

## КОМПОЗИЦІЇ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ З ГЛЮКОЗАМІНУ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛАТОМ ТА ЇХ ВПЛИВ НА МЕТАБОЛІЗМ ГЛІКОЗАМІНОГЛІКАНІВ

*С.М.Осадченко*

Державне підприємство “Український медичний центр сертифікації МОЗ України”

*Ключові слова: хрящ; глікозаміноглікан; біохімія; експеримент; глюкозаміну гідрохлорид; кислота ацетилсаліцилова; остеоартроз*

*Представлені результати біохімічного дослідження змін метаболізму та накопичення макромолекул матриксу суглобового хряща, а також запальних тестів у експериментальних тварин із моделлю кортикостероїдної дистрофії сполучної тканини під впливом лікування композиціями глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом 2:1; 1:1 та 1:2 за масою у дозі 100 мг/кг. Відзначено, що у співвідношеннях 2:1 та 1:1 зазначені композиції виявляли виражений протиартозний ефект, композиція із співвідношенням даних компонентів 1:2 була значно менш активною. На основі результатів досліджень у якості базової для створення нового протиартозного препарату рекомендована композиція глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом у співвідношенні 1:1 за масою.*

Суглобовий хрящ оптимізований для витримки фізичних навантажень. Єдині клітини, представлені в зрілій хрящовій тканині, хондроцити, відповідальні за синтез макромолекул і цілісність міжклітинного матриксу [11].

При пошкодженнях суглобів спостерігається вивільнення глікозаміногліканів (ГАГ) з міжклітинного матриксу, що є наслідком порушення біосинтетичних процесів у хондроцитах [10].

Молекули агрегану і колагену типу II спільно забезпечують цілісність хряща і його функціональність [9].

Пошкодження суглобового хряща викликають швидке вивільнення ГАГ з тканини. Інгібування активності матриксних металопротеаз знижує втрати хрящем ГАГ, що свідчить про можливість використання цього ефекту як потенційного терапевтичного втручання [6].

Смерть хондроцитів, що індукується механічними пошкодженнями, може бути зменшена застосуванням антиоксидантів [5].

Цілим рядом пацієнтів з остеоартрозом з успіхом використовуються глюкозамін. Високі концентрації глюкозаміну та аміноцукрів мають анаболічні і протизапальні ефекти на хондроцити [8].

Представлене дослідження присвячене вирішенню питання оцінки результатів комбінування глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом для покращення його фармакологічних ефектів.

### Матеріали та методи

Кортикостероїдну дистрофію в експериментальних білих щурів-самців лінії Вістар 3-місячного віку з масою тіла 190-210 г моделювали за методом R.G.Gray, N.L.Gottlieb [7] шляхом внутрішньом'язового введення 200 мг/кг гідрокортизону ацетату на про-

тязі 14-ти діб. 24 тварини були випадковим чином розподілені на 4 групи таким чином, щоб у кожній групі було по 6 тварин. Досліджували субстанції і комбінації вводили експериментальним тваринам внутрішньошлунково у вигляді водного розчину або суспензії без стабілізатора 1 раз на добу на протязі 21-ї доби. Перша група — контроль патології, тварини якої замість лікування отримували 0,5 мл фізіологічного розчину на добу, тварин другої лікували композицією глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом (1:2 за масою) в дозі 100 мг/кг, третьої — композицією 1:1 за масою в тій же дозі, четвертої — композицією 2:1 за масою в тій же дозі. Водночас досліджували показники групи з 6 інтактних тварин. Після цього тварини були виведені з експерименту декапітацією під ефірним наркозом. Для біохімічних досліджень у них було забрано кров та хрящове покриття з голівок кульшових, колінних та плечових суглобів.

У хрящі суглобів визначали фракційний склад ГАГ за методом Л.І.Слущького [4]. До першої

**С.М.Осадченко** — здобувач кафедри клінічної фармакології з фармацевтичною опікою Національного фармацевтичного університету (м. Харків), перший заступник директора Державного підприємства “Український медичний центр сертифікації МОЗ України” (м. Київ)

Таблиця

**Різниця у % та достовірність (P) вмісту фракцій і суми глікозаміногліканів у суглобовому хрящі експериментальних тварин, пролікованих досліджуваними комбінаціями глюкозаміну гідрохлориду з ацетилсаліциловою кислотою, n=30**

Субстанція (композиція), доза мг/кг	Фракційний склад глікозаміногліканів суглобового хряща, г/100 г				Фракційний склад глікозаміноглікансульфатів сироватки крові, г/л				Вміст у сироватці крові загальних хондроїтинсульфатів, г/л	Відношення вмісту хондроїтинсульфатів у суглобовому хрящі та в сироватці крові
	гіалуронати	хондроїтинсульфати	високосульфатовані глікозаміноглікани	сума глікозаміногліканів	гіалуронати + хондроїтин-6-сульфати	хондроїтин-4-сульфати	високосульфатовані глікозаміноглікани	сума глікозаміноглікансульфатів		
Інтактні тварини, n=6	0,214±0,012	0,426±0,029	0,146±0,010	0,786±0,026	0,168±0,005	0,083±0,003	0,017±0,001	0,269±0,008	0,381±0,008	1,118±0,081
Контрольна група, n=6	0,246±0,008 -48,62%* P<0,001*	0,261±0,014 -38,73%* P<0,001*	0,099±0,010 -32,19%* P<0,001*	0,470±0,015 -40,32%* P<0,001*	0,231±0,005 +36,94%* P<0,05*	0,127±0,004 +52,76%* P<0,05*	0,027±0,001 +37,74%* P<0,05*	0,384±0,009 +43,04%* P<0,01*	0,687±0,010 +80,31%* P<0,001*	0,380±0,042 -66,01%* P<0,001*
Глюкозаміну гідрохлорид + глюкозаміну ацетилсаліцилат 1:2, 100 мг/кг	0,160±0,013 -25,23%* P<0,05* +45,45%** P<0,01**	0,395±0,018 -17,28%* P<0,05* +51,34%** P<0,001**	0,139±0,008 -4,79%* P>0,05* +40,40%** P<0,02**	0,694±0,032 -11,75%* P<0,05* +47,66%** P,001**	0,183±0,004 +8,43%* P>0,05* -20,80%** P<0,05**	0,100±0,004 +20,61%* P<0,05* -21,01%** P<0,05**	0,019±0,001 +12,42%* P>0,05* -28,32%** P<0,05**	0,301±0,001 +12,03%* P>0,05* -21,68%** P<0,05**	0,456±0,017 +19,69%* P<0,05* -33,62%** P<0,01**	0,866±0,075 -22,54%* P<0,05* +127,89%** P<0,001**
Глюкозаміну гідрохлорид + глюкозаміну ацетилсаліцилат 1:1, 100 мг/кг	0,192±0,014 -10,28%* P<0,05* +74,55%** P<0,001**	0,411±0,017 -3,52%* P>0,05* +57,47%** P<0,001**	0,149±0,013 +2,05%* P>0,05* +50,51%** P<0,001**	0,752±0,019 -4,33%* P>0,05* +60,00%** P<0,001**	0,175±0,005 +3,84%* P>0,05* -24,21%** P<0,05**	0,086±0,003 +3,85%* P>0,05* -20,67%** P<0,05**	0,018±0,001 +5,92%* P>0,05* -32,45%** P<0,01**	0,279±0,008 +3,91%* P>0,05* -27,36%** P<0,05**	0,378±0,011 -0,79%* P>0,05* -44,98%** P<0,001**	1,087±0,087 -2,77%* P>0,05* +186,05%** P<0,001**
Глюкозаміну гідрохлорид + глюкозаміну ацетилсаліцилат 2:1, 100 мг/кг	0,168±0,015 -21,49%* P<0,05* +52,73%** P<0,001**	0,425±0,018 -0,23%* P>0,05* +62,83%** P<0,001**	0,151±0,011 +3,42%* P>0,05* +52,53%** P<0,001**	0,744±0,023 -5,34%* P>0,05* +58,38%** P<0,001**	0,174±0,006 +3,38%* P>0,05* -24,50%** P<0,05**	0,086±0,004 +2,38%* P>0,05* -32,65%** P<0,05**	0,018±0,001 +1,18%* P>0,05* -35,47%** P<0,05**	0,277±0,007 +3,05%* P>0,05* -27,95%** P<0,05**	0,390±0,017 +2,36%* P>0,05* -43,23%** P<0,001**	1,090±0,118 -2,50%* P>0,05* +186,84%** P<0,001**

Примітки:

- 1) \* — у порівнянні до даних групи інтактних тварин;
- 2) \*\* — у порівнянні до даних групи контрольних тварин.

фракції відходили гіалуронова кислота та гіалуронати, до другої — хондроїтин-6-сульфат та хондроїтин-4-сульфат, до третьої — високосульфатовані ГАГ. У сироватці крові визначали вміст загальних хондроїтинсульфатів [2]. При дослідженні фракційного складу глікозаміноглікансульфатів (ГАГс) сироватки крові до першої фракції відходили гіалуронати та хондроїтин-6-сульфат, до другої — хондроїтин-4-сульфат, до третьої — кератансульфати [3]. Додатково вираховували відношення вмісту хондроїтинсульфатів у суглобовому хрящі та в сироватці крові, що є характеристикою переважання анаболічних або катаболічних процесів в обміні ГАГ відповідно при збільшенні або зменшенні значень.

Результати досліджень були статистично оброблені за допомогою пакету програм Microsoft Excel із використанням t-критерію

Стьюдента з визначенням середніх арифметичних, стандартного відхилення і вірогідності ряду. Після цього результати рядів експериментальних груп порівнювали з даними інтактної та контрольної груп, а також між собою. Статистично достовірним вважали розходження при  $P<0,05$  і менше [1].

### Результати та їх обговорення

Результати досліджень показали, що введення на протязі двох тижнів експериментальним тваринам 200 мг/кг гідрокортизону ацетату призводило до розвитку в останніх вираженої кортикостероїдної дистрофії із зниженням вмісту у хрящі суглобів і відповідним підвищенням вмісту у сироватці крові усіх фракцій та суми ГАГ (таблиця).

Композиція глюкозаміну гідрохлориду із глюкозаміну ацетил-

саліцилатом у масовому співвідношенні 1:2 за своєю хондропротекторною дією стоїть близько до глюкозаміну ацетилсаліцилату. Так, хоча лікування зазначеною композицією і призводило до значного підвищення вмісту у хрящі суглобів експериментальних тварин фракцій гіалуронатів, хондроїтинсульфатів і високосульфатованих ГАГ, а також суми ГАГ на 45,45%; 51,34%; 40,40% і 47,66% відповідно у порівнянні до таких у контрольних шурів, рівень даних параметрів в інтактній групі не був досягнутий (таблиця).

При цьому після лікування композицією глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом у співвідношенні 1:2 за масою вміст у суглобовому хрящі тварин фракцій гіалуронатів, хондроїтинсульфатів і суми ГАГ був нижчим, ніж у інтактних шурів на 25,23%; 17,28% і 11,75% відповідно (таблиця). Як видно, най-

більшою мірою знизився вміст у гіаліновій хрящовій тканині фракції гіалуронатів, меншим чином — хондроїтинсульфатів. Виходячи з особливої специфічної ролі, яку зазначені макромолекули відіграють у структурі ПГ, можна зробити висновок про те, що в хрящовій тканині, яка покриває великі суглоби, в експериментальних тварин даної групи залишалося значно менше, ніж у аналогічних здорових тварин повноцінних агрегатів ПГ, до складу яких обов'язково входить центральна молекула гіалуронової кислоти, і були присутні у значній кількості молекули ПГ, що знаходилися на стадії незавершеної зборки або на стадії руйнування, з недостатньою кількістю молекул хондроїтинсульфатів, приєднаних до гіалуронової кислоти.

За вмістом фракції хондроїтин-4-сульфатів у суглобовому хрящі лікованих даною композицією тварин була присутня достовірна різниця (+20,61%) у порівнянні до такого в інтактних тварин (таблиця).

Рівень загальних хондроїтинсульфатів у сироватці крові експериментальних щурів був на 33,62% нижче за такий у контрольній групі, але водночас на 19,62% вище за показник здорових тварин.

Незважаючи на проведені лікування, в хрящовій тканині тварин тривали деструктивні процеси, а також був знижений рівень біосинтезу ГАГ, особливо, хондроїтинсульфатів. При цьому величина коефіцієнта співвідношення між вмістом хондроїтинсульфатів у суглобовому хрящі і в сироватці крові підвищувалася на 127,89% і становила на 22,54% нижче за таку у здорових тварин. Це свідчить про хондропротекторну активність аналізованої композиції, котра однак не була в змозі нормалізувати обмін ГАГ.

Композиція глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом у масовому співвідношенні 1:1 діяла на гіаліновий хрящ експериментальних тварин більш сприятливо, що, вірогідно, стало наслідком більш оптимальних доз компонентів. У суглобовому хрящі тварин була зафіксо-

вана нормалізація фракційного складу ГАГ. Так, вміст фракцій гіалуронатів, хондроїтинсульфатів та високосульфатованих ГАГ, а також суми ГАГ хряща експериментальних тварин розглянутої групи був більше, ніж у контрольних нелікованих щурів на 74,55%; 57,47%; 50,51% та 60,00% відповідно.

У відношенні параметрів інтактних тварин щури, проліковані аналізованою композицією, відрізнялися меншим на 19,63% вмістом фракції гіалуронатів. Вміст інших фракцій і суми ГАГ відповідали таким у здорових щурів. Недостатня кількість гіалуронатів у хрящі тварин свідчить про значну інерційність у метаболізмі даних великих молекул ГАГ. Порушений гідрокортизоном біосинтез гіалуронової кислоти відновлювався дуже повільно з урахуванням того, що саме гіалуронати є основою для зборки всіх інших ГАГ у гігантську молекулу ПГ, а зменшена кількість гіалуронової кислоти свідчить про недостатню повноцінність наново сформованих ГАГ.

Після лікування експериментальних тварин даною композицією зафіксовані нижчі значення вмісту гіалуронатів та хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфату та кератансульфатів та суми ГАГс у сироватці крові у порівнянні з такими у контрольних тварин на 24,21%; 20,67%, 32,45% та 27,36% відповідно. Дані показники були на рівні таких у здорових щурів.

Вміст загальних хондроїтинсульфатів у сироватці крові був на 44,98% нижчим за такий у контрольних нелікованих тварин і не відрізнявся від показників здорових тварин.

Після лікування композицією глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом у співвідношенні 2:1 за масою виявлена нормалізація складу макромолекул матриксу суглобового хряща, за виключенням фракції гіалуронатів, вміст якої залишався на 21,49% меншим, ніж у інтактних тварин. Лікування зазначеною композицією призводило до

підвищення вмісту фракції гіалуронатів, хондроїтинсульфатів, високосульфатованих ГАГ, а також їх суми в суглобовому хрящі на 52,53%; 62,83%; 52,53% і 58,30% відповідно, що говорить про виражену спроможність використаної композиції стимулювати метаболізм ГАГ.

Вміст фракцій гіалуронатів та хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфату, кератансульфату, а також суми ГАГс у сироватці крові пролікованих дослідженою композицією експериментальних тварин не відрізнявся від такого у здорових щурів і був нижчим, ніж у контрольній групі нелікованих тварин відповідно 24,50%; 32,65%; 35,47% та 27,95%. Відзначено також синхронне зниження на 43,27% вмісту загальних хондроїтинсульфатів до рівня, що не відрізняється від такого у здорових тварин.

Відзначена нормалізація величини коефіцієнта співвідношення між вмістом хондроїтинсульфатів у хрящі та у сироватці крові (таблиця).

#### ВИСНОВКИ

Таким чином, комплексний аналіз параметрів метаболізму глікозаміногліканів хряща суглобів і сироватки крові у експериментальних тварин з кортикостероїдною дистрофією сполучної тканини, пролікованих композиціями глюкозаміну гідрохлориду з глюкозаміну ацетилсаліцилатом у співвідношеннях від 2:1 до 1:2 за масою, показав наступне.

1. Порушення метаболізму глікозаміногліканів після 14-добового введення 200 мг/кг гідрокортизону ацетату носило зворотний характер.

2. Досліджені композиції проявили виражену хондропротекторну дію з поєднанням стимулювання біосинтезу глікозаміногліканів із пригніченням їх катаболізму. Даний ефект був максимальним у композицій із масовим співвідношенням компонентів 2:1 та 1:1.

3. Виходячи з даних проведених досліджень, найбільш перспективною для створення нового протизапального препарату визнано композицію глюкозаміну гідрохло-

риду з глюкозаміну ацетилсалцилатом у співвідношенні 1:1 за масою.

4. При лікуванні тварин із експериментальною кортикостероїдною дистрофією композицію глюкозаміну гідрохлориду з глюкоз-

аміну ацетилсалцилатом у співвідношенні 1:1 за масою спостерігалось компенсаторне підвищення відношення між вмістом фракцій хондроїтинсульфатів та гіалуронової кислоти. Це свідчить про

формування нових протеогліканів із збільшеною кількістю молекул хондроїтинсульфатів, прикріплених до однієї центральної молекули гіалуронової кислоти із формуванням великих агрегатів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабиц П.Н. *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel*. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
2. Левченко В.І., Новожитская Ю.М., Сахнюк В.В. та ін. *Біохімічні методи дослідження крові хворих: Метод. рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів державних лабораторій ветеринарної медицини України*. — К., 2004. — 104 с.
3. Пат. України на корисну модель №29198 МПК (2006) G 01 N 33/48. *Спосіб визначення фракцій сульфатованих гексозаміногліканів / Державна установа Інститут патології хребта та суглобів ім. проф. М.І.Ситенка АМНУ; Харківська державна зооветеринарна академія / Ф.С.Леонтєва, В.А.Філіпенко, О.П.Тимошенко та ін.* — Заявка №и 200708505. — Заявл.: 24.07.2007. Опубл.: 26.11.2007. — Бюл. №20. — 5 с.
4. Слуцкий Л.И. *Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани*. — Л.: Медицина, 1969. — 375 с.
5. Beecher B.R., Martin J.A., Pedersen D.R. et al. // *Iowa Orthop. J.* — 2007. — Vol. 27. — P. 1-8.
6. DiMicco M.A., Patwari P., Siparsky P.N. et al. // *Arthrit. Rheum.* — 2004. — Vol. 50, №3. — P. 840-848.
7. Gray R.G., Gottlieb N.L. // *Clin. Orthop. Rel. Res.* — 1983. — №177. — P. 235-263.
8. Herrero-Beaumont G., Rovati L.C., Castaneda S. et al. // *Expert. Opin. Pharmacother.* — 2007. — Vol. 8. — P. 215-225.
9. Ishiguro N., Kojima T. // *Clin. Calcium.* — 2004. — Vol. 14, №7. — P. 38-44.
10. Otsuki S., Brinson D.C., Creighton L. et al. // *Arthrit. Rheum.* — 2008. — Vol. 58, №4. — P. 1076-1085.
11. Sui Y., Lee J.H., DiMicco M.A. et al. // *Arthrit. Rheum.* — 2009. — Vol. 60. — P. 2985-2996.

Адреса для листування: 01042, м. Київ,  
вул. Чигорина, 18. Тел. (050) 352-90-33.  
Державне підприємство “Український медичний  
центр сертифікації МОЗ України”

Надійшла до редакції 25.10.2010 р.