

УДК 615.276:615.281.9:547.455.623:616.72-002.2

ВПЛИВ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ КОМБІНАЦІЇ ДОКСИЦИКЛІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ НА СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛІТНІ ПОКАЗНИКИ ЩУРІВ З КОЛАГЕН-ІНДУКОВАНИМ АРТРИТОМ

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

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: доксицикліну гідрохлорид; глюкозаміну гідрохлорид; композиція; диклофенак натрію; колаген-індукований артрит

THE EFFECT OF THE COMPOSITION CONTAINING THE COMBINATION OF DOXYCYCLINE HYDROCHLORIDE AND GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE ON THE STRUCTURAL AND METABOLITE INDICATORS IN RATS WITH COLLAGEN-INDUCED ARTHRITIS

І.А.Zupanets, К.М.Tkachenko, І.А.Otrishko, S.K.Shebeko

National University of Pharmacy

Key words: doxycycline hydrochloride; glucosamine hydrochloride; composition; diclofenac sodium; collagen-induced arthritis

On the model of collagen-induced arthritis in rats the anti-inflammatory properties of the composition containing the combination of doxycycline hydrochloride and glucosamine hydrochloride have been studied in comparison with its active monocomponents – doxycycline, glucosamine hydrochloride. According to the results of the experimental studies it has been proven that the composition containing the combination of doxycycline hydrochloride and glucosamine hydrochloride have a strong beneficial effect on the metabolism of the cartilage and bone tissue against the background of the autoimmune arthritis development and leads to inhibition of autoimmune processes in the connective tissue of animals. The normalization of the functional state of the joints and the clinical and biochemical parameters has been observed. By the degree of the pharmacological effect on the most parameters studied the combination exceeds the reference objects – the substance of doxycycline hydrochloride and glucosamine hydrochloride. The composition containing the combination of doxycycline hydrochloride and glucosamine hydrochloride is a promising corrector of the inflammatory and destructive joint diseases with the autoimmune component, and can be recommended for use in the complex therapy of patients with immuno-inflammatory and inflammatory-destructive diseases of joints.

Існування людини в умовах сучасного світу характеризується як подовженням тривалості, так і підвищенням темпу життя. Це спричиняє збільшення навантаження на опорно-руховий апарат, зокрема на суглобовий хрящ. Значну частку становлять такі захворювання як остеоартроз (ОА) і ревматоїдний артрит (РА) [14]. З урахуванням поширеності захворюваності перспективною є розробка нових методів і підходів до лікування цих хвороб. Також треба мати на увазі те, що незважаючи на розроблені програми терапії РА і ОА, результати лікування на сьогоднішній день залишаються незадовільними. Таким чином, потрібен пошук нових та модифікація існуючих

засобів з метою створення більш ефективних та безпечних антиартритних препаратів.

Одними з таких препаратів є антибактеріальні лікарські засоби, які, окрім свого основного антибактеріального ефекту, мають інші позаантибіотичні властивості [2, 10, 11]. Серія клінічних та експериментальних досліджень свідчить про те, що у тетрациклінів є ряд чинників, що зумовлюють протизапальну активність. У літературі є дані про успішне застосування доксицикліну у хворих ревматологічного профілю. Застосування цього препарату приводить до позитивної динаміки за рядом показників [12]. Проте на шляху більш широкого застосування тетрациклінів стоїть токсичність,

яка пов'язана з відсутністю селективності дії.

Саме тому представляється доцільним комбінувати тетрацикліни з речовинами, які можуть знижувати їх токсичну дію. Нашу увагу привернув глюкозамін, який здатен пригнічувати активність металопротеїнази, що сприяють деградації матриксу, та сприяти накопиченню макромолекул у матриксі сполучної тканини [8, 10].

Таким чином, можна припустити, що, створюючи комбіновані засоби на основі доксицикліну та глюкозаміну, можливо отримати препарат, який проявляє протизапальну, хондропротекторну та анальгетичну активність і при цьому має покращені токсикологічні характеристики.

Метою даного дослідження стало експериментальне вивчення протизапальних властиво-

І.А.Зупанець – доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

стей композиції на основі комбінації доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду (Д+ГА) у порівнянні з референс-об'єктами на моделі колаген-індукованого артриту у щурів.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на моделі колаген-індукованого артриту (КІА) у щурів, яку відтворювали шляхом підшкірного введення в основу хвоста емульгованої суміші 0,2% розчину бичачого колагену II типу («Sigma-Aldrich», США) в 0,1 М розчині оцтової кислоти та повного ад'юванта Фрейнда («Sigma-Aldrich», США) у співвідношенні 1:1 в дозі 2 мг/кг за колагеном [13]. Через 1 тиждень для потенціювання аутоімунного процесу введення імунізуючої суміші повторювали таким же чином і в тій же дозі. Після закінчення латентного періоду (через 10-14 днів) у тварин розвивався поліартрит задніх і передніх кінцівок. Починаючи з 14-го дня експерименту і впродовж 2 тижнів усі тварини отримували відповідні лікарські препарати щодня перорально 1 раз на добу у вигляді водних суспензій. Впродовж експерименту оцінювали стан суглобів передніх і задніх кінцівок тварин (ступінь рухливості, набрякості, гіперемії), а також інтенсивність перебігу запальної реакції в місці введення імунізуючої суміші.

В експерименті були використані 60 білих безпородних щурів обох статей віком 3-4 місяці з масою тіла 180-200 г, яких відбирали для дослідження і випадковим чином розподіляли на 6 дослідних груп по 10 тварин у кожній: 1 – інтактний контроль; 2 – контрольна патологія (модель артриту без лікування); 3 – тварини, які одержували досліджувану композицію (1:2) у дозі ЕД₄₀ 44,86 мг/кг [1]; 4 – тварини, які одержували доксицикліну гідрохлорид у дозі ЕД₄₀ 15,03 мг/кг [1]; 5 – тварини, які одержували глюкозаміну гідро-

хлорид у дозі ЕД₄₀ 29,83 мг/кг [1]; 6 – тварини, які одержували диклофенак натрію у дозі 8,0 мг/кг.

На 28 день тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом та проводили забір біоматеріалу для клінічних і біохімічних досліджень. Далі проводили клінічні дослідження крові щурів (вихідні дані станом на 28-му добу) і визначали кількість лейкоцитів, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) за допомогою стандартних методів [3]; біохімічні дослідження показників сироватки крові, в ході яких визначали вміст сіалових кислот (СК) за методом Гесса [4], глікопротеїнів (ГП) за реакцією з молібденово-сірчаноокислим реактивом (метод Штейнберга-Доценко) [6] та С-реактивного білка (СРБ) за допомогою імунохімічних наборів «Іму-ЛА-Тест» виробництва «PLIVA-Lachema Diagnostika» (Чехія) (турбодиметричний метод) [4]. Експерименти проводились відповідно до директиви Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [7, 9].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм методами варіаційної статистики з використанням критерію Фішера-Стьюдента [5].

Результати та їх обговорення

Після моделювання КІА у всіх тварин спостерігали розвиток поліартриту, що виявлявся появою гіперемії та набряком кінцівок, збільшенням їх розмірів та болісністю при напружуванні. Максимальний прояв ознак поліартриту спостерігався на 12-14 день експерименту після повторного введення імунізуючої суміші. Тварини були менш рухливими, знижувалося споживання їжі та води і їх загальна

активність протягом дня.

Просліджувалася пряма кореляційна залежність між візуально наявним ступенем збільшення обсягу суглобів і збільшенням кількості лейкоцитів у периферичній крові і швидкістю осідання еритроцитів (табл. 1).

На 28 добу експерименту у тварин з контрольною патологією кількісний вміст лейкоцитів у 1,8 рази перевищував даний показник для інтактних тварин та в 2,1 рази показник ШОЕ.

Найбільш значиму нормалізуючу дію на перебіг КІА чинить композиція, що підтверджено позитивним впливом комбінації доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду на вміст лейкоцитів та показник ШОЕ. Дещо поступалися композиції диклофенаку натрію та доксицикліну гідрохлорид. Так, композиція проявила вірогідний рівень відмінностей стосовно тварин з контрольною патологією, а за вмістом лейкоцитів і власне субстанцією доксицикліну та глюкозаміну гідрохлориду.

Таким чином, вищевикладена закономірність ілюструє більш вагомий протизапальний потенціал композиції, що підтверджено нормалізуючим впливом на маркерні показники розвитку запальної реакції і, водночас, ілюструє наявні переваги перед власне субстанцією доксицикліну та глюкозаміну гідрохлориду.

Аналіз показників лейкоцитарної формули (табл. 2) свідчить, що на фоні розвитку патології у нелікованих тварин відмічалася нейтропенія з компенсаторним нейтрофільним зсувом уліво, еозинофілія, моноцитоз та лімфоцитопенія.

Найбільш виражений лікувально-нормалізуючий вплив на перебіг КІА, підтверджений динамікою показників лейкоцитарної формули, мала композиція, що віддзеркалювалося вірогідною по відношенню до контрольної патології нормалізацією вмісту нейтрофілів

Таблиця 1

Деякі показники клінічного аналізу крові щурів з колаген-індукованим артритом під впливом композиції «Доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду» (1:2) та референс-об'єктів (n=60)

Дослідна група	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	ШОЕ, мм/год
Вихідні дані		
Інтактний контроль	10,14±0,42	4,34±0,25
28 доба		
Контрольна патологія	18,61±0,48*	8,94±0,59*
Композиція	8,70±0,42**	4,38±0,30**
Доксицикліну гідрохлорид	9,75±0,25**/*	5,10±0,41**
Глюкозаміну гідрохлорид	13,15±0,19**/**	5,86±0,31**/**
Диклофенак натрію	9,62±0,76**	4,86±0,31**

Примітки:

- 1) * – $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин;
- 2) ** – $p \leq 0,05$ відносно контрольних тварин;
- 3) * – $p \leq 0,05$ відносно тварин, які отримували композицію.

та їх перерозподілом, а також появою позитивної динаміки нормалізації вмісту еозинофілів, моноцитів та лімфоцитів. Показники даної групи тварин не мали вірогідних відмінностей стосовно тварин із групи інтактного контролю.

На фоні проведеного лікування доксицикліном та глюкозаміну гідрохлоридом відбу-

вся нормалізуючий перерозподіл нейтрофільних лейкоцитів, як і у випадку застосування композиції, відносно контрольних тварин, проте зберігався високим рівень еозинофілії та моноцитозу у випадку застосування доксицикліну.

Показники лейкограми щурів, яких лікували диклофенаком натрію, також відобража-

ють позитивний перерозподіл у кількісному співвідношенні нейтрофілів. Проте високим відносно інтактних тварин був рівень еозинофілів, що свідчить про виникнення явищ гіперреактивності на фоні застосування даного об'єкта.

Таким чином, вищевикладена закономірність ілюструє більш вагомий протизапальний потенціал диклофенаку натрію, що підтверджено нормалізуючим впливом на маркерні показники розвитку запальної реакції і, водночас, ілюструє наявні переваги комбінації (Д+ГА) перед субстанціями доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду.

У ході експерименту показана також позитивна динаміка біохімічних показників на фоні лікування досліджуваними об'єктами (табл. 3). Так, маркерними показниками запальної складової патологічного процесу були С-реактивний білок (СРБ) та сіалові кислоти (СК). Рівень ГП є неспецифічним показником, що відображає як інтенсивність запального процесу, так і деструктивні зміни в ор-

Таблиця 2

Вплив композиції «Доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду» (1:2) та референтних об'єктів на показники лейкоцитарної формули щурів з колаген-індукованим артритом (n=60)

Дослідна група	Нейтрофілі юні, %	Нейтрофілі паличкояд., %	Нейтрофілі сегментояд., %	Еозинофіли, %	Базофіли, %	Моноцити, %	Лімфоцити, %
Вихідні дані							
Інтактний контроль	–	1,20±0,49	21,80±0,73	1,00±0,32	–	3,20±0,20	72,80±1,16
28 доба							
Контрольна патологія	–	7,00±0,55*	17,80±0,73*	1,40±0,51	–	4,20±0,97	69,60±0,68*
Композиція	–	1,40±0,27**	23,40±0,93**	1,20±0,33	–	3,30±0,37	70,70±1,11
Доксицикліну гідрохлорид	–	2,20±0,30**	21,00±1,40**	1,70±0,33	–	4,20±0,39*	70,90±1,60
Глюкозаміну гідрохлорид	–	1,90±0,23**	21,00±0,93**	1,20±0,29	–	3,50±0,43	72,40±1,34
Диклофенак натрію	–	2,30±0,56**	18,60±0,92*	1,80±0,35	–	4,30±0,37*	68,80±2,61

Примітки:

- 1) * – $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин;
- 2) ** – $p \leq 0,05$ відносно групи контрольної патології.

Таблиця 3

Динаміка біохімічних показників щурів з колаген-індукованим артритом під впливом композиції «Доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду» (1:2) (n=60)

Дослідна група	C-реактивний білок, мг/л	Сіалові кислоти, ммоль/л	Глікопротеїни, г/л
Вихідні дані			
Інтактний контроль	3,65±0,34	3,35±0,32	2,85±0,15
28 доба			
Контрольна патологія	20,19±0,65*	4,46±0,36*	3,86±0,07*
Композиція	8,02±0,35**/**	3,48±0,28**	3,15±0,21**
Доксицикліну гідрохлорид	8,35±0,48**/**	3,74±0,31	3,25±0,18**
Глюкозаміну гідрохлорид	11,15±0,25**/**•	4,20±0,18*/•	3,33±0,10**/**
Диклофенак натрію	8,59±0,65**/**	3,52±0,26**	3,20±0,10**

Примітки:

- 1) * – $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин;
- 2) ** – $p \leq 0,05$ відносно групи контрольної патології;
- 3) • – $p \leq 0,05$ відносно тварин, які отримували композицію.

ганах сполучно-тканинного походження.

Так, у нелікованих щурів з КІА в 5,5 рази підвищувався рівень СРБ, в 1,3 рази – рівень СК та в 1,4 рази – рівень ГП відносно тварин із групи інтактного контролю, що свідчить про активний розвиток імунно-запального патологічного процесу в сполучній тканині тварин, який призводить не тільки до появи запальної реакції, а й до деструкції тканини.

На фоні лікувального застосування композиції відмічалася нормалізація вмісту СРБ, що носила вірогідний характер відносно інтактних тварин, а також вірогідно знижалася в 2,5 рази відносно нелікованих тварин. Під впливом комбінації (Д+ГА) відбувалося зниження вмісту СК в 1,3 рази та ГП – в 1,2 рази. Слід

відмітити, що за ступенем нормалізуючого впливу на рівень СРБ та СК композиція вірогідно перевершувала субстанцію глюкозаміну гідрохлориду.

Доксицикліну гідрохлорид достовірно нормалізував вміст СРБ та глікопротеїнів стосовно контрольних тварин, що підтверджує більш суттєвий вплив даного об'єкту на запальну складову розвитку патології.

Лікувальне застосування глюкозаміну гідрохлориду сприяло зниженню проявів запалення та деструкції у суглобах. Так, показник вмісту СРБ у сироватці крові тварин знижувався до рівня 11,15 мг/л, показник вмісту ГП – до рівня 3,33 мг/л, що вірогідно відрізнявся від показників щурів із групи інтактного контролю та контрольної патології.

На фоні застосування диклофенаку натрію показники сироватки крові тварин знаходилися на рівні показників інтактних тварин за винятком вмісту C-реактивного білка, що підтверджує виражені антифлогістичні властивості даного НПЗП.

Таким чином, за результатами проведених клінічних та біохімічних досліджень доведено, що композиція на основі комбінації доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду чинить виражений сприятливий вплив на показники обміну хрящової та кісткової тканини на тлі розвитку аутоімунного артриту та призводить до гальмування імунозапальних процесів у сполучній тканині тварин. Також варто відзначити більшу виразність лікувального ефекту композиції (Д+ГА) порівняно з обраними референс-об'єктами – субстанцією доксицикліну та глюкозаміну.

ВИСНОВКИ

1. Композиція на основі комбінації доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду чинить позитивний вплив на перебіг колаген-індукованого артриту, що супроводжується нормалізацією імунно-запальних процесів у сполучній тканині тварин.

2. За ступенем фармакологічного впливу на більшість досліджуваних показників композиції (Д+ГА) перевершує референс-об'єкти – субстанцію доксицикліну та глюкозаміну.

3. Композиція (Д+ГА) є перспективним коректором запально-деструктивних захворювань суглобів з аутоімунним компонентом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зупанець І.А., Ткаченко К.М., Отришко І.А., Грінцов Є.Ф. // Укр. журн. клін. та лабораторної медицини. – 2014. – Т. 9, №3. – С. 37-40.
2. Зупанець І.А., Ткаченко Е.М., Сахарова Т.С. // Эксперимент. и клин. фармакол. – 2012. – №12. – С. 49-50.
3. Зупанець І.А., Мисюрева С.В., Прописнова В.В. и др. Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования / Под ред. И.А.Зупанца. – 3-е изд., перераб. и доп. – Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2005. – 200 с.

4. Камышников В.С. Лабораторная диагностика внутренних и хирургических болезней : Учеб. пособие. – Мн: Адукацыя і выхаванне, 2012. – 584 с.
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – 2-е изд. – К. : Морион, 2001. – 407 с.
6. Медицинские лабораторные технологии : Руководство по клин. и лаб. диагностике. В 2-х т. / Под ред. А.И.Карпищенко. – 3-е изд. – М. : ГЕОТАР-Медиа, 2012. – Т. 1. – 470 с.; 2013. – Т. 2. – 792 с.
7. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне) / О.Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – К.: Моріон, 2009. – С. 37-68.
8. Остеоартроз: консервативная терапия: Монография / Под ред. Н.А.Коржа, Н.В.Дедух, И.А.Зупанца. – Х.: Золотые страницы, 2007. – 424 с.
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I / Под ред. А.Н.Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
10. Чичасова Н.В. // Лечащий врач. – 2007. – №2. – С. 22-26.
11. Altman R.D. // Expert Rev. Clin. Pharmacol. – 2009. – Vol. 2 (4). – P. 359-371.
12. O'Dell J.R., Elliott J.R., Mallek J.A. // Arthritis & Rheumatism. – 2006. – Vol. 2. – P. 621-627.
13. Remmers E.F., Joe B., Griffiths M.M. et al. // Arthritis & Rheumatism. – 2002. – Vol. 46, №8. – P. 2225-2234.
14. Zhang W., Doherty M., Peat G. et al. // Ann. of the Rheumatic Dis. – 2009. – Vol. 68, №13. – P. 141.

ВПЛИВ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ КОМБІНАЦІЇ ДОКСИЦИКЛІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ТА ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ НА СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛІТНІ ПОКАЗНИКИ ЩУРІВ З КОЛАГЕН-ІНДУКОВАНИМ АРТРИТОМ

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

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: доксицикліну гідрохлорид; глюкозаміну гідрохлорид; композиція; диклофенак натрію; колаген-індукований артрит

На моделі колаген-індукованого артриту у щурів досліджені протизапальні властивості композиції на основі комбінації доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду у порівняльному аспекті з її активними монокомпонентами – доксицикліном, глюкозаміну гідрохлоридом. У результаті проведених експериментальних досліджень доведено, що композиція на основі комбінації доксицикліну гідрохлориду та глюкозаміну гідрохлориду виявляє виражений сприятливий вплив на показники обміну хрящової та кісткової тканини на тлі розвитку аутоімунного артриту та призводить до гальмування імунозапальних процесів у сполучній тканині тварин. Відмічена нормалізація функціонального стану суглобів та клініко-біохімічних показників. За ступенем фармакологічного впливу на більшість досліджуваних показників комбінація (Д+ГА) перевершує референс-об'єкти – субстанцію доксицикліну та глюкозаміну гідрохлориду. Композиція (Д+ГА) є перспективним коректором запально-деструктивних захворювань суглобів з аутоімунним компонентом та може бути рекомендована до застосування у складі комплексної терапії пацієнтів із імуно-запальними та запально-деструктивними захворюваннями суглобів.

ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ КОМБИНАЦИИ ДОКСИЦИКЛИНА ГИДРОХЛОРИДА И ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА НА СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИТНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРЫС С КОЛЛАГЕН-ИНДУЦИРОВАННЫМ АРТРИТОМ

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

Національний фармацевтичний університет

Ключевые слова: доксициклина гидрохлорид; глюкозамина гидрохлорид; композиция; диклофенак натрия; коллаген-индуцированный артрит

На модели коллаген-индуцированного артрита у крыс исследованы противовоспалительные свойства композиции на основе комбинации доксициклина гидрохлорида и глюкозамина гидрохлорида в сравнительном аспекте с ее активными монокомпонентами – доксициклином, глюкозамина гидрохлоридом. В результате проведенных экспериментальных исследований доказано, что композиция на основе комбинации доксициклина гидрохлорида и глюкозамина гидрохлорида оказывает выраженное благоприятное влияние на показатели обмена хрящевой и костной ткани на фоне развития аутоиммунного артрита и приводит к торможению аутоиммунных процессов в соединительной ткани животных. Отмечена нормализация функционального состояния суставов и клинико-биохимических показателей. По степени фармакологического воздействия на большинство исследуемых показателей комбинация (Д+ГА) превосходит референс-объекты – субстанцию доксициклина и глюкозамина гидрохлорида. Композиция (Д+ГА) является перспективным корректором воспалительно-деструктивных заболеваний суставов с аутоиммунным компонентом и может быть рекомендована к применению в составе комплексной терапии пациентов с иммуно-воспалительными и воспалительно-деструктивными заболеваниями суставов.

Адреса для листування:
61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27.
Тел. (57) 706-30-72. E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 10.02.2016 р.