозаміну на протизапальні властивості диклофенаку натрію та його здатністю стимулювати процеси репаративної регенерації.

В реалізації протизапальної дії композиції головна роль належить диклофенаку натрію, а хондропротекторної дії — глюкозаміну гідрохлориду.

ВИСНОВКИ

1. Результати представлених експериментальних досліджень дозволяють відносити композиційний лікарський засіб на основі диклофенаку натрію та глюкозаміну гідрохлориду до препаратів хондропротекторної дії.

2. Механізм хондропротекторного ефекту комплексного засобу полягає в стимуляції синтезу ГАГ та колагену на ушкоджених ділянках суглобового хряща.

3. Досліджуваний препарат можна рекомендувати для проведення клінічних досліджень в якості протизапального та хондропротекторного засобу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Биттнер М.К. Особенности содержания и обмена коллагена и гликозаминогликанов в костной и хрящевой тканях при старении: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 1999. — 20 с.
2. Ганджа І.М., Коваленко В.М., Лисенко Г.І., Свінцицький А.С. Ревматологія: Навч. посібник. — К.: Здоров'я, 1996. — 302 с.
3. Дзяк Г.В., Викторов А.П., Гришина Е.И. Нестероидные противовоспалительные препараты. — К.: Морион, 1999. — 112 с.

4. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт Н.А. и др. Экспериментальное (доклиническое) изучение фармакологических веществ, рекомендуемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств. В кн.: Доклинические исследования лекарственных средств (метод. рекоменд.) / Под ред. А.В.Стефанова. — К.: Авиценна, 2002. — С. 311-326.
5. Зупанець І.А. Экспериментальное обоснование использования глюкозамина и его производных в медицине: Дис. в форме науч. докл. ... докт. мед. наук. — Купавна, 1993. — 90 с.
6. Зупанець І.А., Туляков В.О., Осадченко С.М. //Клінічна фармація. — 2001. — Т. 5, №1. — С. 14-17.
7. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабиц П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
8. Остеоартроз. Консервативна терапія / За ред. М.О.Коржа, Н.В.Дєдух, І.А.Зупанця. — Х.: Прапор, 1999. — 336 с.
9. Aminosugars: The chemistry and biology of compounds, containing aminosugars //Ed. T.A.Balazs, R.W.Jeanloz. — New York; London: Acad. Press, 1965. — 2A. — P. 1, 60-65.
10. Byron C.R., Orth M.W., Venta P.J. et al. //Am. J. Vet. Res. — 2003. — №64 (6). — P. 666-671.
11. De Mattei M., Pellati A., Pasello M. et al. //Osteoarthritis Cartilage. — 2002. — №10. — P. 816-825.
12. Dieppe P.A. Osteoarthritis: Management / Rheumatology //Ed. K.Kippel, P.A.Dieppe. — London: Mosby, 1994. — P. 81-88.
13. Fenton J.I., Chlebek-Brown K.A., Caron J.P., Orth M.W. //Equine Vet. J. Suppl. — 2002. — №34. — P. 219-223.
14. Gardell S. Biochemistry of mucopolysaccharides of connective tissue / Ed. F.Clark, J.K.Grant. — Cambridge, 1961. — 250 p.
15. Hammerschmidt D.E. //J. Lab. Clin. Med. — 1997. — Vol. 130, №2. — P. 232.
16. Houpt J.B., McMillan R., Wein C., Paget-Dellio S.D. //J. Rheumatol. — 1999. — №26 (11). — P. 2423-2430.
17. Hwang W.S., Li B., Jin L.H. et al. //J. Pathol. — 1992. — №167. — P. 425-433.
18. Keller L. //Adv. Nurse Pract. — 2003. — №11 (6). — P. 19-21.
19. Lohmander L.S. //Acta Orthop. Scand. — 1991. — №62. — P. 623-632.
20. Morelli V., Naquin C., Weaver V. //Am. Fam. Physician. — 2001. — №67 (2). — P. 339-344.
21. Noack W., Fischer M., Forster K.K. et al. //Osteoarthritis. Cartilage. — 1994. — №2 (1). — P. 51-59.
22. Orth W.W., Peters T.L., Hawkins J.N. //Equine Vet. J. Suppl. — 2002. — №34. — P. 224-229.
23. Rostand K.S., Bakes J.R., Caterson B., Chrishner J.E. //Arthr. Rheumatol. — 1986. — №29 (1). — P. 953-105.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 27. Тел. (0572) 47-61-15.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 24.02.2003 р.