

В. Л. Карбовський¹, І. А. Шевчук¹, О. В. Куркіна¹, Т. Є. Маковська²

Дослідження впливу препарату «Хондросат» на перебіг експериментального ад'ювантного артриту в щурів

¹ТОВ «Фармацевтичний завод «Біофарма»», м. Біла Церква²Головний військовий медичний госпіталь, м. Київ

Ключові слова: ревматоїдний артрит, хондроїтину сульфат, хондропротектори, хондросат

Ревматоїдний артрит – це системне автоімунне захворювання, яке характеризується запаленням і деструкцією суглобів, а також розвитком синовіту, який погано піддається лікуванню [1]. З метою поліпшення якості життя, усунення больового синдрому та поліпшення рухової функції уражених суглобів хворим на ревматоїдний артрит призначають ненаркотичні анальгетики та нестероїдні протизапальні препарати, які здійснюють анальгезуючу, жарознижувальну, протизапальну дію [2]. Проте, не зважаючи на очевидний терапевтичний ефект, ці ліки усувають тільки симптоми, а при довготривалому застосуванні можуть негативно впливати на діяльність органів шлунково-кишкового тракту, серцево-судинної, імунної та видільної систем [3, 4]. Крім того, симптоматичне лікування не вирішує проблему деструкції хрящової тканини в суглобах. Тому сьогодні актуальними є дослідження ефектів речовин, які могли б усувати як біль, так і структурну деградацію [5]. Одним з досягнень сучасної фармакотерапії є розробка хондропротекторів – групи лікарських засобів, здатних впливати на симптоми та модифікувати структуру хрящової тканини [6]. Сучасні хондропротектори містять структурні елементи натуральної хрящової тканини, зокрема, хондроїтину сульфат (ХС), який є одним з основних компонентів позаклітинного матриксу сполучної тканини хряща, і класифікується Європейським агентством з лікарських засобів як біологічно активна речовина [7].

Так, показано, що в хондроцитах, виділених з хряща пацієнтів з остеоартритом, препарати ХС модулюють експресію низки структурних білків, факторів росту та білків позаклітинного матриксу [8]. Окрім того, ХС пригнічує синтез простагландину Е2, інтерлейкіну-6 та С-реактивного білка, а також катаболічну активність хондроцитів [9]. Завдяки цьому ХС здійснює позитивний вплив, створюючи передумови для формування сталого хряща. Саме тому ХС як один з симптоматичних препаратів уповільненої дії рекомендовано Європейською антиревматичною лігою (EULAR) та Європейським товариством з клінічних та економічних аспектів остеопорозу та остеоартриту (ESCEO) для лікування пацієнтів з артритом та артрозами колінного суглоба та стегна [10, 11]. Згідно з даними джерел літератури, наявна в шлунково-кишковому тракті мікрофлора здатна руйнувати ХС, який надійшов *per os*, – він частково десульфатується та деполімеризується [12–14]. Тому особливу зацікавленість викликають ін'єкційні форми хондропротекторів, зокрема, новий препарат «Хондросат» виробництва ТОВ «Фармацевтичний завод «Біофарма». Успішна розробка та впровадження в лікарську практику нових препаратів потребує ретельних доклінічних досліджень.

Мета дослідження – вивчити вплив препарату «Хондросат» на перебіг експериментального ад'ювантного артриту в щурів.

Матеріали та методи. Оцінку специфічної фармакологічної активності препарату «Хондросат» (ТОВ «Фармацевтичний завод «Біофарма», м. Біла Церква, розчин для ін'єкцій 100 мг/мл

по 2 мл у ампулі) проводили на моделі ад'ювантного артриту (АА), що є найнаближенішою до ревматоїдного артриту людини [15]. Для створення цієї патології щурам у праву кінцівку субплантарно вводили по 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда («Difco laboratory», США) [16]. Починаючи з 14 доби, тваринам щоденно впродовж 10 діб внутрішньоочередовно вводили «Хондросат» у терапевтичній дозі – 35 мг/кг. Референтним препаратом був обраний «Мукосат нео» («Белмедпрепараты», м. Мінськ, Білорусь, розчин для ін'єкцій 100 мг/мл по 2 мл у ампулі).

Досліди проведено на 24 білих нелінійних щурах обох статей масою 170–190 г. Лабораторних тварин утримували у віварії згідно з стандартними санітарними нормами, на відповідному харчовому раціоні [17]. Усі дослідження виконані згідно з правилами «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і інших наукових цілях» [18]. Щури були поділені на 4 групи: перша – інтактний контроль (n = 6); друга – тварини з експериментальним АА (n = 6); третя – тварини з експериментальним АА + «Хондросат» (n = 6); четверта – тварини з експериментальним АА + «Мукосат нео» (n = 6).

Ефективність впливу препаратів на розвиток і перебіг експериментального АА оцінювали за анальгетичним ефектом, зменшенням набряку кінцівок, вмістом у плазмі крові біохімічних маркерів стану суглобів. Анальгетичний ефект оцінювали на 24 добу на моделі теплової імерсії, вимірюючи латентний період реакції відсмикування хвоста після його занурення у водяну баню при температурі (50,0 ± 0,2) °С [16].

Розмір гомілкового суглоба вимірювали планіметрично в самій широкій його частині на всіх етапах дослідження (0, 14 та 24 доби). Уміст у плазмі крові біохімічних маркерів – серомукоїдів [19] та глікозаміногліканів [20] визначали після закінчення експерименту (24 доба).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета прикладних програм STATISTICA 6.0 (statsoft, USA), використовуючи t критерій Стьюдента [21]. Значущими вважали відмінності між контролем і дослідом при p < 0,05.

Результати та їх обговорення. Досліджено зміни больового порогу у відповідь на термічний подразник упродовж формування та лікування артриту. Результати досліджень показали, що на 24 добу дослідження щури з АА на 24,3 % (p < 0,05) швидше відсмикують хвіст від джерела тепла, ніж інтактні тварини (табл. 1).

Після курсового лікування обома препаратами в усіх тварин спостерігається послаблення больового синдрому. Проте якщо в III групі значення порога больової чутливості наближалося до такого у інтактних тварин, то в IV цей показник залишався значущо меншим щодо I групи – на 12,9 % (p < 0,05). Отже, «Хондросат» має вищу анальгетичну активність ніж референтний препарат «Мукосат нео».

Відомо, що пік запальної реакції при експериментальному АА припадає на 14 добу [15, 16]. У цей термін у всіх групах тварин з експериментальною патологією спостерігали збільшення розмірів ушкодженого суглоба

У групі II – на 22,2 %, у групі III – на 20,5 %, у групі IV – на 17,5% щодо

Таблиця 1

Зміни порога больової чутливості у щурів з ад'ювантим артритом під впливом препаратів «Хондросат» і «Мукосат нео» на 24 добу дослідження, M ± m, n = 6

Показник	Група тварин			
	Інтактний контроль (I)	Ад'ювантний артрит (II)	Ад'ювантний артрит + Хондросат (III)	Ад'ювантний артрит + Мукосат нео (IV)
Латентний період, хв	120,3 ± 3,47	91,0 ± 2,31*	112,5 ± 5,89	104,7 ± 4,58*

Примітка. *p < 0,05 щодо інтактного контролю.

вихідного рівня (табл. 2). На 24 добу експерименту в щурів з АА (група II) розмір гомілкового суглоба перевищував вихідний рівень на 29,9 %. При цьому в III групі тварин об'єм набряку задньої кінцівки був більшим вихідного рівня на 15,6 %, а в IV – на 18,2 %. Отже, після 10-денного лікування досліджуваними препаратами спостерігається зменшення розмірів ушкоджених суглобів. Антиексудативна активність «Хондросату» була більш вираженою, оскільки у цієї групи щурів (III) об'єм набряку зменшився на 10,7 %, а при дії «Мукосат нео» (IV група) – на 6,4 % щодо нелікованих тварин (група II).

Різноманітні запальні захворювання, до яких належить і ревматоїдний артрит, супроводжуються збільшенням концентрації в плазмі крові гексоз, зв'язаних з серомукоїдами. Оскільки останні, як і глюкозаміноглікани, входять до складу сполучної тканини, у разі її пошкодження або руйнування ці мукопротеїди потрапляють у системний кровотік. Вони є маркерами пошкодження суглобів, які відображають інтенсивність та поширеність запального процесу, і дозволяють більш об'єктивно оцінити ступінь

деструкції хряща та ефективність лікування [16]. Результати досліджень показали, що у тварин з АА на 24 добу дослідження вміст серомукоїдів у плазмі крові збільшився на 550 %, тобто у 6,5 разу, а глюкозаміногліканів на 53,4 % порівняно з показниками інтактних тварин (табл. 3).

Лікування впродовж 10 діб препаратом «Хондросат» (тварини III групи) призвело до зниження рівня серомукоїдів на 47,4 % ($p < 0,05$), а глюкозаміногліканів на 17,6 % щодо відповідних значень у щурів групи II. Водночас у тварин, яким вводили препарат «Мукосат нео», концентрації цих сполук щодо їх рівня в щурів з АА зменшилися на 19,2 та 7,2 % відповідно. Отже, здатність препаратів, які містять хондроїтину сульфат, знижувати рівень серомукоїдів та глюкозаміногліканів у крові може свідчити про ефективність лікування, деяке відновлення сполучної тканини, нормалізацію стану її функцій суглобів. При цьому кращу протизапальну та відновлювальну дію демонструє «Хондросат». У референтного препарату «Мукосат нео» ці властивості менш виражені.

Таблиця 2

Динаміка розмірів суглобів у щурів упродовж перебігу та після лікування експериментального ад'ювантного артриту, мм, $M \pm t$, $n = 6$

Доба дослідю	Група тварин		
	Ад'ювантний артрит (II)	Ад'ювантний артрит + Хондросат (III)	Ад'ювантний артрит + Мукосат нео (IV)
Вихідний рівень	24,00 \pm 0,68	24,07 \pm 0,42	24,67 \pm 0,84
14	29,33 \pm 0,88*	29,00 \pm 0,68*	29,00 \pm 0,89*
24	31,17 \pm 0,60*	27,83 \pm 0,48**	29,17 \pm 0,54**

Примітка. * $p < 0,05$ щодо вихідного рівня, ** $p < 0,05$ щодо показника групи ад'ювантного артриту.

Таблиця 3

Концентрація серомукоїдів та глюкозаміногліканів у сироватці крові щурів за ад'ювантного артриту та впливу препаратів «Хондросат» і «Мукосат нео» на 24 добу дослідження

Показник	Група тварин			
	Інтактний контроль (I)	Ад'ювантний артрит (II)	Ад'ювантний артрит + Хондросат (III)	Ад'ювантний артрит + Мукосат нео (IV)
Серомукоїди, у. о.	0,12 \pm 0,01	0,78 \pm 0,03*	0,41 \pm 0,03#	0,63 \pm 0,05
Глюкозаміноглікани, мг/100 мл	0,81 \pm 0,21	1,25 \pm 0,22*	1,03 \pm 0,26	1,16 \pm 0,33

Примітка. * $p < 0,05$ щодо групи інтактного контролю; # $p < 0,05$ щодо групи ад'ювантного артриту.

Висновок

Розчин для ін'єкцій «Хондросат» має позитивний терапевтичний ефект при лікуванні ад'ювантного артриту в щурів. Після 10-денного внутрішньочеревинного застосування у тварин з експериментальною патологією підвищується поріг больової чутливості,

зменшуються розміри суглобів, а також уміст серомукоїдів та глюкозаміногліканів у сироватці крові. Антиноцицептивна, протизапальна та модифікуюча хондропротекторна активність препарату «Хондросат» більш виражена, ніж у референтного препарату «Мукосат нео».

1. Митрофанов В. А. Новая технология лечения аутоиммунных артритов (экспериментальное исследование) / В. А. Митрофанов, М. В. Федотова, Б. Я. Позднякова, Е. В. Гладкова // Травма. – 2009. – Т. 10, № 3. – С. 277–281.
2. Tanaka Y. Current concepts in the management of rheumatoid arthritis / Tanaka Y. // Korean J. Intern. Med. – 2016. – V. 31(2). – P. 210–218.
3. Зупанець І. А. До характеристики гастротоксичної дії нестероїдних протизапальних засобів – неселективних, селективних і специфічних інгібіторів ЦОГ-2 / І. А. Зупанець, Е. А. Андреева // Ліки України. – 2005. – № 4. – С. 113–114.
4. Characteristics and clinical outcome of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced acute hepatonephrotoxicity among Chinese patients. / Cao Y. L., Tian Z. G., Wang F. [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2014 – V. 20(38). – P. 13956–13965.
5. Symptom and structure modification in osteoarthritis with pharmaceutical-grade chondroitin sulfate: What's the evidence? / Hochberg M., Chevalier X., Henrotin Y. [et al.] // Curr. Med. Res. Opin. – 2013. – V. 29. – P. 259–267.
6. Носівець Д. С. Фармакологія хондропротекторів (огляд фармацевтичного ринку України) / Д. С. Носівець // Вісник проблем біології і медицини. – 2013 – Т. 1 (104), Вип. 4. – С. 57–63.
7. Co-ordination Group for Mutual Recognition and Decentralised Procedures—Human (CMDh). Overview of Biological Active Substances of Non-Recombinant Origin. [Електронний ресурс]. Режим доступу: http://www.hma.eu/fileadmin/dateien/Human_Medicines/CMD_h_/procedural_guidance/Compilation_Biological_Active_Substance_non-recombinant_origin.pdf (accessed on 21 November 2014).
8. Pharmacoproteomic study of three different chondroitin sulfate compounds on intracellular and extracellular human chondrocyte proteomes / Calamia V., Fernandez-Puente P., Mateos J. [et al.] // Mol. Cell. Proteomics. – 2012. – Jun 11 (6). – P. M111.013417.
9. Variable effects of 3 different chondroitin sulfate compounds on human osteoarthritic cartilage/chondrocytes: Relevance of purity and production process / Tat S. K., Pelletier J. P., Mineau F. [et al.] // J. Rheumatol. – 2010. – V. 37. – P. 656–664.
10. An algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis in Europe and internationally: A report from a task force of the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). / Bruyere O., Cooper C., Pelletier, J. P. [et al.] // Semin. Arthritis Rheum. – 2014 – V. 44. – P. 253–263.
11. EULAR evidence based recommendations for the management of hip osteoarthritis: Report of a task force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCSIT) / Zhang W., Doherty M., Arden N. [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – V. 64. – P. 669–681.
12. Characterization of a bacteroides species from human intestine that degrades glycosaminoglycans / Ahn M. Y., Shin K. H., Kim D.-H. [et al.] // Can. J. Microbiol. – 1998. – V. 44. – P. 423–429.
13. Biochemical and pharmacokinetic aspects of oral treatment with chondroitin sulfate / Conte A., Volpi N., Palmieri L. [et al.] // Arzneimittel-Forschung. – 1995. – V. 45(8). – P. 918–925.
14. Volpi N. Oral bioavailability of chondroitin sulfate (Condrosulf®) and its constituents in healthy male volunteers / Volpi N. // Osteoarthritis and Cartilage. – 2002. – V. 10. – P. 768–777.
15. Саратиков А. С. Адьювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия) / А. С. Саратиков, А. И. Венгеровский, Т. П. Прищеп. – Томск, 1983. – 104 с.
16. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
17. Настанова СТ-НМОЗУ 42-6.0:2008. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне) / О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко [та ін.] – Київ : Моріон, 2009. – С. 37–68.
18. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
19. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Минск, 2000. – Т. 2. – С. 64–66.
20. Метод определения глюкозаминогликанов в биологических жидкостях / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. И. Соловьева [и др.] // Лабораторное дело. – 1987. – № 5. – С. 330–332.
21. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – 3-е изд. – Москва: МедиаСфера, 2006. – 312 с.

В. Л. Карбовський, І. А. Шевчук, О. В. Куркіна, Т. Є. Маковська
Дослідження впливу препарату «Хондросат» на перебіг експериментального ад'ювантного артриту у щурів

Ревматоїдний артрит – це системне автоімунне захворювання, яке характеризується запаленням і деструкцією суглобів, а також розвитком синовіту, який погано піддається лікуванню. Одним з досягнень сучасної фармакотерапії є розробка хондропротекторів – групи лікарських засобів, здатних впливати на симптоми та модифікувати структуру хрящової тканини. Сучасні хондропротектори містять структурні елементи натуральної хрящової тканини, зокрема, хондроїтину сульфат, який є одним з основних компонентів позаклітинного матриксу сполучної тканини хряща і класифікується Європейським агентством з лікарських засобів як біологічно активна речовина.

Мета дослідження – вивчити вплив препарату «Хондросат» на перебіг експериментального ад'ювантного артриту у щурів.

Починаючи з 14 доби від початку розвитку експериментального ад'ювантного артриту тваринам однієї групи щоденно протягом 10 діб внутрішньоочеревинно вводили препарат «Хондросат», а іншої – референтний препарат «Мукосат нео» у терапевтичних дозах – 35 мг/кг. Ефективність лікування оцінювали за наступними показниками: розмір гомілкового суглоба, анагетичний ефект препаратів, уміст у плазмі крові біохімічних маркерів стану суглобів.

Показано, що після 10-денного застосування препарату «Хондросат» у щурів з експериментальним ад'ювантним артритом розмір суглобів зменшується на 10,7 % ($p < 0,05$), а під дією референтного препарату – на 6,4 % ($p < 0,05$). Концентрація серомукоїдів у сироватці крові щурів під впливом препарату «Хондросат» зменшилася на 47,4 % ($p < 0,05$), а у тварин, яким вводили «Мукосат нео» – на 19,2 % порівняно з показником у тварин з експериментальним ад'ювантним артритом. Концентрація глікозаминогліканів у цих групах зменшилася на 17,6 та 7,2 % відповідно.

Розчин для ін'єкцій «Хондросат» має позитивний терапевтичний ефект при лікуванні ад'ювантного артриту у щурів. Антиноцицептивна, протизапальна та модифікуюча хондропротекторна активність препарату «Хондросат» більш виражена, ніж у референтного препарату «Мукосат нео».

Ключові слова: ревматоїдний артрит, хондропротектори, хондроїтину сульфат, хондросат

В. Л. Карбовский, И. А. Шевчук, О. В. Куркина, Т. Е. Маковская
Исследование влияния препарата «Хондросат» на течение экспериментального адьювантного артрита у крыс

Ревматоидный артрит – это системное аутоиммунное заболевание, характеризующееся воспалением и деструкцией суставов, а также развитием синовита, который плохо поддается лечению. Одним из достижений современной фармакотерапии является разработка хондропротекторов – группы лекарственных средств, способных влиять на симптомы и модифицировать структуру хрящевой ткани. Современные хондропротекторы содержат структурные элементы натуральной хрящевой ткани, в частности, хондроитина сульфат, который является одним из основных компонентов внеклеточного матрикса соединительной ткани хряща и классифицируется Европейским агентством по лекарственным средствам как биологически активное вещество.

Цель исследования – изучить влияние препарата «Хондросат» на течение экспериментального адьювантного артрита у крыс.

Начиная с 14 дня от начала развития экспериментального адьювантного артрита, животным одной группы ежедневно в течение 10 дней внутрибрюшинно вводили препарат «Хондросат», а другой – референтный препарат «Мукосат нео» в терапевтических дозах – 35 мг/кг. Эффективность лечения оценивали по следующим показателям: размер голеностопного сустава, анальгетический эффект препаратов, содержание в плазме крови биохимических маркеров состояния суставов. Показано, что после 10-дневного применения препарата «Хондросат» у крыс с экспериментальным адьювантным артритом размер суставов уменьшается на 10,7 % ($p < 0,05$), а под действием референтного препарата – на 6,4 % ($p < 0,05$). Концентрация серомукоидов в сыворотке крови у крыс под влиянием препарата «Хондросат» уменьшилась на 47,4 % ($p < 0,05$), а у животных, которым вводили «Мукосат нео» – на 19,2 % по сравнению с показателями животных с экспериментальным адьювантным артритом. Концентрация гликосаминогликанов в этих группах уменьшилась на 17,6 и 7,2 % соответственно.

Раствор для инъекций «Хондросат» имеет положительный терапевтический эффект при лечении адьювантного артрита у крыс. Антиноцицептивная, противовоспалительная и модифицирующая хондропротекторная активность препарата «Хондросат» более выражена, чем у референтного препарата «Мукосат нео».

Ключевые слова: ревматоидный артрит, хондропротекторы, хондроитина сульфат, хондросат

V. L. Karbovskyy, I. A. Shevchuk, O. V. Kurkina, T. Ye. Makovska
A study of influence of «Chondrosut» on the course of experimental adjuvant arthritis in rats

Rheumatoid arthritis is a systemic autoimmune disease characterized by inflammation and destruction of joints, as well as the development of synovitis, which is resistant to treatment. One of the achievements

of modern pharmacotherapy is development of chondroprotectors. It is a group of medical products that can influence the symptoms of rheumatoid arthritis and modify the structure of cartilage. Modern chondroprotectors containing structural elements of natural cartilage particularly chondroitin sulfate. It is main component of the extracellular matrix of connective tissue of cartilage. European Medicines Agency classifies chondroitin sulfate as a biologically active substance.

The aim of the study was to research influence of the medical product «Chondrosut» on the course of experimental adjuvant arthritis in rats.

Starting from 14 days from the onset of experimental adjuvant arthritis animals of one group were injected i.p. «Chondrosut» daily for 10 days. The other group were injected with reference product «Mukosat neo». Therapeutic dose of medical products for both groups was established as 35 mg/kg. Treatment efficacy was evaluated by the following parameters: the size of the ankle joint, the analgesic effect, serum levels of biochemical markers of joint health. The results demonstrate that after 10 days of «Chondrosut» injection, size of the joints in rats with experimental adjuvant arthritis was reduced by 10,7 % ($p < 0,05$), and under the influence of the reference drug – by 6,4 % ($p < 0,05$). Seromuroid concentration in serum of rats treated with «Chondrosut» decreased by 47,4 % ($p < 0,05$), while the animals treated with «Mukosat neo» – 9,2 %, relative to corresponding parameters in experimental adjuvant arthritis animals. The level of glycosaminoglycans in these groups decreased by 17,6 and 7,2 % respectively.

Therefore, injection «Chondrosut» has a positive therapeutic effect for the treatment of adjuvant arthritis in rats. Antinociceptive, anti-inflammatory and modifying chondroprotective activity of «Chondrosut» drug is more pronounced than the reference product «Mukosat neo».

Key words: rheumatoid arthritis, chondroprotectors, chondroitin sulfate, chondrosut

Надійшла: 4 березня 2016 р.

Контактна особа: Шевчук Інна Анатоліївна, кандидат біологічних наук, ТОВ «Фармацевтичний завод «Біофарма», буд. 37, вул. Київська, м. Біла Церква, 09100. Тел.: + 38 0 66 103 77 50.
Електронна пошта: publication@biofarma.ua