



УДК 615.276:615.281.9:547.455.623:616.72-002

І. А. Зупанець, К. М. Ткаченко, І. А. Отришко, С. К. Шебеко

ВПЛИВ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ КОМБІНАЦІЇ ДОКСИЦИКЛІНУ ТА ГЛЮКОЗАМІНУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЩУРІВ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗУ

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

УДК 615.276:615.281.9:547.455.623:616.72-002

І. А. Зупанець, Е. М. Ткаченко, І. А. Отришко, С. К. Шебеко

ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ ДОКСИЦИКЛИНА И ГЛЮКОЗАМИНА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТЕОАРТРОЗА

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

На модели системного стероидного остеоартроза у крыс исследовано влияние на некоторые биохимические показатели сыворотки животных композиции на основе комбинации доксициклина и глюкозамина в сравнительном аспекте с ее активными монокомпонентами — доксициклина гидрохлоридом и глюкозамина гидрохлоридом. В результате применения комбинации наблюдалось снижение содержания маркерных показателей воспаления и деструкции в суставах.

Ключевые слова: доксициклина гидрохлорид, глюкозамина гидрохлорид, композиция, противовоспалительная и хондропротекторная активность, остеоартроз.

UDC 615.276:615.281.9:547.455.623:616.72-002

I. A. Zupanets, K. M. Tkachenko, I. A. Otrishko, S. K. Shebeko

EFFECT OF COMPOSITION ON THE BASIS OF THE COMBINATION OF GLUCOSAMINE AND DOXYCYCLINE ON THE BIOCHEMICAL INDICES IN RATS UNDER EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS

National Pharmaceutical University, Kharkiv, Ukraine

Introduction. Osteoarthritis (OA) in modern medicine has increasingly growing significance as a social problem. The main pathogenetic mechanism of OA is the metabolic disorder of the basic substance of the articular cartilage that leads to degenerative changes and proteoglycan failure. Proteoglycans play an important role in maintaining water and electrolyte balance, adsorptive and reparative functions of articular cartilage.

The **aim** of this study was the experimental study of destructive-dystrophic changes in rats joints with systemic steroid-induced osteoarthritis under the influence of the experimental therapy with the composition containing the combination of doxycycline hydrochloride and glucosamine hydrochloride (D + GA) in comparison with the reference objects.

Materials and methods. The study was conducted on the model of corticosteroid degeneration in rats, which was reproduced by the intramuscular triple administration of dexamethasone phosphate at the dose of 7 mg/kg at intervals of one week with the elements of modifications which consisted in the increasing the corticosteroids dose.

Results and discussion. Under the influence of the use of the objects, according to a biochemical studies, there was a positive trend of reduction of indicators marker of inflammation and joint destruction.

Conclusions. 1. Composition containing doxycycline hydrochloride and glucosamine hydrochloride at the dose of 44.86 mg/kg reduces the inflammatory and destructive changes in the animals joints, which was confirmed by biochemical studies on the model of dexamethasone osteoarthritis in rats.

2. Pharmacodynamic potential of the composition is realised by inhibiting the cascade of inflammatory reactions, due mostly doxycycline and increasing the protective properties of chondrocytes to the influence of aggression factors, decreasing the proteoglycan matrix failure.

3. The composition should be regarded as a promising object for the further preclinical studies as anti-inflammatory and chondroprotective remedy.

Key words: doxycycline hydrochloride, glucosamine hydrochloride, combination, anti-inflammatory and chondroprotective activity, osteoarthritis.



Вступ

Остеоартроз (ОА) у сучасній медицині набуває все більш зростаючої значущості як соціально-медична проблема. За визначенням American College of Rheumatology (ACR), ОА — захворювання, зумовлене дією біологічних і механічних факторів, що дестабілізують нормальне співвідношення між процесами деградації та синтезу хондроцитів, позаклітинного матриксу суглобового хряща та субхондральної кістки.

Основним патогенетичним механізмом розвитку ОА є порушення метаболізму основної речовини суглобового хряща, що призводить до виникнення дегенеративних змін і протеогліканової недостатності [1].

Протеоглікани — великі макромолекули, що складаються з білкового ядра, до якого приєднані численні ланцюги глікозаміногліканів (ГАГ) і олігосахаридів. Будучи складними полісахаридно-білковими сполуками, вони утворюють основну речовину сполучної тканини і, таким чином, зумовлюють біомеханічні властивості суглобового хряща. Протеоглікани відіграють важливу роль у підтримці водно-електролітного балансу, адсорбційної та репаративної функції суглобового хряща. Вміст протеогліканів в артритному хрящі знижується за рахунок втрати ГАГ, в основному — хондроїтинсульфату. Поряд із цим відбувається зменшення молекули протеогліканів: замість великомолекулярних агрегатів вони перебувають у вигляді дрібних субодиниць, залишків ГАГ або їхніх мономерів, що є менш фіксованими та мають здатність легко залишати матрикс хряща [2].

Метою даного дослідження стало експериментальне вивчення деструктивно-дистрофічних змін у суглобах щурів із системним стероїдним остеоартрозом під впливом експериментальної терапії компози-

цією на основі комбінації доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду (Д + ГА) порівняно з референс-об'єктами.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на моделі кортикостероїдної дистрофії у щурів, яку відтворювали шляхом внутрішньом'язового трикратного введення дексаметазону фосфату дозою 7 мг/кг з інтервалом в один тиждень з елементами модифікації, що полягали у підвищенні дози глюкокортикостероїду [3; 4].

В експерименті були використані 70 білих безпородних щурів обох статей віком 3–4 міс. з масою тіла 190–220 г, яких відбирали для дослідження і випадковим чином розподіляли на 7 дослідних груп по 10 тварин у кожній: 1 — інтактний контроль; 2 — контрольна патологія (модель остеоартрозу без лікування); 3 — тварини, що одержували досліджувану композицію (1 : 2) дозою ЕД₄₀ 44,86 мг/кг [5]; 4 — тварини, що одержували глюкозаміну гідрохлорид дозою ЕД₄₀ 29,83 мг/кг [5]; 5 — тварини, що одержували доксицикліну гідрохлорид дозою ЕД₄₀ 15,03 мг/кг [5]; 6 — тварини, що одержували диклофенак натрію дозою 8,0 мг/кг; 7 — тварини, що одержували «Терафлекс» в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг. Починаючи з 4-го тижня дослідження і протягом наступних 28 діб, проводили внутрішньошлункове введення досліджуваних речовин об'єктам 1 раз на добу.

На 56-й день тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом і проводили взяття біоматеріалу для біохімічних досліджень. Так, маркерними показниками запальної та деструктивної складової патологічного процесу були: сіалові кислоти (метод Гесса) [6], глікопротеїни (реакція з орциновим реактивом) [7], хондроїтин-

сульфати (за Л. І. Слуцьким) [2] та сума ГАГ (реакція з розчином резохіму) [8]. Експерименти були виконані відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних й інших наукових цілях» [9].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера — Стьюдента [10].

Результати дослідження та їх обговорення

За результатами клінічних спостережень за тваринами встановлено, що, починаючи з 2-го тижня введення композиції (Д + ГА), відмічалися значні зміни у функціональному стані тварин: посилювалася рухова активність, зростала толерантність до фізичних навантажень, візуально нормалізувався стан суглобів, підвищувався апетит.

Під впливом застосування досліджуваних об'єктів, згідно з результатами біохімічного дослідження, спостерігалася позитивна тенденція до зниження вмісту маркерних показників запалення та деструкції у суглобах. Сіалові кислоти та глікопротеїни — показники, які, насамперед, характеризують запальний компонент, а маркерами, що відображають деструктивну складову патологічного процесу, слугували сумарний вміст ГАГ і хондроїтинсульфатів.

Результати дослідження біохімічних показників у сироватці крові щурів представлені у табл. 1.

На фоні застосування досліджуваної композиції усі біохімічні показники наближалися до рівня інтактних щурів і достовірно відрізнялися від показників контрольних тварин (56-та доба). Так, за вмістом сіалових кислот зафіксовані достовірні відмінності дослі-



Динаміка біохімічних показників у сироватці крові тварин із системним стероїдним остеоартрозом на фоні застосування композиції (1 : 2) та референс-об'єктів, n=70

Група тварин	Сіалові кислоти, ммоль/л	Глікопротеїни, г/л	Хондроїтинсульфати, г/л	ГАГ, од.
Вихідні дані				
Інтактний контроль	3,891±0,204	0,224±0,021	0,312±0,014	16,229±0,267
Термін експерименту 28 діб				
Контрольна патологія	5,142±0,325 ¹	0,398±0,033 ¹	0,404±0,022 ¹	22,271±0,325 ¹
Термін експерименту 56 діб				
Контрольна патологія	4,372±0,130	0,416±0,024 ¹	0,423±0,024 ¹	24,520±0,223 ¹
Композиція	3,879±0,160 ^{2, 3, 4}	0,311±0,016 ^{1, 2}	0,323±0,020 ^{2, 4, 5}	19,070±0,161 ^{1, 2, 3, 4, 5, 6}
Глюкозаміну гідрохлорид	4,313±0,031	0,365±0,040 ¹	0,363±0,035	21,114±0,234 ^{1, 2}
Доксицикліну гідрохлорид	4,004±0,022 ²	0,325±0,031 ^{1, 2}	0,388±0,023 ¹	23,162±0,123 ^{1, 2}
Диклофенак натрію	3,809±0,209 ²	0,293±0,038	0,405±0,029 ¹	24,421±0,163 ¹
«Терафлекс»	4,133±0,139	0,343±0,029 ¹	0,349±0,023 ²	20,132±0,299 ^{1, 2}

Примітка. Відмінності вірогідні ($p \leq 0,05$): ¹ — щодо інтактного контролю; ² — щодо контрольної патології; ³ — щодо глюкозаміну гідрохлориду; ⁴ — щодо доксицикліну гідрохлориду; ⁵ — щодо диклофенаку натрію; ⁶ — щодо «Терафлексу».

джуваної композиції, що майже в 1,1 разу перевищували показники тварин, які отримували глюкозаміну гідрохлорид та доксициклін. Показники вмісту глікопротеїнів на фоні лікування композицією (Д + ГА) мали чітку тенденцію до нормалізації (інтактні тварини), вірогідно відрізнялися від тварин із групи контрольної патології та дещо поступалися лише тваринам, лікованим диклофенаком натрію.

Рівень хондроїтинсульфатів, що відображають деструктивну складову патологічного процесу, на фоні лікування досліджуваною композицією знаходився після завершення лікування на рівні інтактних тварин, достовірно відрізнявся від нелікованих тварин з патологією, в 1,3 разу перевищував дані показники у тварин, лікованих диклофенаком натрію, та в 1,2 разу — показники тварин, яким застосовували доксициклін.

Вміст глікозаміногліканів — біохімічний показник, що також характеризує ступінь деструктивних змін у суглобах тварин. В експериментальній групі, в якій застосовували композицію, він вірогідно перевищував

показники у тварин усіх інших дослідних груп. Так, більш суттєвий нормалізуючий вплив у тварин даної групи відмічався порівняно зі щурами, лікованими диклофенаком натрію (більше у 1,3 разу) та у 1,2 разу — щодо тварин, яким уводили доксициклін.

Лікувальне застосування глюкозаміну гідрохлориду сприяло зниженню проявів запалення та деструкції у суглобах. Так, за вмістом сіалових кислот і хондроїтинсульфатів показники щурів даної групи знаходилися на рівні інтактного контролю, що підтверджено відсутністю статистично значущих відмінностей між показниками у щурів даних груп.

Доксицикліну гідрохлорид достовірно нормалізував вміст сіалових кислот і глікопротеїнів порівняно з контрольними тваринами, що підтверджує більш суттєвий вплив даного об'єкта на запальну складову розвитку патології.

Застосування диклофенаку натрію сприяло переважно зниженню маркерних показників запалення, які знаходилися на рівні інтактних щурів. Дана група вірогідно відрізнялася від контрольних тварин за

вмістом сіалових кислот і глікопротеїнів.

Застосування «Терафлексу» переважно сприяло нормалізації показників, що характеризують деструктивні зміни у суглобах. Динаміка відмінностей показників щодо інтактного контролю та контрольної патології збігалася з результатами для глюкозаміну гідрохлориду.

Таким чином, узагальнюючи дані досліджень біохімічних показників, можна зробити висновок про виражений сприятливий вплив композиції на біохімічні показники обміну хрящової та кісткової тканин, що виявляється у зниженні запального та дистрофічного процесів.

Висновки

1. Композиція на основі доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду (1 : 2) дозою 44,86 мг/кг сприяє зниженню запальних і деструктивних змін у суглобах тварин, що підтверджено даними біохімічних досліджень на моделі дексаметазонового остеоартрозу у щурів.

2. Фармакодинамічний потенціал композиції реалізується



ся шляхом інгібування каскаду запальних реакцій, переважно завдяки доксицикліну, та підвищенням захисних властивостей хондроцитів до впливу факторів агресії, зниженням рівня протеогліканової недостатності матриксу.

3. Дану композицію слід вважати перспективним об'єктом для подальших доклінічних досліджень як протизапального та хондропротекторного засобу.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Mitochondrial pathology in osteoarthritic chondrocytes* / L. Wu, H. Liu, L. Li [et al.] // *Current Drug Targets*. – 2014. – № 15 (7). – P. 710–719.

2. *Омельяненко Н. П.* Соединительная ткань (гистофизиология и биохимия) / Н. П. Омельяненко, Л. И. Слуцкий ; под ред. С. П. Миронова. – М. : Известия, 2009. – Т. 1. – 379 с.

3. *Зупанець К. О.* Дослідження впливу композиції на основі кверцетину та похідних глюкозаміну на процеси апоптозу хондроцитів в умовах розвитку експериментального остеоартриту / К. О. Зупанець, С. К. Шебеко, І. А. Отришко // *Ліки України плюс*. – 2010. – № 3 (12). – С. 47–50.

4. *Остеоартроз: консервативная терапия* : монография / под ред. Н. А. Коржа, Н. В. Дедух, И. А. Зупанца. – Х. : Золотые страницы, 2007. – 424 с.

5. *Дослідження протизапальної активності композицій на основі доксицикліну гідрохлориду і глюкозаміну гідрохлориду* / І. А. Зупанець, К. М. Ткаченко, І. А. Отришко, Є. Ф. Грінцов // *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. – 2014. – Т. 9, № 3. – С. 37–40.

6. *Камышников В. С.* Лабораторная диагностика внутренних и хирургических болезней : учеб. пособие / В. С. Камышников. – Минск : Адукацыя і выхаванне, 2012. – 584 с.

7. *Медицинские лабораторные технологии* : рук. по клин. лаб. диагностике : в 2 т. / под ред. А. И. Карпищенко. – 3-е изд. – М. : ГЕОТАР-Медиа, 2012–2013. – Т. 1. – 2012. – 470 с. ; Т. 2. – 2013. – 792 с.

8. А. с. 960626 СССР, МКІ³ G 09 № 23/28 Способ определения гликозаминогликансульфатов в сыворотке крови / М. Р. Штерн, О. П. Тимошенко, Ф. С. Леонтьева, Г. Ф. Клюева. – № 2998857/28-13 ; заявл. 23.10.80 ; опубл. 23.09.82, Бюл. № 35.

9. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose* : Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

10. *Лапач С. Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – 2-е изд. – К. : Морион, 2001. – 407 с.

REFERENCES

1. Wu L., Liu H., Li L., Liu H., Cheng Q., Li H., Huang H. Mitochondrial pathology in osteoarthritic chondrocytes. *Current Drug Targets* 2014; 15 (7): 710-719.

2. Omelyanenko N.P., Slutskiy L.I.; Mironov S.P (ed.). *Soeditel'naya tkan (histofiziologiya i biokhimiya)* [Connective tissue (hystofiziology and biochemistry)]. Moscow, Izvestiya, 2009. Vol. 1. 376 p.

3. Zupanets K.O., Shebeko S.K., Otrishko I.A. Research of influence of composition containing quercetine and the derivates of glucosamine on chondrocyte apoptosis processes at the conditions of experimental osteoarthritis development. *Liky Ukrainy plus* 2010; 3 (12): 47-50.

4. Korzh N.A., Dedukh N.V., Zupanets I.A. (eds.) *Osteoartroz: konservativnaya terapiya* [Osteoarthritis: Conservative Therapy]. Monograph. Kharkov, Zolotyie stranitsy, 2007. 424 p.

5. Zupanets I.A., Tkachenko K.M., Otrishko I.A., Grintsov Ye.F. Study of anti-inflammatory activity of compounds on the basis of doxycycline hydrochloride and glucosamine hydrochloride. *Ukrainskiy zhurnal klinichnoi ta laboratornoi meditsiny* 2014; 9 (3): 37-40.

6. Kamysnikov V.S. *Laboratornaya diagnostika vnutrennikh i khirurgicheskikh bolezney* [Laboratory diagnosis of internal and surgical diseases]. Minsk, 2012. 584 p.

7. Karpishchenko A.I. (ed.) *Meditsinskie laboratornye technologii* [Medical laboratory technologies: Guide: In 2 Vol.]. Moscow, Geotar-Media, 2012. Vol. 1. 470 p.; Vol. 2. Moscow, Geotar-Media, 2013. 792 p.

8. Shtern M.R., Timoshenko O.P., Leontieva F.S., Klyuyeva G.F. Author's Certificate 960626 USSR, MKI³ G 09 № 23/28. *Sposob opredelenia glikozaminoglikansulfatov v syvorotke krovi* [The method of determining serum glycosaminoglycansulfates]. № 2998857/28-13; publ. 23/09/82. Bul. № 35.

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. Strasbourg 1986; 52.

10. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniyem Excel* [Statistical methods in biomedical research using Excel]. Kiev, Morion, 2001. 407 p.

Надійшла 23.09.2015

Рецензент д-р мед. наук
П. Б. Антоненко

УДК 636.2:612.32:577.15

О. В. Кулибаба, С. А. Петров

АКТИВНІСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗИ ТА КАТАЛАЗИ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ У ЩУРІВ

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Одеса, Україна

УДК 636.2:612.32:577.15

Е. В. Кулибаба, С. А. Петров

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ И КАТАЛАЗЫ ПРИ АЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ
ЭМБРИОНАЛЬНЫХ МЫШЕЧНЫХ ТКАНЕЙ У КРЫС

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Одесса, Украина

В связи с наличием многочисленных негативных факторов особую актуальность приобретают исследования антиоксидантной защиты организма. В ходе работы было проведено три вида операционного вмешательства: 1 — аллотрансплантация эмбриональных мышечных тканей;

