ОБЗОРЫ

Симптом-модифицирующие препараты замедленного действия в лечении остеоартрита: от молекулы к клиническому эффекту (взгляд фармаколога)

Духанин А.С.

Кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия
117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Систематизированы сведения о фармакокинетике, молекулярных и клеточных механизмах действия «хондропротекторов» (ХП) на примере хондроитина сульфата (ХС) и глюкозамина (ГН). Изложены современные представления о механизмах их всасывания и проникновения в ткани сустава при пероральном применении, действии ХС на цитоплазматическую мембрану хондроцитов при остеоартрите (ОА). Описаны пластические и регуляторные функции ГН на внутриклеточном уровне после его проникновения в клетки с помощью переносчиков глюкозы. Сочетание преимуществ таргетной и метаболической терапии определяет эффективность комбинированных препаратов ХП, активным началом которых являются ХС и ГН.

Ключевые слова: *хондроитина сульфат; глюкозамин; SYSADOA; остеоартрит; фармакокинетика; молекулярные мишени действия; фармакотерапия.*
Контакты: *Александр Сергеевич Духанин;* ***das03@rambler.ru***
Для ссылки: *Духанин АС. Симптом-модифицирующие препараты замедленного действия в лечении остеоартрита: от молекулы к клиническому эффекту (взгляд фармаколога). Современная ревматология. 2018;12(2):79–87.*

Symptom-modifying slow-acting drugs in the treatment of osteoarthritis: from molecule to clinical effect (a pharmacologist's view)

Dukhanin A.S.

Department of Molecular Pharmacology and Radiobiology, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia
1, Ostrovityanov St., Moscow 117997

The paper systematizes data on the pharmacokinetics, molecular and cellular mechanisms of action of chondroprotectors (CPs), by using chondroitin sulfate (CS) and glucosamine (GA) as an example. It presents current ideas about the mechanisms of their absorption and penetration into the joint tissues during oral administration, the effect of CS on the cytoplasmic membrane of chondrocytes in osteoarthritis (OA). The paper also describes the plastic and regulatory functions of GA at the intracellular level after its penetration into the cells by glucose carriers. The combination of benefits from targeted and metabolic therapy determines the efficacy of combined CPs, the active principle of which is CS and GA.

Keywords: *chondroitin sulfate; glucosamine; SYSADOA; osteoarthritis; pharmacokinetics; molecular targets of action; pharmacotherapy.*
Contact: *Aleksandr Sergeevich Dukhanin;* ***das03@rambler.ru***
For reference: *Dukhanin AS. Symptom-modifying slow-acting drugs in the treatment of osteoarthritis: from molecule to clinical effect (a pharmacologist's view). Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal. 2018;12(2):79–87.*
DOI: *10/14412/1996-7012-2018-2-79-87*

Остеоартрит (ОА) – самая распространенная форма поражения суставов и ведущая причина нетрудоспособности. ОА уверенно лидирует (60%) среди ревматических заболеваний. ОА характеризуется тремя основными признаками (BASICC): увеличенным ремоделированием костной ткани, приводящим на ранних стадиях заболевания к разрежению, а затем к утолщению кости, ухудшению ее качества (**B**one **A**trophy); синовиальным воспалением (**S**ynovial **I**nflammation), при котором выявляется повышение экспрессии провоспалительных медиаторов; увеличенным катаболизмом матрикса суставного хряща (**C**artilage **C**atabolism) [1].

Рекомендации по ведению пациентов с ОА включают разнообразные фармакологические, немедикаментозные и хирургические методы. Определяющими факторами при выборе метода лечения ОА являются: клинический опыт, подтверждение эффективности метода с точки зрения доказательной медицины и его фармакоэкономические преимущества [1].

Препараты замедленного действия для лечения ОА (SYSADOA – **Sy**mptomatic **S**low **A**cting **D**rugs for **O**steo**a**rthritis), обладающие симптоматическим и возможным структурно-модифицирующим действием, включены в рекомендации EULAR (Европейская антиревматическая лига) для лечения ОА коленного сустава (2003). Эта группа препаратов характеризуется высокой безопасностью [2]. В настоящее время продолжаются исследования структурно-модифицирующего действия указанных препаратов. В российской медицинской литературе для обозначения SYSADOA традиционно используется понятие «хондропротекторы» (ХП). В экспериментальных и клинических исследованиях показано, что наиболее эффективны при сочетанном применении хонд-

роитина сульфат (ХС) и глюкозамин (ГН), входящие в состав комбинированных препаратов ХП [3–5].

Скептицизм в отношении ХП связан с отсутствием четких представлений о механизмах их всасывания и проникновения в ткани сустава при пероральном применении. Приведенные в настоящей статье данные основаны на надежных источниках, в частности публикации в журнале «Pharmacology & Therapeutics» [6].

Гастроинтестинальная абсорбция

Чтобы достигнуть места своего действия, активные вещества пероральных форм ХП должны преодолеть первый барьер – стенку желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Понять особенности всасывания ХС и ГН из ЖКТ помогает их химическое строение, которое у ХС и ГН существенно различается (рис. 1, *а, б*). Если ГН – небольшая компактная молекула с молекулярной массой (м.м.) 179 Да, то ХС – высокомолекулярный полимер с м.м. от 10 000 до 40 000 Да.

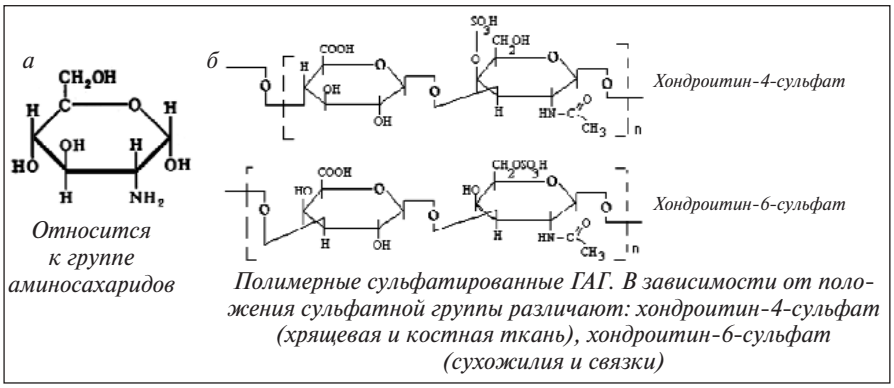

Рис. 1. *Структура ГН (а) и ХС (б)*

Физико-химические свойства лекарственного вещества (его размер, полярность, растворимость в липидах) играют решающее значение для механизма проникновения (абсорбции) из просвета ЖКТ в системный кровоток. На этапе всасывания пути ГН и ХС расходятся.

Транспорт аминосахарида ГН осуществляется с помощью переносчиков глюкозы (преимущественно GLUT2), расположенных на люминальной мембране энтероцитов. Как и биосовместимые природные моносахариды (глюкоза, фруктоза, галактоза), ГН абсорбируется трансцеллюлярно – сквозь эпителиальные клетки. В исследованиях с участием здоровых добровольцев было показано, что ГН всасывается преимущественно из двенадцатиперстной кишки. Часть ГН в кишечном эпителии подвергается ферментативному превращению в глюкозамин-6-фосфат, который затем утилизируется по гексозаминовому пути с образованием протеогликанов (ПГ), гликолипидов и гликопротеинов (дополнительно муцинов в кишечном эпителии). С этим связаны потери ГН на этапе всасывания, поэтому его биодоступность у человека, по разным оценкам, составляет 25–44% [7, 8].

Нередко можно встретить утверждение, что ГН сульфат (*глюкозамина сульфат*) имеет преимущества перед ГН хлоридом (глюкозамина гидрохлорид). Однако для этого нет оснований: активным началом в обоих случаях служит аминосахарид ГН, химическая природа которого ($C_6H_{13}NO_5$) полностью идентична, различия касаются только «химизма» соли, применяемой для нейтрализации положительного заряда ГН. В то же время глюкозамина гидрохлорид полностью диссоциируется в желудочном содержимом уже при pH 2,5 с образованием ГН и HCl (соляной кислоты), аналогичным образом глюкозамина сульфат диссоциируется до ГН, HCl, Na_2SO_4 (сульфата натрия) и H_2SO_4 (серной кислоты) [9]. Следует подчеркнуть преимущества лекарственной формы препаратов ХП в виде желатиновых капсул, поскольку только эта форма способна распадаться уже в желудке, высвобождая соль ГН для последующего всасывания [10].

Всасывание ХС в ЖКТ обеспечивается совершенно другими механизмами. Часть ХС (12%) проникает в систему портальной вены в неизменном виде, минуя энтероциты, через межклеточные контакты – парацеллюлярный механизм абсорбции в проксимальных сегментах тонкого кишечника. Другая часть ХС гидролизуется бактериальными ферментами на менее крупные фрагменты. ХС расщепляется в основном в толстом кишечнике при участии кишечной микрофлоры. Относительно низкая биодоступность ХС связана с насыщением парацеллюлярного транспорта, но не с разрушением в тонком кишечнике. Биодоступность ХС вместе с образовавшимися из него олигосахаридами в среднем составляет 22%. Много это или мало? С точки зрения клинической фармакокинетики это некорректный вопрос, так как при выборе дозы препарата уже учитывается его биодоступность. Высокая разовая доза ХС (400 мг) в составе ХП рекомендована с учетом особенностей его всасывания из ЖКТ. А исследования, в том числе и те, в которых изучались гистологические изменения хрящевой ткани, подтверждают целесообразность назначения именно этой разовой дозы в сочетании с 500 мг ГН [11]. Конечная эффективность препарата напрямую не связана с его биодоступностью.

Таким образом, всасывание ГН и ХС опосредуется различными механизмами, что исключает возможность их конкуренции на этапе гастроинтестинальной абсорбции.

Распределение в организме

Время достижения максимальной концентрации ГН в плазме крови – около 3 ч, ХС – от 2 до 3 ч, т. е. активные компоненты ХП быстро всасываются, для них нехарактерен *lag*-период. Основные параметры фармакокинетики ХС у человека после перорального приема приведены в табл. 1 [6].

Фармакокинетические исследования с участием людей установили, что после приема ГН в рекомендуемой суточной дозе 1500 мг величина C_{max} составляет 10 мкМ, что хорошо согласуется с диапазоном концентрации ГН в опытах *in vitro* (1–60 мкМ), в которых наблюдали выраженные фармакологические эффекты ГН в отношении активности клеток (хондроциты, синовиальные фибробласты) и метаболизм компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ) хрящевой ткани сустава [9].

В рандомизированном клиническом исследовании изучены фармакокинетические параметры одновременного назначения 400 мг ХС и 500 мг ГН [7]. 24 добровольца слу-

чайным образом были распределены на две группы по 12 человек в каждой. Пациенты 1-й группы принимали 1 капсулу ХС и ГН; пациенты 2-й группы – 4 капсулы. Суммарное содержание в пробах ПГ в виде сульфатированных производных (гликозаминогликаны – ГАГ и галактозаминогликаны) оценивали спектрофотометрически с помощью 1,9-диметил-метиленового синего.

C_{max} составила 0,893±0,093 и 2,222±0,313 мкг/мл, площадь под фармакокинетической кривой AUC0-4 – 10,803±0,965 и 28,543±6,704 мкг·ч/мл (среднее ± SD) в 1-й и 2-й группах соответственно. Через 18 ч после приема плазменная концентрация в 1-й и 2-й группах достигала 0,365±0,041 и 0,974±0,198 мкг/мл.

Абсорбционная кинетика ХС и ГН нелинейна, это подтверждается соотношением C_{max} и AUC0-4 (2,389 и 2,642 соответственно; табл. 2). Данное соотношение наблюдалось в 18-часовой пик как результат энтерогепатического кругооборота (2,668), что является доказательством насыщения процессов абсорбции. Кроме того, период полувыведения также дозонезависимый: 16,931±1,902 и 25,515±2,560 ч для 1 и 4 капсул соответственно.

Динамика плазменной концентрации ГН + ХС после перорального приема 1 или 4 капсул ХП представлена на рис. 2, *а, б*. Плазменные концентрации быстро нарастают, достигая максимума через 2 ч (T_{max}), а спустя 8 ч после приема они уменьшаются до минимального значения как в 1-й, так и во 2-й группе. Второй пик наблюдается через 18 ч после приема, вероятно, это связано с энтерогепатической циркуляцией.

Авторы пришли к выводу, что как 1, так и 4 капсулы ХС + ГН хорошо переносятся, фармакокинетический профиль согласуется с 12-часовым междозовым интервалом. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости приема ХС + ГН несколько раз в течение суток.

Таблица **1**. *Показатели фармакокинетики ХС после перорального приема*

Доза, г	Биодоступность, %	C_{max}, мкг/мл	t_{max}, ч
0,8	12 19*	6,6±0,7	1,0±0,3
3,0	24,3*		
4,0	НД	12,7±4,7	2,4±1,4

Примечание. C_{max} – максимальная концентрация лекарственного вещества в плазме крови; t_{max} – время достижения максимальной концентрации вещества в плазме крови; * – ХС + низкомолекулярные дисахариды в моче. Показатели представлены как среднее ± SD с коррекцией на эндогенные плазменные концентрации.

Таблица **2**. *Фармакокинетические параметры (среднее ± SD) при приеме 1 и 4 капсул, содержащих ХС и ГН*

Показатель	1-я группа	2-я группа	GI/GII
Расчетная доза ХС, мкг/мл	5952,4±628,9	23 738,9±3522,1	4,0
Расчетная доза ГН, мкг/мл	7440,5±786,1	29 673,6±4402,6	4,0
C_{max}, мкг/мл	0,893±0,093	2,222±0,313	2,4
AUC_{0-4}, мкг·ч/мл	10,803±0,965	28,543±6,704	2,6
AUC_{0-inf}, мкг·ч/мл	12,000±1,072	38,776±2,981	3,2
C_{18h}, мкг/мл	0,365±0,041	0,974±0,198	2,7
Период полувыведения, ч	16,931±1,902	25,515±2,560	1,5
C_{18}/C_{max}	0,41	0,44	1,0

Примечание. Представлена концентрация препарата в плазме крови в течение всего времени наблюдения. AUC_{0-4} – площадь под фармакокинетической кривой в первые 4 ч после приема препарата; AUC_{0-inf} – площадь под фармакокинетической кривой, экстраполируемая к бесконечности (от 0 до ∞); GI/GII – отношение между количественными значениями изученных фармакокинетических параметров.

Поступление в ткани сустава. Аккумуляция в тканях сустава

У здоровых добровольцев после перорального приема ХС, меченного радиоактивным технецием (^{99м}Tc-ХС), в течение 40 мин наблюдается постепенное увеличение радиоактивности в коленном суставе по сравнению с прилегающими тканями.

Инкубация человеческих тканей с ^{99м}Tc-ХС в течение 72 ч ведет к прогрессивной/нарастающей аккумуляции: в хряще ребра – до 53% дозы, в хряще колена – 45% (в поверхностных слоях) и 35% (в субхондральных слоях).

В то же время при использовании монослоев культуры клеток хондроцитов и суспензии клеток хондроцитов установлено, что проникновение в них ХС не превышает 1% общей дозы. Такие результаты убедительно доказывают, что ХС после перорального введения достигает тканей сустава, распределяется в хрящевой ткани и субхондральных суставных поверхностях. ХС накапливается в тканях сустава и действует на клеточные рецепторы, поэтому только в очень небольших количествах проникает в хондроциты [6].

Всасывание и перенос ГН в клетки происходит с помощью транспортеров глюкозы семейства GLUT (натрий-независимый переносчик глюкозы). Хондроциты экспрессируют GLUT1, 2, 3, 4 и 5, это указывает на то, что в ткани хряща колена человека захват ГН осуществляется переносчиками глюкозы семейства GLUT. Также ГН проникает в синовиоциты, остеобласты, остеокласты. При инкубации радиоактивного ГН (^{99м}Tc-ГН) с хрящевой части ребра человека захват ГН составляет около 85% дозы. Проникновение в сустав повышается в 4 раза на фоне индуцированного артрита [6].

Действие активных компонентов ХП на молекулярном уровне

Различия в структуре ГН и ХС определяют особенности механизмов не только их всасывания, но и биологической/фармакологической активности. Основной мишенью в ткани сустава для ГН и ХС служит хондроцит. В неактивном состоянии поддерживается динамическое равновесие между образованием новых компонентов хрящевой ткани (анаболические процессы) и гидролитическим расщеплением компонентов ВКМ хрящевой ткани (катаболические реакции). Основу гомеостаза ПГ составляют две реципрокные ферментативные системы на мембране хондроцита – гиалуронан-синтаза 2-го типа и гиалуронидаза 2-го типа, осуществляющие соответственно синтез и начальные стадии деградации гиалуроновой кислоты (ГнК) [12].

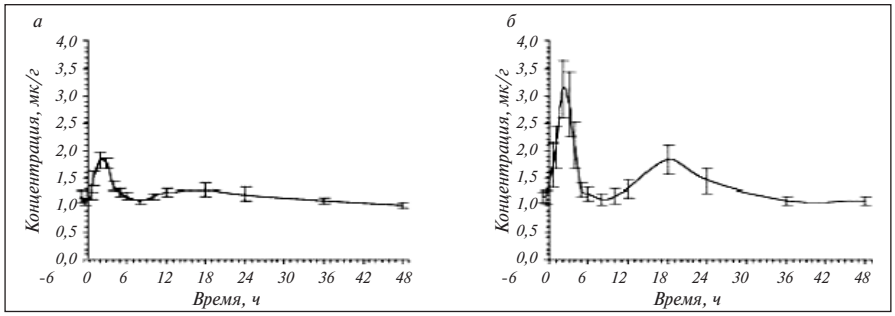

Рис. 2. *Изменение плазменных концентраций после одновременного приема ГН и ХС. Приведены значения (среднее ± SD) плазменного уровня после вычитания исходной концентрации (эндогенного уровня) в 1-й (а) и 2-й (б) группах. Суммарное содержание в пробах сульфатированных производных (ГАГ и галактозаминогликаны) оценивали спектрофотометрически с помощью 1,9-диметил-метиленового синего*

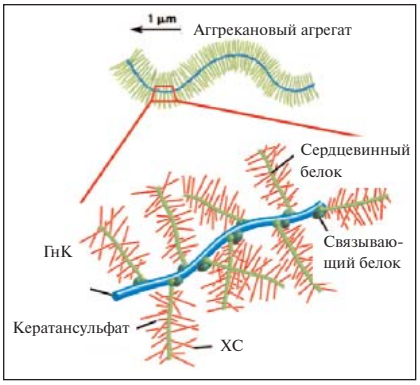

Рис. 3. *Основные структурные компоненты ВКМ хрящевой ткани (адаптировано из [12] с изменениями)*

Молекулярная организация ВКМ и принципы регуляции его состава (обмен веществ). ВКМ хрящевой ткани включает коллаген (фибриллярный структурный белок), полисахариды – ГАГ, ПГ, а также адгезивные белки, которые составляют группу неколлагеновых белков межклеточного матрикса (рис. 3).

Полисахариды ВКМ хряща представлены ГАГ. Связываясь с белками, ГАГ образуют ПГ – высокомолекулярные соединения, включающие белковый и углеводный компоненты; ПГ содержат свыше 95% углеводов, мукопротеины – 10–50%, гликопротеины – менее 10%. ГнК также относится к ГАГ и является полимером, состоящим из остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетилглюкозамина. Самые распространенные сульфатированные ГАГ в хрящевой ткани человека – ХС, кератансульфаты. ХС построен из глюкуроновой кислоты и сульфатированного N-ацетилгалактозамина. Основные функции ГАГ: участие в организации межклеточного матрикса (являются главным связующим компонентом); взаимодействие с клеточными мембранами; осуществление межклеточных коммуникаций (*cross-talk*). ГАГ могут связывать большое количество воды, сильно набухают, тем самым придают межклеточному матриксу высокую вязкость (желеобразные свойства). ГАГ и ПГ образуют гелеподобную среду, в которую погружены фибриллярные и адгезивные белки [12].

ПГ – белковые комплексы, в которых с молекулами белка ковалентно связаны ГАГ. Белки ПГ называют коровыми белками, так как в структуре ПГ выделяют коровый белок (от *англ.* core – основа, ядро), который имеет *N*- и *O*-гликозидные связи с трисахаридами, связанными, в свою очередь, с ГАГ. Протеогликановый комплекс хрящевой ткани человека представлен аггреканом [13].

ПГ выполняют структурную функцию: входят в состав внеклеточного матрикса; формируют прочную трехмерную структуру, которая обеспечивает противостояние компрессии путем связывания с различными белками ВКМ (коллаген, эластин, фибронектин, ламинин); обеспечивают тургор (упругость) различных тканей (в качестве полианионов ПГ образуют комплексы с поликатионами и катионами, а также связывают воду); влияют на клеточную миграцию, поддерживают гомеостаз хряща [14].

Метаболизм ПГ. Биосинтез ПГ начинается с формирования корового белка в клетках соединительной ткани, далее к нему присоединяются ГАГ, синтезированные в аппарате Гольджи, образовавшийся ПГ выходит из клетки в ВКМ (см. рис. 3). Распад ПГ происходит в межклеточном матриксе соединительной ткани под действием ферментов, преимущественно протеиназ и гликозидаз [13].

На цитоплазматической мембране хондроцитов расположены несколько типов рецепторов (CD44, TLR4, интегрины и ICAM1), которые позволяют хондроциту «отслеживать» структурные изменения в микроокружении (около- и экстраклеточном пространстве) и активно на них реагировать (рис. 4).

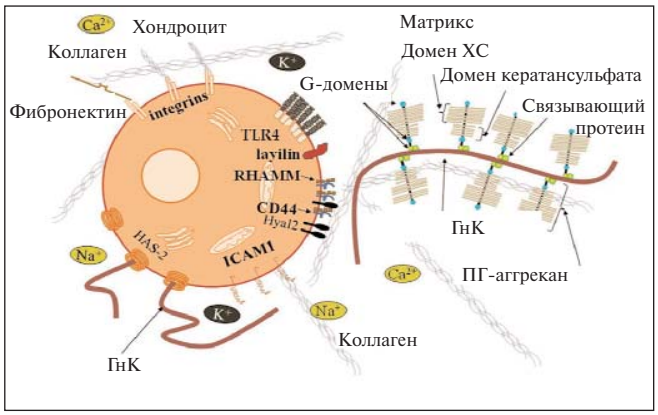

Рис. 4. *Молекулярная и клеточная организация суставного хряща у здорового человека [6]*

CD44 является основным рецептором гиалуронана, или ГнК. К белку CD44 могут ковалентно присоединяться несколько типов ГАГ: ХС, гепарансульфат, дерматансульфат и кератансульфат.

ICAM1 – факторы межклеточной адгезии 1 (CD54), участвуют в образовании межклеточных контактов и связывании хондроцитами компонентов ВКМ, в частности высокомолекулярной ГнК ($0,5–2,0 \cdot 10^6$ Да).

На поверхности хондроцита экспонированы несколько типов рецепторов, в том числе CD44, TLR4, интегрины и ICAM1, которые опосредуют взаимодействие хондроцита с межклеточным матриксом. Матрикс соединительный ткани содержит коллаген, ГнК и аггрекан. ПГ-аггрекан включает в себя домены ХС и кератансульфата; ядро аггрекана содержит также три глобулярных домена (G-домена). Аггреканы закреплены в ВКМ путем образования комплекса с ГнК с

помощью связывающего белка. Кроме того, внешняя цитоплазматическая мембрана хондроцитов содержит ферменты синтазу 2 ГнК и гиалуронидазу 2, осуществляющие синтез или расщепление ГнК соответственно.

TLR4 – мембранный белок, относится к группе толл-подобных рецепторов (CD284), распознает полисахариды внеклеточного матрикса, а также липополисахариды (ЛПС) клеточной стенки грамотрицательных бактерий и связывается с ними.

Клеточные белковые рецепторы класса интегринов состоят из двух субъединиц и участвуют в передаче информации из внеклеточного пространства. Интегрины – трансмембранные гетеродимерные белки, формирующие связи с различными белками внеклеточного матрикса (фибронектин, витронектин, коллаген, ламинин) и передающие межклеточные сигналы. Интегрины присутствуют в мембране постоянно, но для связывания лиганда они должны активироваться, это происходит, например, при взаимодействии других клеточных рецепторов с цитокинами, в частности с интерлейкином (ИЛ) 1β.

Различные типы мембранных рецепторов выполняют общие функции: 1) избирательное узнавание и связывание определенных лигандов; 2) преобразование сигнала о связывании в биологический ответ клетки-мишени. В качестве селективных лигандов выступают компоненты межклеточного матрикса: ГнК, коллаген, ХС и др. Образование комплекса лиганд – рецептор приводит к изменению активности внутриклеточных транскрипционных факторов, таких как ядерный фактор κB.

CD44, TLR4, интегрины и ICAM1 также экспрессируются в синовиоцитах, остеобластах и остеоцитах, что является убедительным доказательством существования взаимодействия в ВКМ, синовиальных мембранах и субхондральной костной ткани, а также в хрящевой ткани [6].

В нормальном хряще, вне стрессовых условий, хондроциты находятся в состоянии покоя, скорость обмена ВКМ низкая. Так, период полужизни ГнК в хряще составляет 1–3 нед [15].

Начальные этапы патогенеза ОА. Вопрос о локализации начальных этапов воспалительной реакции при ОА находится на стадии обсуждения. В качестве таких областей называют хрящевую ткань, синовиальную мембрану или субхондральную костную пластинку [6]. Триггером развития ОА служат нарушения взаимодействия компонентов ВКМ и хондроцитов (рис. 5).

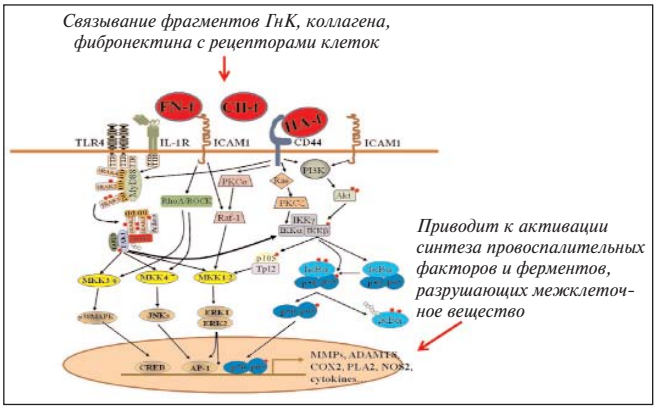

Рис. 5. *Ключевая роль фрагментации компонентов хрящевого матрикса в патогенезе ОА [6]*

Основными внешними стимулами для хондроцита являются фрагменты коллагена, ГнК, фибронектина, образующиеся при повреждении суставной ткани и последующей воспалительной реакции.

Мембранные рецепторы хондроцита CD44, TLR4, интегрины и ICAM1 реагируют на фрагменты компонентов ВКМ (фрагменты ГнК, коллагена II, фибронектина и аггрекана). Эти фрагменты стимулируют соответствующие рецепторы, увеличивается внутриклеточный синтез ХС в цистернах эндоплазматического ретикулума, активируется сборка коллагена на мембране хондроцита с участием синтазы 2 ГнК. Одновременно с клеточной пролиферацией повышается образование ферментов катаболизма, в частности гиалуронидаз, аггреканаз (ADAMTS), матриксных металлопротеиназ (ММП) и хондроитиназ.

Первостепенное значение при этом имеет фрагментация компонентов ВКМ (ГнК). Если высокомолекулярная ГнК стабилизирует клетки хрящевой ткани, то ее фрагменты оказывают прямо противоположное действие. К доказанным катаболическим стимуляторам относятся также ИЛ1βb и ЛПС. Хондроциты отвечают пролиферацией, увеличением экспрессии рецепторов, повышением образования матричных белков и ферментов их метаболизма, таких как гиалуронидазы, аггреканазы (ADAMTS), ММП и хондроитиназы, в том числе и увеличением образования активных форм кислорода (АФК). В результате происходит аккумуляция в ВКМ фрагментов ГнК, коллагена II, фибронектина и аггрекана, которые связывают и активируют рецепторы хондроцитов, синовиоцитов и остеобластов. *Формируется патологический порочный круг, ведущий к деструкции матрицы хряща.*

Связывание лигандов с рецепторами вызывает серию событий внутри клетки, которые приводят к активации фактора транскрипции NF-κB. Этот регуляторный белок проникает в ядро и, воздействуя на геномном уровне, способствует синтезу провоспалительных цитокинов. Цитокины стимулируют эффекторные функции фагоцитов (фагоцитоз, продукция АФК, активность лизосомальных ферментов, презентация антигенов).

Как следствие, в тканях сустава активируются воспаление, деградация хряща, разрушение костной ткани, развитие сосудов в зоне воспаления (ангиогенез), апоптоз клеток.

Начальные этапы воспаления – распознавание нарушителя гомеостаза клеточными компонентами основных элементов сустава (эпифизы костей, суставные хрящи; суставная капсула; синовиальная оболочка; синовиальная жидкость). В качестве средств «клеточной диагностики» используются различные типы рецепторов: мембранные TLR и CD44, внутриклеточные NOD1, 2-рецепторы и др.

Эскалация воспалительного ответа ассоциирована с выработкой медиаторов воспаления (провоспалительные вещества): цитокинов, факторов хемотаксиса, простагландинов, биологически активных аминов – кининов, АФК. Перечисленные тканевые события являются причиной развития отека, боли, гипертермии.

Последующий ответ специализированных клеток (хондроцитов, синовиоцитов, остеобластов) выражается в усилении метаболизма, активной клеточной пролиферации.

При активации хондроциты (и другие клетки суставных тканей) продуцируют ряд белков воспалительного ответа – цитокины, включая ИЛ1β, ИЛ6 и фактор некроза опухоли α

(ФНОα), а также разрушающие матрицу ферменты – ММП и аггреканазы (ADAMTS). Некоторые из этих соединений, такие как коллагеназы (ММП1, 3 и 13) и ферменты, разрушающие аггрекан (ADAMTS 4 и 5), по-видимому, имеют важное патогенетическое значение [16].

Врожденная иммунная система также активируется при ОА. Хондроциты экспрессируют рецепторы, с которыми связываются конечные продукты гликирования, накапливающиеся в стареющих тканях. Происходит фенотипический сдвиг в сторону катаболизма, что может объяснить возрастающую распространенность ОА с возрастом.

Эти ответы на компоненты ВКМ отражают усиление начавшейся деградации хряща. Хондроциты сначала могут активироваться воспалительными сигналами, исходящими из других суставных структур (синовиальная или субхондральная кость).

Провоспалительные цитокины, в частности ИЛ1, действуют на рецепторы клеток суставных тканей, что приводит к активации NF-κB. Следствием активации NF-κB в хондроцитах является усиление транскрипции «воспалительных» генов, повышение образования ферментов метаболизма ВКМ (гиалуронидазы, ADAMTS, ММП), белков и пептидов: индуцибельных форм ферментов циклооксигеназы (ЦОГ) 2, NO-синтазы, фосфолипазы А2, провоспалительных цитокинов ИЛ1β, ИЛ6, ФНОα и др., гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, хемокинов (ИЛ8, эотаксин, RANTES, моноцитарный хемотаксический белок, воспалительный белок макрофагов 1α), молекул адгезии VCAM1, ICAM1.

Описано комплексное взаимодействие суставного хряща с синовиальной мембраной при ОА. Продукты распада и микрокристаллы, генерируемые хрящевой тканью, активируют синовиальную оболочку/мембрану. В свою очередь, она продуцирует провоспалительные цитокины (ИЛ1β, ИЛ6, ФНОα), простаноиды, реактивные кислородные радикалы и ММП, которые высвобождаются в синовиальную жидкость и способствуют дальнейшей деградации хряща. TLR, присутствующие на поверхности синовиальных клеток, активируются с включением системы комплемента.

Кроме того, нарушается баланс между про- и антиангиогенными факторами в пользу первых, что приводит к развитию неоваскуляризации в тканях сустава, в том числе в хряще, поддерживает воспаление и способствует его хронизации [17].

Механизм действия ХС

Крупный размер молекул ХС не позволяет им проникать в хондроциты, синовиоциты. Противовоспалительный эффект ХС реализуется путем связывания с мембранными рецепторами (CD44, TLR4, интегрины и ICAM1), при этом достигается двойное действие: а) на рецепторном уровне – предотвращение связывания рецепторов с фрагментами ВКМ, которые инициируют воспалительную реакцию; б) на пострецепторном уровне – блокада внутриклеточных сигнальных путей, запущенных в результате активации рецепторов, что приводит к торможению транслокации провоспалительных факторов транскрипции в ядро хондроцита.

Один из первичных эффектов ХС заключается в ингибировании перемещения NF-κB в ядро. Рассматривают несколько направлений действия ХС на хондроцит (рис. 6). ХС оккупирует CD44, TLR4 и ICAM1, препятствует их активации фрагментами ГнК и, возможно, фрагментами фибронектина, аггрекана и коллагена. ХС за счет вовлечения CD44 и ICAM1 запускает механизмы, которые уменьшают ядерную транслокацию NF-κB и воспалительную реакцию. Кроме того, ХС занимает сайты/участки связывания интегринов, увеличивая экспрессию трансформирующего фактора роста β1 (TGFβ1), что способствует синтезу высокомолекулярной ГнК и коллагена, которые подавляют провоспалительные сигнальные пути. Кроме того, ХС угнетает действие медиатора воспаления и боли брадикинина за счет уменьшения протеолиза кининогена с образованием брадикинина, а также десенситизации и интернализации брадикининовых рецепторов с поверхности клетки, что, по-видимому, может служить дополнительным объяснением анальгетической активности ХС, наблюдающейся при регулярном применении.

ХС сдерживает ИЛ1β-индуцированную активацию хондроцитов, синовиоцитов и остеобластов. ХС не связывается с рецепторами ИЛ обоих типов (ИЛ1βRI и ИЛ1βRII), это означает, что ХС блокирует ИЛ1β-индуцируемую активацию клеток, возможно, с помощью CD44 и/или ICAM1.

Поскольку ХС блокирует сигнальные провоспалительные пути и таким образом опосредованно снижает экспрессию ММП1, ММП3, ММП13, ADAMTS1 и ADAMTS2, то можно говорить о поддержке ХС целостности ВКМ. Вместе с тем ХС увеличивает выработку и выделение ПГ хондроцитами человека. Поскольку ХС увеличивает экспрессию TGFβ1, а TGFβ1, в свою очередь, усиливает синтез коллагена II, можно предположить, что ХС увеличивает синтез коллагена II через TGFβ1. Клинические исследования свидетельствуют о том, что ХС уменьшает изменения кости. *In vitro* ХС тормозит ИЛ1β-индуцированную воспалительную реакцию в субхондральной кости и синовиальных оболочках. Предполагается, что действие ХС в субхондральной кости и при синовите опосредуется CD44 и, вероятно, ICAM1.

Таким образом, ХС, будучи сигнальной молекулой для хондроцита и других клеток суставных тканей, связываясь с мембранными рецепторами, регулирует биосинтетическую функцию тканей и поддерживает гомеостаз.

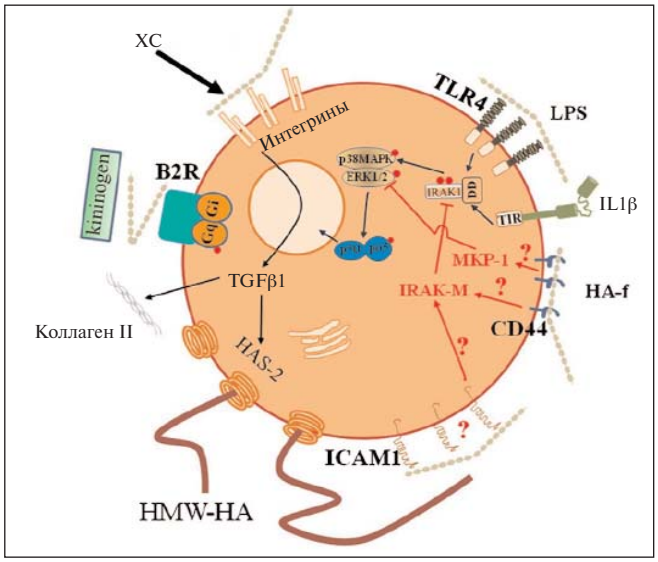

Рис. 6. *Действие ХС на хондроцит при ОА [6]*

В условиях выраженного воспаления ХС способен модулировать гиперактивность хондроцитов, конкурируя с эндогенными субстратами за одни центры связывания клеточных рецепторов (противовоспалительное и антиапоптотическое действие). На этом основана регуляторная роль ХС в терапии ОА [18].

Механизм действия ГН

ГН проникает в клетки с помощью переносчиков глюкозы. Выполняя пластическую и регуляторную функции, ГН включается в различные внутриклеточные метаболические процессы (рис. 7, 8). Основное его действие связано со

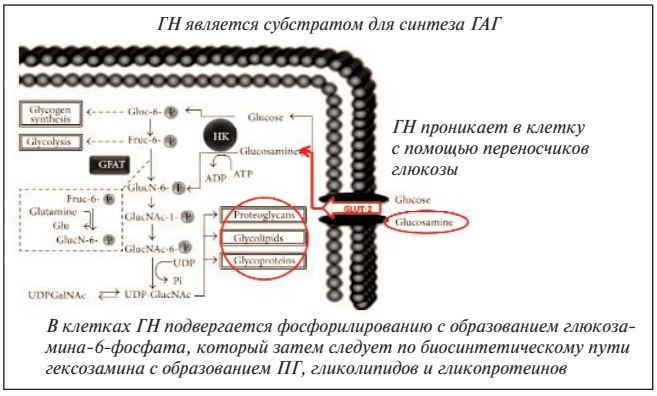

Рис. 7. *ГН, поступая в хондроциты с помощью переносчиков глюкозы, выполняет пластическую и регуляторную функции, включаясь в различные внутриклеточные метаболические процессы [16]*

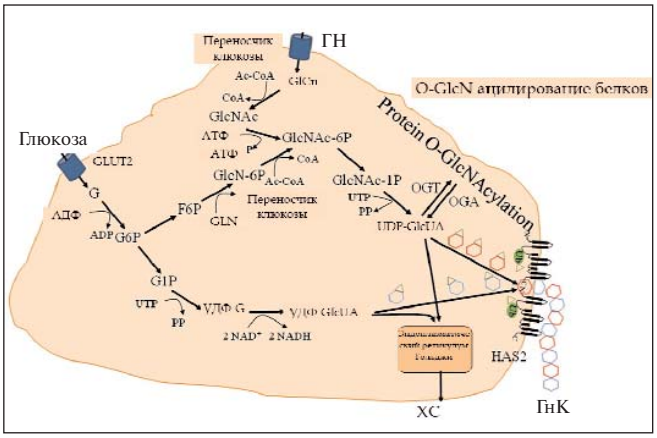

Рис. 8. *Транспорт ГН в хондроциты и последующий внутриклеточный каскад биохимических событий [6]. G6P – глюкозо-6-фосфат; F6P – фруктозо-6-фосфат; GlcN6P – глюкозамин-6-фосфат; GlcNAc6P – N-ацетилглюкозамин-6-фосфат; GlcNAc1P – N-ацетилглюкозамин-1-фосфат; УДФ-G – УДФ-глюкоза; АТФ – аденозинтрифосфат; АДФ – аденозиндифосфат; УТФ – уридинтрифосфат; Ac-CoA – ацетил-кофермент А; GLN – глутамин; GLU – глутамат; PP – пирофосфат; Ub – убиквитин*

способностью ацилировать белки О-ГН и, как следствие, изменять их активность, например снижать ядерную транслокацию NF-κB. ГН может также влиять на транскрипцию провоспалительных цитокинов за счет эпигенетического воздействия.

Пластическая роль ГН сводится к усилению внутриклеточной продукции ГнК и ХС. Трансмембранный транспорт глюкозы и ГН обеспечивается с помощью переносчика глюкозы GLUT, далее они включаются в гексозаминовый путь, конечным продуктом которого является образование уридиндифосфоглюкуроновой кислоты и уридиндифосфат-N-ацетилглюкозамина (УДФ-ацетилГН) – предшественников углеводов, используемых при биосинтезе ГК и ХС. УДФ-ацетилГН на внутренней поверхности шероховатого эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи превращается в N-ацетилгалактозамин под действием УДФ-галактозо-4'-эпимеразы и сульфатируется в положениях 4 и 6 сульфотрансферазами, инициируя синтез ХС. В указанных клеточных компартментах группировка сульфата, присоединенная к гидроксильным остаткам N-ацетилгалактозамина в положении 4 и/или 6, связывается с D-глюкуроновой кислотой, образуя сульфатированные производные ХС – будущие структурные элементы в синтезе ПГ ВКМ. В хряще коленного сустава у больных ОА ГН, по-видимому, не активирует синтез коллагена II или аггрекана, но может повышать выделение ПГ [6].

УДФ-ацетилГН является субстратом в реакции О-ГН-ацетилирования белков, катализируемой О-ацетилглюкозамин-трансферазы; деацитилирование белков осуществляется О-ацетилглюкозамин-гидролазой. Таргетные белки могут модифицироваться обратимо по остаткам серина и треонина; модификация белков под действием О-ацетилГН может приводить к снижению или повышению их функциональной активности [6].

Эффект ГН как симптом-модифицирующего препарата замедленного действия также связан с его способностью уменьшать ядерную транслокацию NF-κB. В этот процесс вносит вклад несколько механизмов. О-ГН-ацилирование ингибитора киназы NF-κB приводит к подавлению ее активности и, следовательно, уменьшает фосфорилирование ингибитора NF-κB (IκBα) и в итоге – активность NF-κB-опосредованных клеточных ответов. Кроме того, О-ГН-ацилирование IκBα препятствует его фосфорилированию и деградации протеосомами. В этом сложном механизме регуляции активности IκBα участвует еще и убиквитин-активирующий фермент E_1. Цепь биохимических событий следующая: повышенные концентрации ацетилглюкозамина подавляют активность E_1 – снижается интенсивность гидролитических процессов в протеасомах – уменьшается деградация IκBα.

Основная функция протеасомы – протеолитическая деградация в клетке белков до коротких пептидов (4–25 аминокислотных остатков). Чтобы белок-мишень расщепился протеасомой, он должен быть помечен путем присоединения к нему небольшого белка убиквитина (76 аминокислотных остатков).

Белок, выбранный клеткой для протеолиза/разрушения, распознается благодаря посттрансляционным модификациям. К основным первичным и вторичным сигналам для конъюгации с убиквитином и деградации белка наряду с другими относятся окисление остатков метионина, гликозилирование остатков серина и треонина.

Благодаря противовоспалительным свойствам ГН сдерживает N-гликозилирование ЦОГ2 и разрушение ЦОГ2 протеосомами. Как было отмечено, индуцибельная форма ЦОГ (ЦОГ2) ответственна за продукцию провоспалительных метаболитов арахидоновой кислоты – простагландинов Е.

Появляется все больше данных в пользу того, что важную роль в прогрессировании ОА играют эпигенетические процессы. Механизм эпигенетической регуляции активности генов, в основе которого лежит процесс метилирования, заключается в добавлении метильной группы к цитозиновым основаниям ДНК. Метилирование может влиять на активность генов несколькими способами. В частности, метильные группы могут физически препятствовать контакту фактора транскрипции (белка, контролирующего процесс синтеза информационной РНК на матрице ДНК) со специфическими участками ДНК. В то же время они совместно с метилцитозин-связывающими белками участвуют в процессе ремоделирования хроматина ядра.

Метилирование ДНК приводит к изменению экспрессии/активности генов. В хондроцитах пациентов с ОА метилирование ДНК снижено, вследствие чего облегчается эпигенетическая дерепрессия генов, кодирующих ММП3, ММП9, ММП13, ADAMTS4 и ИЛ1β.

ГН увеличивает метилирование ДНК и снижает экспрессию ИЛ1β. Действия ГН на эпигенетику проявляется в подавлении ядерной транслокации NF-κB и его взаимодействии с промотором гена ИЛ1β [19].

Таким образом, один из возможных путей фармакологической активности ХП – модуляция эпигенетических процессов с участием ГН, содержащегося в комбинированных препаратах ХП. Интерес к изучению эпигенетических механизмов ГН базируется на положении, что в отличие от относительно стабильной генетической информации, заложенной в геноме, эпигенетические «метки» при определенных условиях могут быть обратимыми. Это позволяет рассчитывать на эффективность методов фармакотерапии (в частности, применения ГН как действующего начала комбинированного препарата ХП), основанных на устранении эпигенетических модификаций, которые возникли у пациента под влиянием неблагоприятных факторов.

Неудивительно, что биохимический синергизм действия ГН и ХС подтвержден в серии лабораторных и клинических исследований. В опыте *in vitro* на культуре бычьих хондроцитов было показано, что комбинация ГН + ХС в 3 раза более эффективно увеличивала синтез ГАГ по сравнению с использованием ГН и ХС по отдельности (на 97; 32 и 32% соответственно). В эксперименте на кроликах с повреждением коленного сустава по данным гистологического исследования установлено, что только прием комбинации ГН + ХС в оптимальном соотношении 5:4 через 16 нед лечения приводил практически к полному восстановлению хряща, в отличие от применения монотерапии [11].

В крупном независимом исследовании **G**lucosamine/chondroitin **A**rthritis **I**ntervention **T**rial (GAIT) у больных ОА с умеренной и выраженной болью комбинированная терапия ГН и ХС статистически значимо уменьшала боль в коленном суставе; при применении ГН или ХС в виде монотерапии не установлено достоверной разницы по сравнению с плацебо (уменьшение боли отметили 80; 66 и 61% пациентов против 54% в группе плацебо) [20].

Таким образом, сочетание ГН и ХС в составе комбинированных препаратов ХП обосновано в многочисленных исследованиях. Фармакологическое действие ХП на ткани сустава включает: 1) регуляторные изменения активности хондроцитов при ОА, опосредованные взаимодействием ХС с мишенями (target) на поверхности клеток; 2) противовоспалительное влияние ГН, проявляющееся в сдерживании активации NF-κB; 3) пластические, анаболические эффекты, характеризующиеся регуляцией биосинтетических процессов в хондроцитах и внеклеточном матриксе суставной ткани, многократно возрастающие при совместном приеме ГН и ХС. Сочетание преимуществ таргетной и метаболической терапии определяет эффективность комбинированных препаратов ХП, активным началом которых являются ХС и ГН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева ЛИ. Препараты замедленного действия в лечении остеоартроза. Русский медицинский журнал. 2012;(20): 389-93. [Alekseeva LI. Drugs of delayed action in the treatment of osteoarthritis. *Russkii meditsinskii zhurnal*. 2012;(20):389-93 (In Russ.)].
2. Jordan KM, Arden NK, Doherty M, et al. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2003 Dec;62(12):1145-55. doi: 10.1136/ard.2003.011742
3. Zeng C, Wei J, Li H, et al. Effectiveness and safety of Glucosamine, chondroitin, the two in combination, or celecoxib in the treatment of osteoarthritis of the knee. *Sci Rep*. 2015 Nov 18;5:16827. doi: 10.1038/srep16827.
4. Henrotin Y, Lambert C. Chondroitin and glucosamine in the management of osteoarthritis: an update. *Curr Rheumatol Rep*. 2013 Oct;15(10):361. doi: 10.1007/s11926-013-0361-z
5. Hochberg MC, Martel-Pelletier J, Monfort J, et al. Combined chondroitin sulfate and glucosamine for painful knee osteoarthritis: a multicentre, randomised, double-blind, non-inferiority trial versus celecoxib. *Ann Rheum Dis*. 2016 Jan;75(1):37-44. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206792. Epub 2015 Jan 14.
6. Du Souich P. Absorption, distribution and mechanism of action of SYSADOAS. *Pharmacol Ther*. 2014 Jun;142(3):362-74. doi: 10.1016/j.pharmthera.2014.01.002. Epub 2014 Jan 21.
7. Toffoletto O, Tavares A, Casarini DE, et al. Pharmacokinetic profile of glucosamine and Chondroitin sulfate association in healthy male Individuals. *Acta Ortop Bras*. 2005; 13(5):235-7. Doi: 10.1590/S1413-78522005000500005
8. Persiani S, Roda E, Rovati LC, et al. Glucosamine oral bioavailability and plasma pharmacokinetics after increasing doses of crystalline glucosamine sulfate in man. *Osteoarthritis Cartilage*. 2005 Dec;13(12): 1041-9. Epub 2005 Sep 13.
9. Block JA, Oegema TR, Sandy JD, Plaas A. The effects of oral glucosamine on joint health: is a change in research approach needed? *Osteoarthritis Cartilage*. 2010 Jan; 18(1):5-11. doi: 10.1016/j.joca.2009.07.005. Epub 2009 Sep 1.
10. Vardakou M, Mercuri A, Naylor TA, et al. 2011. Predicting the in vivo performance of different oral capsule shell types using a novel in vitro dynamic gastric model. *Int J Pharm*. 2011 Oct 31;419(1-2):192-9. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.07.046. Epub 2011 Aug 9.
11. Lippiello L, Woodward J, Karpman R, Hammad TA. In vivo chondroprotection and metabolic synergy of glucosamine and chondroitin sulfate. *Clin Orthop Relat Res*. 2000 Dec;(381):229-40.
12. Triggs-Raine B, Natowicz MR. Biology of hyaluronan: Insights from genetic disorders of hyaluronan metabolism. *World J Biol Chem*. 2015 Aug 26;6(3):110-20. doi: 10.4331/wjbc.v6.i3.110.
13. Roughley PJ, Mort JS. The role of aggrecan in normal and osteoarthritic cartilage. *J Exp Orthop*. 2014 Dec;1(1):8. doi: 10.1186/s40634-014-0008-7. Epub 2014 Jul 16.

14. Soares MA, Teixeira F, Fontes M. Heparan Sulfate Proteoglycans May Promote or Inhibit Cancer Progression by Interacting with Integrins and Affecting Cell Migration. *Biomed Res Int.* 2015;2015:453801. doi: 10.1155/2015/453801. Epub 2015 Oct 19.
15. Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol.* 2012 Jul 1;4(3):253-8. doi: 10.4161/derm.21923.
16. Glyn-Jones S, Palmer AJ, Agricola R, et al. Osteoarthritis. *Lancet.* 2015 Jul 25;386(9991):376-87. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60802-3. Epub 2015 Mar 4.
17. Henrotin Y, Lambert C, Richette P. Importance of synovitis in osteoarthritis: evidence for the use of glycosaminoglycans against synovial inflammation. *Semin Arthritis Rheum.* 2014 Apr;43(5):579-87. doi: 10.1016/j.semarthrit.2013.10.005. Epub 2013 Oct 18.
18. Salazar J, Bello L, Chavez M, et al. Glucosamine for osteoarthritis: biological effects, clinical efficacy, and safety on glucose metabolism. *Arthritis.* 2014;2014:432463. doi: 10.1155/2014/432463. Epub 2014 Feb 11.
19. Imagawa K, de Andres MC, Hashimoto K, et al. The epigenetic effect of glucosamine and a nuclear factor-kappa B (NF-κB) inhibitor on primary human chondrocytes – implications for osteoarthritis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011 Feb 18;405(3):362-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.01.007. Epub 2011 Jan 8.
20. Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, et al. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two incombination for painful knee osteoarthritis. *N Engl J Med.* 2006;354(8):795-808. doi:10.1056/NEJMoa052771

Поступила 4.05.2018

Исследование не имело спонсорской поддержки. Автор несет полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Окончательная версия рукописи была одобрена автором.