



Е.А. Подплетняя¹, Л.И. Кучеренко², В.И. Мамчур¹

ОСОБЕННОСТИ ЭМОЦИОНАЛЬНО-ПОВЕДЕНЧЕСКОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ С МОДЕЛИРУЕМЫМ АРТРОЗОМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПРЕПАРАТОМ "ИНДОТРИЛ"

¹Днепропетровская государственная медицинская академия

²Запорожский государственный медицинский университет, НПО "Фарматрон"

Ключевые слова: поведение, боль, артроз, нестероидные противовоспалительные средства, таблетки "Индотрил", индометацин, диклофенак натрий, тиотриазолин

В статье представлены данные об улучшении локомоторной активности крыс в условиях экспериментальной "открытой площади" и повышения порога болевого реагирования животных с моделированным артрозом. Диклофенак натрий и комбинированное средство, которое содержит индометацин (доза составляет 1/2 от оптимальной) и антиоксидант тиотриазолин, продемонстрировали способность увеличивать количество движений животных в горизонтальной и вертикальной плоскости. Все препараты увеличивают порог болевого реагирования, при этом комбинированное средство проявляет лучшую активность. Ранее нами были получены результаты относительно большей безопасности одночасового применения индометацина и тиотриазолина, что вместе с приведенными в статье экспериментальными данными свидетельствует о необходимости дальнейшего комбинированного средства.

Остеоартроз – самая распространенная форма поражения суставов и главная причина нетрудоспособности, вызывающая ухудшение качества жизни и значительные финансовые затраты, особенно у пожилых людей. Широкомасштабное исследование в 7 городах бывшего СССР лиц старше 15 лет (41348 человек) выявило манифестный остеоартроз у 6,43% [1]. В популяциях белых Северной Америки и северной Европы около 1/3 лиц в возрасте 25-74 лет имеют признаки рентгенографического остеоартроза, по крайней мере одной группы периферических суставов; самое частое поражение – суставов кистей, затем стоп, коленных и тазобедренных суставов. В целом, в различных странах мира распространенность и заболеваемость остеоартрозом широко варьируют. Например, распространенность остеоартроза на Украине составляет 2515,7 на 100 тыс. населения, заболеваемость – 497,0 на 100 тыс. населения. Как установлено популяционными исследованиями, эти показатели несколько ниже, чем в США, и значительно выше, чем в Великобритании [2,3]

Остеоартроз характеризуется локальной потерей суставного хряща и замещением костной тканью по центру и краям дефекта, что сопровождается выраженным болевым синдромом и проявляется инвалидизирующей симптоматикой и утратой трудоспособности. Современные подходы к лечению направлены на уменьшение патологических симптомов с помощью различных методов, основными задачами которого являются: информирование пациента об основных симптомах заболевания, уменьшение выраженности болевого синдрома, улучшение функции пораженного сустава и снижение нетрудоспособности, предотвращение или замедление прогрессирования заболевания и его осложнений.

Согласно рекомендациям Европейской антиревматической лиги (EULAR) 2003 года применение неселективных нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) при остеоартрозе коленного сустава, который поражается чаще всего среди крупных суставов, имеет хорошую доказательную базу (уровень доказательности 1А) [4]. Однако риск развития осложнений со стороны желудочно-кишечного тракта ограничивает длительное применение препаратов этой группы. Одновременное же применение диклофенака натрия и кверцетина позволяет не только улучшить результаты лечения и качество жизни больных с остеоартрозом, но и способствует предупреждению гастропатий, вызванных диклофенаком натрием [5], а перспективный отечественный антиоксидант тиотриазолин дозозависимо ингибирует процесс язвообразования у крыс на фоне лечения индометацином и диклофенаком, при этом его протекторный эффект сравним с таковым у фамотидина и омепразола [6].

В патогенезе ОА имеют значение протеогликановая недостаточность хряща, активация перекисного окисления липидов, вызывающая нарушение микроциркуляции, деления клеток, структуры коллагена, в результате чего происходит деполимеризация гиалуроновой кислоты и прогрессирует дегенеративный процесс в суставных тканях; определенную роль играет и иммунологический фактор.

В связи с этим нами проведено исследование таблеток "Индотрил", покрытых оболочкой, производства КМП при участии НПО "Фарматрон", которые представляют собой перспективную комбинацию индометацина и тиотриазолина, в которой НПВС используется в дозе, составляющей 1/2 от оптимальной анальгетической.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Остеоартроз моделировали на 40 белых крысах массой 180 ± 20 г, которые были распределены на группы по 10 особей. Модель основана на введении в коленный сустав раствора моноидуксусной кислоты (МУК) из расчета 3 мг на 50 мкл стерильного физиологического раствора как описано С. Guingamp, P. Georgout-Pottie [7]. Начиная с 21 дня животным с моделируемым артрозом вводились исследуемые препараты: 1-я группа – индометацин 5 мг/кг, 2-я группа – диклофенак натрий 5 мг/кг, 3-я группа – таблетки "Индотрил" (индометацин 5 мг/кг+тиотриазолин 15 мг/кг, расчет дозы по действующим веществам), 4-я группа – физиологический раствор (контрольная группа) - на протяжении 1 недели.

Для изучения влияния препаратов на двигательную исследовательскую и эмоциональную активность белых крыс использовалась площадка размером 100 x 100 см, разбитая на 16 квадратов, в каждом из которых вырезано круглое отверстие диаметром 3 см. В ходе проведения эксперимента проводилась регистрация количества пересеченных квадратов (горизонтальная двигательная активность), количества подъемов на задние лапы (вертикальная двигательная активность), продолжительность груминга, количества болюсов (эмоциональная активность), количество заглядываний в круглые отверстия (исследовательская активность), в течение 3 минут [8,9].

Аналгетическую активность исследованных средств у животных с моделируемым артрозом оценивали по латентному периоду реакции отдергивания хвоста [10]. После помещения 3 см хвоста крыс в водяную баню температурой $50 \pm 0,2^\circ\text{C}$, производили измерение латентного периода в исходном состоянии, на фоне развившейся патологии (21 день после введения МУК) и после 1 недели лечения (до введения препаратов и через 90 минут после введения).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью приемов параметрической и непараметрической статистики с использованием стандартного программного пакета "StatPlus".

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Остеоартроз проявляется выраженными болями и деформацией суставов, приводящими к нарушению их функции. Этим объясняется необходимость проведения исследования влияния препаратов на поведение животных, их подвижность, эмоциональные и вегетативные проявления. В используемой экспериментальной модели остеоартроза МУК благодаря ингибированию глицералдегид-3-фосфатдегидрогеназы в хондроцитах (нарушение процессов гликолиза и гибель клеток) вызывает дистрофические и деструктивные изменения в суставе.

Результаты показали, что горизонтальная и вертикальная активность на 20 день заболевания значитель-

но снижается во всех группах, а в группе нелеченых животных с артрозом двигательная активность не восстанавливается до исходного фона и на 27 день болезни (рис. 1). Исследуемые препараты восстанавливают способность животных двигаться преимущественно в горизонтальной плоскости, пересекая квадраты (табл. 1).

Наиболее эффективно восстанавливали подвижность животных диклофенак натрий (горизонтальную – на 64,8%, вертикальную – на 42,5%) и таблетки "Индотрил" (горизонтальную – на 81,6%, вертикальную – на 82,8%). Также диклофенак натрий заметно влиял на восстановление исследовательской активности (количество заглядываний в норки возросло на 107,6%). Роль воспаления при остеоартрозе неоспорима [11], однако основным клиническим симптомом заболевания является боль, связанная с поражением костей, суставов и околосуставных тканей, а также определяющаяся особым психоэмоциональным фоном. Поэтому НПВС оказывают свое анальгетическое действие, ведущее и к улучшению настроения (у пациентов), успокоению (у животных). Диклофенак натрий проявляет выраженное анальгетическое действие (следствием которого является увеличение показателей поведения животного в "открытом поле"), которое отчасти связано не с его противовоспалительной активностью, а возможно с влиянием на центральные звенья регуляции болевой чувствительности.

Комбинированный препарат – таблетки "Индотрил" – продемонстрировал очень хороший профиль эффективности, о котором косвенно можно судить по этому исследованию. Наряду с увеличением количества моторных движений, он практически не отличается от диклофенака натрия по влиянию на акты груминга и количество болюсов.

Болевой синдром при остеоартрозе выражен значительно больше, чем при артрите, так как сам хрящ лишен нервных окончаний. Боль в данном случае связана с поражением костей (остеофиты, микроинфаркты, увеличение давления в субхондральной кости и костномозговом канале), суставов (воспаление синовиальной оболочки, растяжение капсулы сустава), околосуставных тканей (повреждение связок, мышечный спазм, бурсит). Субхондральная кость, синовиум, связки и капсула сустава снабжены нервными окончаниями, которые могут быть источником болевых импульсов [12]. Дополняя периферическую чувствительность, центральная также обнаружена при артритах и артрозах [13].

Результаты наших исследований изменения болевого реагирования животных на термическое раздражение представлены в табл. 2 и на рис. 2. Как видно крысы, получавшие исследуемые препараты в отличие от контрольной группы больных животных, не

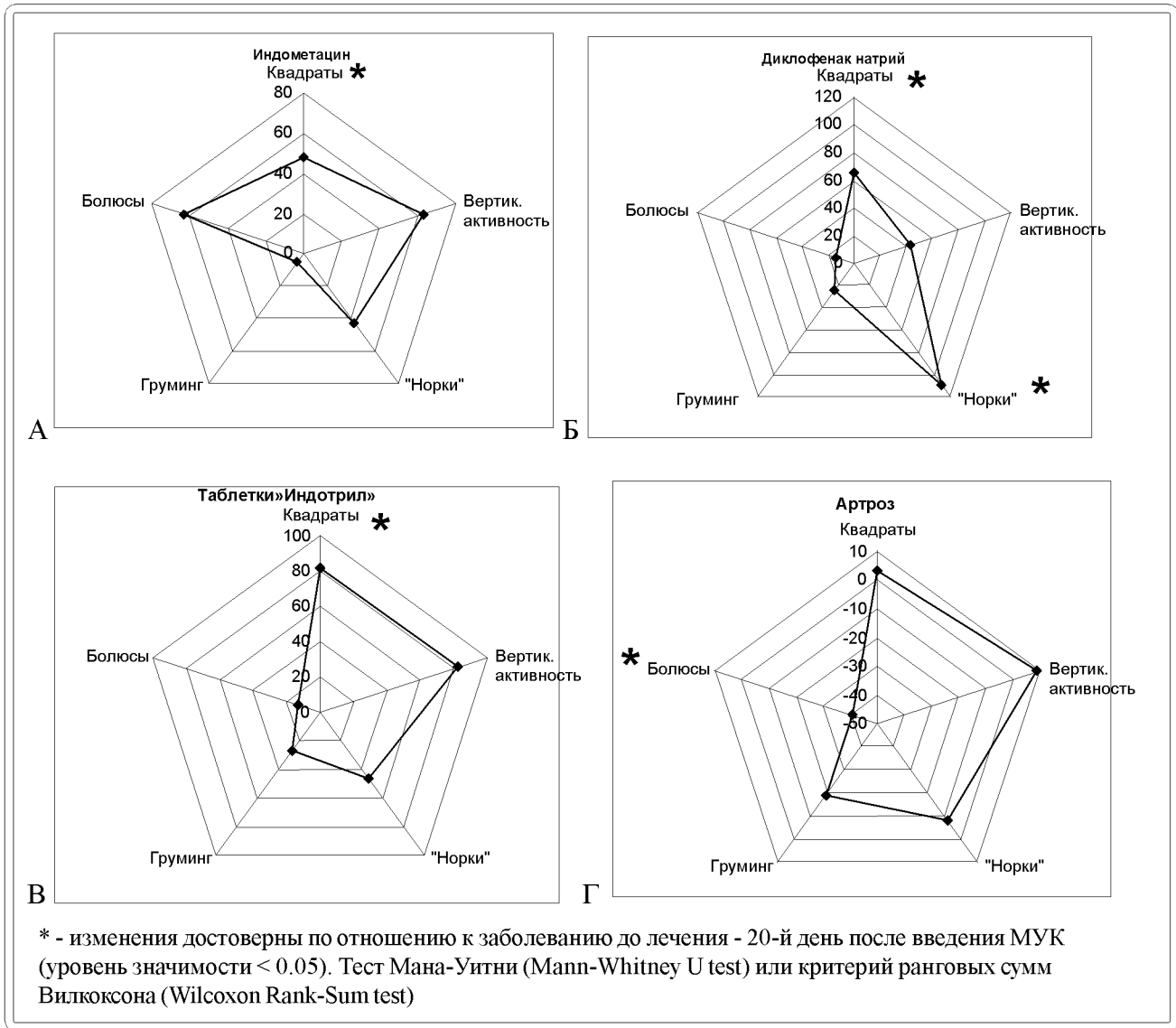


Рис. 1 Изменение моторной и эмоционально-исследовательской активности животных под влиянием препаратов в условиях "открытого поля"

получавших лечение, меньше реагировали на тепловое раздражение, что демонстрирует анальгетическую эффективность исследуемых препаратов сравнения - НПВС и в большей степени исследуемого комбинированного препарата.

Все исследуемые препараты повышают порог болевого реагирования, однако этот эффект недостоверный. Вероятно, это свидетельство того, что НПВС эффективны в острый период заболевания. На модели с использованием МУК в первые 7 дней в тканях сустава развивается воспалительный процесс. Так, результаты гистологических исследований тканей сустава на 3 и 14 день после введения МУК демонстрируют значительное увеличение синовиальной мембраны с большим количеством клеточного инфильтрата на 3 день и отсутствие признаков воспаления, но видимой дегенерацией хряща на 14 день [14]. Таким образом, первую неделю после вве-

дения МУК боль возникает в результате воспаления, далее воспаление играет лишь второстепенную роль в формировании боли [14]. Воспаление играет ключевую роль в сенситизации периферических афферентных (посредством химических флоголитиков - брадикинина, простагландинов, нейропептидов, цитокинов) и центральных нервных волокон, что способствует развитию характерной для остеоартроза спонтанной боли (в покое) и гипералгезии при воздействии болевых и неболевых раздражителей [15]. Однако в гипервозбуждении центральных, спинальных нейронов также принимают участие транмиттеры (NMDA, субстанция P, простагландин E₂ и другие), рецепторы которых способны блокировать препараты группы НПВС [16].

Таким образом, роль симптоматической терапии остеоартроза с помощью НПВС является неоспоримой, но для получения патогенетического (противо-

Влияние исследуемых лекарственных средств на эмоционально-двигательную активность животных при артрозе

Группа, препарат, доза	показатель	Горизонтальная активность (количество пересеченных квадратов)			Вертикальная активность (количество стоек)		
		I	II	III	I	II	III
1		2	3	4	5	6	7
1 гр. Индометацин, 5 мг/кг	M±m	26,0±6,5	20,3±5,6	30,0±9,3	6,2±2,5	4,0±2,1	6,5±2,3
	% изменений по отношению к I		-21,9	15,4		-35,5	4,8
	% изменений по отношению к II			*47,8			62,5
2 гр. Диклофенак натрий, 5 мг/кг	M±m	12,0±6,0	9,1±4,9	15,0±4,7	6,0±2,5	4,0±1,7	5,7±1,6
	% изменений по отношению к I		-24,2	25,0		-33,3	-5,0
	% изменений по отношению к II			*64,8			42,5
3 гр. Таблетки «Индотрил», индометацин 5 мг/кг и тиотриазолин 15 мг/кг	M±m	12,9±5,4	10,3±5,1	18,7±5,1	5,1±2,9	3,5±2,1	6,4±3,6
	% изменений по отношению к I		-20,2	*45,0		-31,4	25,5
	% изменений по отношению к II			*81,6			82,8
4 гр. Артроз, физ.раствор	M±m	19,2±5,4	13,1±5,8	13,5±4,8	5,0±2,7	2,3±2,1	2,5±1,7
	% изменений по отношению к I		*-31,8	*-29,7		*-54,0	*-50,0
	% изменений по отношению к II			3,1			8,6

Группа, препарат, доза	показатель	«Норки» (количество заглядываний в отверстия плоскости «открытого поля»)			Груминг (количество актов умывания)			Болосы (количество актов дефекации)		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
1		8	9	10	11	12	13	14	15	16
1 гр. Индометацин, 5 мг/кг	M±m	1,9±1,3	1,4±1,2	2,0±1,3	12,3±4,7	14,7±6,3	15,5±3,5	1,1±0,8	0,8±0,6	1,3±0,8
	% изменений по отношению к I		-26,3	5,3		19,5	26,0		-27,3	18,2
	% изменений по отношению к II			42,8			5,4			62,5
2 гр. Диклофенак натрий, 5 мг/кг	M±m	2,7±2,1	1,3±0,8	2,7±1,6	14,7±5,3	11,5±4,7	14,2±4,3	1,1±0,9	0,7±0,5	0,8±0,4
	% изменений по отношению к I		-51,8	0		-21,7	-3,4		-36,4	-27,3
	% изменений по отношению к II			*107,6			23,5			14,3
3 гр. Таблетки «Индотрил», индометацин 5 мг/кг и тиотриазолин 15 мг/кг	M±m	2,1±1,5	1,7±1,5	2,5±1,5	9,1±3,4	8,0±3,7	10,1±3,5	1,5±0,8	1,5±1,3	1,7±1,2
	% изменений по отношению к I		-19,0	19,0		-12,1	11,0		0	13,3
	% изменений по отношению к II			47,0			26,3			13,3
4 гр. Артроз, физ.раствор	M±m	1,3±1,1	1,2±1,0	1,1±0,7	12,4±3,9	9,7±3,5	7,8±3,3	2,3±1,3	2,2±1,1	1,3±1,2
	% изменений по отношению к I		-7,7	-15,4		-21,8	*-37,1		-4,3	*-43,5
	% изменений по отношению к II			-8,3			-19,6			*-40,9

* - изменения достоверны по отношению к заболеванию до лечения (уровень значимости < 0.05), *- достоверны по отношению к исходному фону (уровень значимости < 0.05) Тест Мана-Уитни (Mann-Whitney U test) или критерий ранговых сумм Вилкоксона (Wilcoxon Rank-Sum test); I - исходный фон; II - 20 дней заболевания; III - 7 дней лечения.

Изменения болевых порогов на основных этапах исследования

Группы животных	Исходный фон	3 недели болезни	1 неделя лечения
1 гр. Индометацин, 5 мг/кг	1,96±0,05	1,6±0,04*	2,09±0,071
2 гр. Диклофенак натрий, 5 мг/кг	1,95±0,039	1,59±0,041*	2,06±0,053
3 гр. Таблетки «Индотрил», индометацин 5 мг/кг и тиотриазолин 15 мг/кг	1,92±0,066	1,55±0,064*	2,07±0,083
4 гр. Контроль-артроз, физ. раствор	1,94±0,035	1,61±0,033*	1,55±0,032*

* - изменения достоверны по отношению к исходному фону (P<0,05)

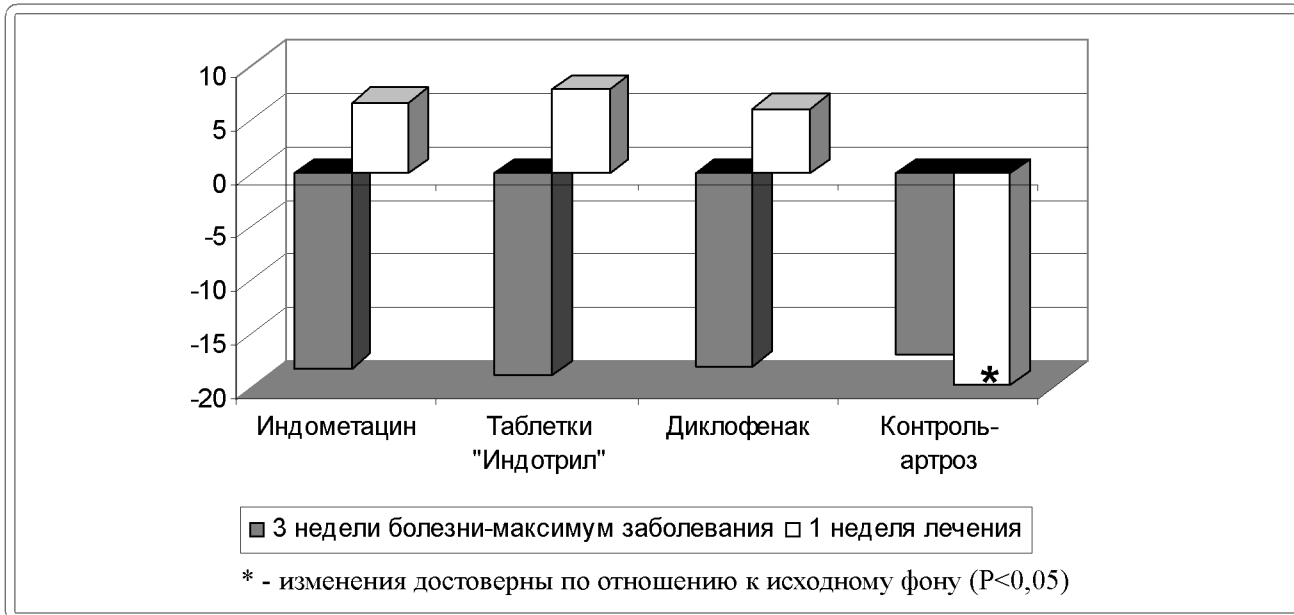


Рис. 2 Изменение порогов болевого реагирования на термический раздражитель под влиянием исследуемых препаратов.

воспалительного) эффекта препараты должны вводиться в начальном периоде заболевания. При этом, учитывая способность таблеток "Индотрил" улучшать двигательную активность животных при артрозе и более выраженный анальгетический эффект по сравнению с индометацином и диклофенаком натрием, а также их большую безопасность [17], можно утверждать, что таблетки "Индотрил" средство имеет преимущества перед классическими НПВС и найдут широкое применение в медицинской практике.

ВЫВОД

Препарат "Индотрил", в виде таблеток, покрытых оболочкой, улучшает локомоторную активность животных и повышает порог болевого реагирования при экспериментальном артрозе в большей степени, чем индометацин и диклофенак натрий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беневоленская Л.И., Бржезовский М.М. Эпидемиология ревматических болезней.-Москва: Медицина, 1988. - 237 с.
2. Корж Н. А., Филиппенко В. А., Дедух Н. В. Остеоартроз - подходы к лечению // Вісник ортопедії травматології та протезування. - 2004. - № 3. - С. 75-79.

3. Коваленко В. Н., Борткевич О. П. Остеопороз. Практическое руководство. - К.: Морион, 2003. - 448 с.
4. Jordan K.M., Arden N.K., Doherty M., и др. Рекомендации Европейской антиревматической лиги (EULAR) 2003 г.: доказательный подход к лечению пациентов с остеоартрозом коленных суставов//Здоровье Украины. - 2005. - №4. - С.17-20.
5. Загородний М. І. Вплив кверцетину на ульцерогенний ефект диклофенаку натрію // Лікарська справа. - 2003. - № 1-2. - С. 96-99.
6. Шевчук О.К., Степанюк Г.І. Вплив тіотриазоліну в порівнянні з фамотидином на ульцерогенну дію ортофену // Вісник Вінницького державного мед університету. - 2002. - №1. - С.237-238.
7. Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, et al. Monoiodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry // Arthritis Rheum. - 1997. - Vol.40, №9. - С.1670-1679.
8. Абуладзе Г.В. Изучение эмоциональности крыс и мышей в поведенческих и фармакологических экспериментах методом "открытое поле" (Изд. РН СССР, сер. биол. - 1983 - Т.9, №3, с. 156-165)

9. Калуев А.В. Стресс, тревожность и поведение. - К.: Энигма, 1998. - 96 с
10. Биоскрининг. Лекарственные средства. Стефанов А.В. - Изд.дом "Авиценна", 1998. - С. 56-58
11. Насонова В.А., Насонов Е.Л. Рациональная фармако-терапия ревматических заболеваний. - М.: Литера, 2003. - С.22-34.
12. Mach D.V., Rogers S.D., Sabino M.C., et al. Origins of skeletal pain: sensory and sympathetic innervation of the mouse femur // Neuroscience . - 2002. - Vol.113. - P.155-166.
13. Schaible H.G., Ebersberger A., Von Banchet G.S. Mechanisms of pain in arthritis // Ann NY Acad Sci. - 2002. -Vol. 966. -P.343-354
14. Beyreuther B., Callizot N., Stohr T. Antinociceptive efficacy of lacosamide in the monosodium iodoacetate rat model for osteoarthritis pain//Arthritis Research & Therapy.- 2007. - Vol.9. - №1. - <http://arthritis-research.com/content/9/1/R14>
15. H. Schaible, A. Ebersberger, G. Segond Von Banchet. Mechanisms of Pain in Arthritis // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 2002. - Vol.966. -P.343-354.
16. McCormak. K. The spinal actions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the dissociations between their anti-inflammatory and analgesis effects // Drugs. - 1994. - Vol.47. - Suppl 5. -P.28-45.
17. Подплетня Е.А., Мамчур В.И., Мазур И.А., Кучеренко Л.И., Волошин Н.А., Каменская Л.А. Возрождение индометацина. Возможно ли это? // Збірник наукових статей "Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики" Том 3 - 2006. - С.506-513.

Поступила 20.02.2008г.

О.А. Подплетня, Л.И. Кучеренко, В.И. Мамчур

Комбіноване застосування індометацину та тіотриазоліну сприяє покращенню параметрів рухомості тварин при експериментальному артрозі

У статті наведені дані щодо покращення локомоторної активності щурів в умовах експериментального "відкритого майдану" та підвищення порогу больового реагування тварин з модельованим артрозом. Диклофенак натрій і комбінований засіб, який вміщує індометацин (доза становить 1/2 від оптимальної) та антиоксидант тіотриазолін, продемонстрували здатність збільшувати кількість рухів тварин у горизонтальній та вертикальній площині. Усі препарати збільшують поріг больового реагування, при цьому комбінований засіб проявляє найкращу активність. Раніше нами були отримані результати щодо більшої безпечності одночасового використання індометацина та тіотриазоліна, що разом з наведеними у статті експериментальними даними свідчить про необхідність подальшого дослідження комбінованого засобу.

Ключові слова: поведінка, біль, нестероїдні протизапальні засоби, індометацин, диклофенак натрій, тіотриазолін

E.A. Podpletnya, L.I. Kucherenko, V.I. Mamchur

The combined use of Indometacine and Thiotriazoline promotes to improve of behavioral parameters of animals in state of experimental arthrosis

There data of improving rat's locomotor activity in condition of experimental "open field" and of increasing animal's pain thresholds with arthrosis are presented. Diclofenac sodium and combined drug containing Indometacine (its dose is 1/2 of optimal dose) and antioxidant Thiotriazoline demonstrated ability increasing quantity of acts in horizontal and vertical planes. All medicines increase pain threshold and combined drug had the best effect. Before we published our results about nice safety of simultaneously use of Indometacine and Thiotriazoline. Those data together with present results testify about necessarily of the further investigation of this combination.

Key words: pain, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, Diclofenac sodium, Indometacine, Thiotriazoline

Сведения об авторах:

Кучеренко Л.И., к. фарм.н., доцент кафедры фармацевтической химии Запорожского государственного медицинского университета;

Подплетня Е.А., к. фарм.н., доцент кафедры фармакологии Днепропетровской медицинской академии;

Мамчур В.И., д.мед.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии и технологии лекарственных средств, проректор по научной и лечебной работе ДГМА.

Адрес для переписки:

Кучеренко Л.И., 69035, г. Запорожье, пр. Маяковского 26, ЗГМУ, кафедра фармацевтической химии Запорожского государственного медицинского университета.