

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГРАНУЛ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ГИДРОГЕЛЯ ПРОТИВОАРТРОЗНОГО ДЕЙСТВИЯ

В. Е. Погорелый, Д. В. Компанцев, Л. В. Макарова, В. А. Компанцев

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Проведено экспериментальное изучение гранул для приготовления гидрогеля противоартрозного действия, содержащего глюкозамина сульфат, экстракт коры ивы, лимонную кислоту и пектин, в сравнении с глюкозамина сульфатом. Результаты исследования свидетельствуют, что применение гидрогеля оказывает лимитирующее влияние на основные патогенетические звенья остеоартроза.

ВВЕДЕНИЕ

Остеоартроз (ОА) — хроническое прогрессирующее дегенеративное заболевание суставов, характеризующееся деградацией суставного хряща с последующими изменениями в субхондриальной кости и развитием краевых остеофитов, приводящее к потере хряща и сопутствующему поражению других компонентов сустава [2]. Глюкозамина сульфат с успехом применяется при лечении остеоартроза как базисное лекарственное средство. Это вещество быстро всасывается и усваивается, обеспечивает эффективную защиту суставного хряща [2,7]. Курсовое применение практически без побочных эффектов полностью покрывает дефицит глюкозамина сульфата в организме. В практических руководствах Европейской лиги ревматологов (EULAR) «Подход, основанный на доказательствах, при лечении остеоартроза коленного сустава...» (2003) и Американского общества изучения боли (APS) «Боль при остеоартрозе, ревматоидном артрите и хроническом ювенильном артрите» (2004) глюкозамина сульфат рекомендован как средство с наивысшим уровнем доказательства [4]. Глюкозамина сульфат обладает уникальным сочетанием свойств при остеоартрите и отличается высокой биодоступностью, протективным действием в отношении хондроцитов, анальгетическим и особым противовоспалительным действием [2,4]. Учитывая данные обстоятельства и то, что ранее нами было установлено, что совместное применение с глюкозамином сульфатом цитрата повышает противовоспалительную активность хондропротектора, а также то, экстракт ивы обладает низкой токсичностью и высокой противовоспалительной активностью, были разработаны гранулы для приготовления противоартрозного геля, включающие глюкозамина сульфат, экстракт ивы, пектин, сахарозу и лимонную кислоту.

Целью настоящего исследования явилось проведение сравнительного исследования особенностей воздействия гидрогеля, содержащего глюкозамина сульфат (ГА), при посттравматическом ОА и оценка целесообразности его применения при исследуемой патологии.

МАТЕРИАЛЫ

В работе использовались гранулы для приготовления гидрогеля следующего состава: глюкозамина сульфата 0,5 г, экстракта ивы сухого 0,025 г, пектина цитрусового 0,25 г, сахарозы 0,25 г, кислоты лимонной 0,01 г. Гранулы при растворении в воде образовывали коллоидный раствор (гидрогель).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Хондропротекторную активность изучали на крысах-самцах линии «Вистар» ($m = 350—380$ г). Животные методом случайной выборки были разделены на следующие группы: 1 группа — контрольная, животным которых моделировали патологический процесс и вводили физиологический раствор, 2 группа — животные, у которых моделировали патологию и вводили гидрогель в дозе 250 мг/кг (доза, эквивалентная 125 мг/кг глюкозамина сульфата). 3 группа — животные, у которых моделировали патологию и вводили глюкозамина сульфат в дозе 125 мг/кг. Объем вводимых жидкостей во всех группах животных был одинаков и составлял 10 мл/кг. Объекты исследования и физиологический раствор вводили перорально с помощью зонда. Выбор данной дозы определен расчетным путем с учетом литературных данных об эффективных терапевтических дозах глюкозамина [8] и коэффициента пересчета дозы с человека на крысу [5].

Изучение хондропротекторного действия объектов исследования проводили на модели посттравматического артроза у крыс, который развивался в

Изменение подвижности сустава после моделирования ОА

Время наблюдения	Группы животных		
	Контрольная	Гидрогель	ГА
24ч	$-3,9 \pm 0,33$	$-3,4 \pm 0,33$	$-4,0 \pm 0,33$
7 суток	$-4,4 \pm 0,11$	$1,5 \pm 0,22^*$	$1,1 \pm 0,2^*$
30 суток	$-3,1 \pm 0,22$	$-0,38 \pm 0,22^*$	$-0,75 \pm 0,22^*$

* — обозначены статистически значимые изменения ($P < 0,05$) относительно контрольных животных

тазобедренном суставе после нанесения стандартного дефекта в виде круглого отверстия (диаметром 2 мм), проникающего через суставной хрящ в субхондриальную кость [1]. Материалом для исследования служили головки бедренной кости, которые после отбора фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезживали в спиртах возрастающей крепости и заключали в целлоидин. Срезы изготавливали на микротоме «Reichert» и окрашивали гематоксилином и эозином.

Оценку подвижности сустава проводили путем наблюдения за временем удерживания (с) животного с поврежденной конечностью за металлические прутья [6]. Подвижность сустава проводили по следующей шкале: 1 — минимальные уменьшение подвижности сустава (животное удерживается на решетке поврежденной конечностью 10—7 с); 2 — невыраженное ограничение подвижности (животное удерживается на решетке поврежденной конечностью 7—5 с); 3 — ограничение подвижности (животное удерживается на решетке поврежденной конечностью — 5—3 с); 4 — существенное подавление подвижности (животное удерживается на решетке поврежденной конечностью менее 3 с); 5 — подвижность практически отсутствует (животное не способно удерживаться на решетке поврежденной конечностью). Оценку изменения функции опорно-двигательного аппарата при экспериментальном ОА проводили с помощью пробы с вращающимся стержнем [6]. Для оценки влияния объектов исследования на экссудативную и пролиферативную фазу воспаления использовали модель «ватная гранулема», которую воспроизводили на 23 день эксперимента [5].

Для обработки результатов экспериментов использовали статистические методы с нахождением средней арифметической (М), средней ошибки средней арифметической (m) и вероятности ошибки по таблицам Стьюдента. Достоверность различий двух совокупностей оценивали по критерию t [10].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При лечении посттравматического ОА гидрогелем было выявлено уменьшение хромоты, улучшение функциональной способности поврежденной конечности животных. Анализируя способность удерживания поврежденной конечностью животных о решетку при введении объектов исследования в течение 30 дней свидетельствует, что гидрогель так же, как и ГА, практически восстанавливает подвижность травмированного сустава (табл. 1)

Установлено также, что объекты исследования существенным образом удлиняют время нахождения животных на вращающемся стержне. Важно отметить, что исследуемые показатели более чем в 2,5 раза были выше, по сравнению с животными контрольной группы (рис. 1). Кроме того, использование гидрогеля и ГА эффективно ограничивает как экссудативную, так и пролиферативную фазу асептического воспаления (табл. 2). Следует отметить, что антипролиферативное действие гидрогеля значимо превышает таковое ГА.

При макроскопическом исследовании бедренной головки в контрольной группе животных с посттравматическим ОА четко определялось углубление. При осмотре хряща вблизи места дефекта выявлено, что он тусклый и имеет желтоватый оттенок. В группах животных, которым вводили ГА и гидрогель макроскопически в головках бедренной кости место дефекта определялось с трудом в виде беловатого пятна, несколько менее блестящего, чем остальная поверхность хряща, которая имела голубой оттенок. На остальной территории суставной хрящ был в основном блестящим, лишь на небольших участках определялись вкрапления желтоватого цвета.

При микроскопическом исследовании бедренной головки в контрольной группе животных зона дефекта во всех случаях была выслана слоями клеточно-волокнистой ткани различной толщины и клеточности, которые не достигали уровня хряще-



Рис. 1. Время удерживания животных на вращающемся стержне (мин) на 30 день эксперимента. По оси ординат – время (мин). * — $P < 0.05$ относительно животных контрольной группы

вого покрытия головки. Края дефекта со стороны суставного хряща неровные, без клеток, толщина хряща резко снижена. Как вблизи дефекта, так и на расстоянии от него обнаруживаются трещины, щели, участки разрушенного хряща с резко измененной citoархитектоникой, базальная линия вблизи дефекта была нарушена, костные балки истончены, костно-мозговые полости ниже зоны повреждения заполнены клеточно-волоконистой тканью. Коллагеновые волокна в дефекте плотно упакованы, между ними определяется большое количество удлиненных клеток фибропластического ряда с гиперхромными ядрами и базофильной цитоплазмой. Наряду с дистрофическими изменениями в субхондриальных отделах головки бедренной кости наблюдался репаративный процесс, что было связано с развитием хондроидной ткани в костно-мозговых полостях вблизи зон с бесклеточным хрящом либо вблизи

трещин и щелей. В таких участках хондробласты располагались беспорядочно, были с большими гиперхромными ядрами и базофильной цитоплазмой. Межклеточное вещество окрашивалось оксифильно. При нарушении целостности базофильной линии под участками с бесклеточным хрящом обнаруживались тяжи клеточно-волоконистой ткани. Необходимо отметить, что участки хряща с сохраненной citoархитектоникой и хондроцитами, с характерной для нормы строением занимали незначительные территории.

При применении гидрогеля после моделирования остеоартроза в течение 30 дней установлено, что на 30 сутки в латеральном мышечке преобладали репаративные процессы — разрастание гиалиновой хрящевой ткани в зоне дефекта, гиперплазия хондроцитов вблизи этой зоны, активация остеогенеза в участках, прилежащих к дефекту со стороны

Таблица 2

Влияние на процесс воспаления при ОА

Условие эксперимента	Экссудация (мг)	Грануляционная ткань (в мг)
Контрольные животные	409,4±12,1	102,6±1,8
Гидрогель	305,4±9,1*	60,0±2,5#
Глюкозамина сульфат	325,2±7,6*	82,2±4,3*

Обозначены статистически значимые сдвиги ($P < 0,05$) по сравнению:

* — с контрольной группой животных;

— с группой животных, которым вводили глюкозамина сульфат.

субхондриальной кости. В костной ткани, расположенной ниже эпифизарного хряща, изменений не выявлено. Вблизи зоны дефекта почти во всех препаратах определялись обширные разрастания тяжелой молодой хрящевой ткани, которая располагалась в костно-мозговых полостях субхондральной кости. Непосредственно под бесклеточным суставным хрящом наблюдалась гиперплазия хондроцитов. На противоположной от дефекта части головки суставной хрящ был большей частью без изменений, однако в зонах, граничащих с бесклеточным, определялось нарушение citoархитектоники и пикноз ядер хондроцитов. Целостность базофильной линии в этой части головки сохранялась.

У животных, которым проводили терапию ГА, отмечались признаки репаративного процесса, о чем свидетельствует разрастание гиалиновой хрящевой ткани в зоне дефекта, замещение матрикса бесклеточного суставного хряща молодым гиалиновым. Большая часть хрящевого покрытия имела характерную для интактного суставного хряща citoархитектонику. Существенных деструктивных изменений в хряще в виде трещин и щелей не выявлено. Участки суставного хряща, ограничивающие дефект, в большей части случаев имели обычное строение, лишь единичные хондроциты были крупные с гиперхромными ядрами и большой базофильной цитоплазмой. Краевая поверхность дефекта, выполненная хондроидной тканью, в подавляющем большинстве случаев была ровная, образована рядом густо расположенных клеток. Лишь в некоторых случаях на этих участках обнаруживались углубления, выполненные волокнистой хрящевой тканью. Необходимо отметить, что в гистологических препаратах при применении ГА, так же как и при применении гидрогеля, часто вблизи бесклеточных участков хряща наблюдалось разрастание молодой гиалиновой ткани, проникающей из костно-мозговых полостей субхондриальной кости через базофильную линию, нарушенную при травме. Эпифизарный хрящ и подлежащие к нему балки были без изменений.

Анализируя полученные данные, следует отметить, что при введении гидрогеля, так же как и при

применении ГА, на 30 сутки в головке бедренной кости преобладают репаративные процессы — разрастание гиалиновой хрящевой ткани в зоне дефекта, замещение матрикса бесклеточного суставного хряща молодым гиалиновым, активация остеогенеза в участках, прилежащих к дефекту. Следовательно, использование гидрогеля, содержащего ГА, оказывает выраженное хондропротекторное действие, стимулирует биосинтетические процессы в хондроцитах, способствует формированию матрикса суставного хряща и стимулирует остеогенез.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментально установлено, что курсовое применение гидрогеля способствует сохранению активности поврежденного сустава и ограничивает как экссудативную, так и пролиферативную фазы воспаления при посттравматическом ОА. Следует отметить, что ограничение пролиферативного процесса на фоне терапии гидрогелем более выражено, чем при применении глюкозамина сульфата. Установлено, что курсовое применение гидрогеля при остеоартрозе способствует стимуляции репаративного процесса в хрящевой ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зупанец И. А., Дрогозов С. М., Бездетко Н. В., Дедух Н. В. // Оценка фармакологической активности химических соединений: принципы и подходы: Тез. докл. Всесоюз. науч. конф., М., 1989. Ч. 2. С. 132.
2. Коваленко В. Н. Остеоартроз: Практическое руководство. М., 2003. 448 С.
3. Малышкина С. В., Панков Е. Я. Метод морфологической оценки сустава при деструктивно-дистрофических поражениях // Информ. письмо. К., 1988. 21 с.
4. Насонова В. А., Алексеева Л. И., Насонов Е. Л. Остеоартроз тазабедренного сустава // *Consilium medicum*. 2003. № 8. С. 34—41.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2000. 398 с.
6. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. М., 2000. 352 с.
7. Энциклопедия лекарств (Регистр лекарственных средств). М, ООО «РЛС — 2005». 2005. 1600 с.