

Thesis Title Effect of Polysulfated Polysaccharides on Hyaluronan and
Proteoglycan Degradation of Cartilage Explants

Author Mr. Akanit Itthiarbha

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Advisory

Asst. Prof. Dr. Siriwan Ongchai Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Prachya Kongtawelert Member

Asst. Prof. Dr. Ratana Banjerdpongchai Member

ABSTRACT

Degenerative joint disease is no consensus as to its definition yet. The hallmark feature of degenerative joint disease is the progressive destruction of articular cartilage and synovial membrane, thereby compromising joint function. Pharmacological management in degenerative joint disease has, target the symptoms of the disease rather than the underlying cause; analgesics. However, the deleterious side effects associated with the use of many of these agents has led to a more conservative approach to their use in recent years. Previously, *in vitro* and animals studies with certain polysulfated polysaccharides (PSPS) such as pentosan polysulfated (PPS) have indicated that these agents may be effective in maintaining cartilage proteoglycan in arthritic joints. One of the PSPS produced in bone and joint research laboratories, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, the chitosan

polysulfate (CPS), has been investigated whether it contains chondroprotective effect in cartilage explants. The objective of this study was to investigate the effect of polysulfated polysaccharides such as pentosan polysulfate and chitosan polysulfate on cartilage degradation induced by retinoic acid (RetA) or interleukin-1 β (IL-1 β). Diacerein, one of the anti-arthritis agent was also investigated.

Articular cartilage was dissected from the metacarpophalangeal joints of pigs. Retinoic acid (RetA), (5 μ M) or recombinant-Rat Interleukin-1 beta (rRaIL-1 β), (25 ng/ml) was added to induce cartilage degradation in the present or absent of PPS, CPS and diacerein. The degradation of cartilage was studied by quantitation of ECM biomolecules such as sulfated-glycosaminoglycan (sulfated-GAG), hyaluronan (HA), chondroitin sulfate (WF6 epitope), which released into culture media. The remaining of uronic acid content in cartilage tissues was also investigated.

Diacerein was able to significantly inhibit RetA and IL-1 β induced cartilage degradation, and gelatinolytic activity in cartilage explants in a dose-related manner. PPS and CPS were shown to be inhibitors of IL-1 β and RetA induced ECM biomolecules degradation from cartilage explants. However, the concentration of PPS and CPS which higher than 10 μ g/ml appeared to increase the degrading activity. Therefore, it is likely that these PPS could be a potential candidate to be used as the anti-arthritis drug in the future.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ผลของพอลิซัลเฟต พอลิแซ็กคาไรด์ต่อการสลาย

ไฮยาลูโรแนนและโปรทีโอไกลแคนจาก

กระดูกอ่อนผิวข้อในหลอดทดลอง

ผู้เขียน

นายอัคนิษฐ์ อธิธำภา

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. ศิริวรรณ องค์กรไชย

ประธานกรรมการ

รศ. ดร. ปรัชญา คงทวีเลิศ

กรรมการ

ผศ. ดร. รัตนา บรรณเจดพงษ์ชัย

กรรมการ

บทคัดย่อ

โรคข้อเสื่อมเป็นโรคที่ยังไม่ทราบถึงสาเหตุที่แน่ชัด พบว่ากระดูกอ่อนผิวข้อและเยื่อข้อถูกทำลายทำให้ความสามารถในการเคลื่อนไหวลดลง การรับประทานยาเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดความรุนแรงของโรค แต่พบว่ายาที่ใช้รักษาในปัจจุบันมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยและราคาแพงจากการศึกษาค้นคว้าพบว่า สารประกอบกลุ่มพอลิซัลเฟต พอลิแซ็กคาไรด์ เช่น เพนโทซานพอลิซัลเฟต สามารถรักษาระดับของโปรทีโอไกลแคนในกระดูกอ่อนผิวข้อได้ จึงเป็นที่น่าสนใจศึกษาคุณสมบัติด้านการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อของ สารโคโตซานพอลิซัลเฟตซึ่งจัดเป็นสารกลุ่มพอลิซัลเฟต พอลิแซ็กคาไรด์ ชนิดหนึ่ง ที่สามารถผลิตขึ้นได้ภายในห้องปฏิบัติการวิจัยโรคกระดูกและข้อ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วัตถุประสงค์ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของสารประกอบกลุ่มพอลิซัลเฟต พอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ เพนโทซานพอลิซัลเฟต และโคโตซานพอลิซัลเฟต รวมทั้งไดอะซิทิน (ซึ่งเป็นยาต้าน

โรคข้อเสื่อมที่ใช้ในปัจจุบัน) ต่อการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อที่ถูกเหนี่ยวนำโดยอนุพันธ์ของวิตามินเอ (retinoic acid; RetA) หรือ อินเตอร์ลิวคิน-1เบต้า(interleukin-1 β ;IL-1 β).

ทดลองโดยนำกระดูกอ่อนผิวข้อจากสุกร มาทำการเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อด้วยอนุพันธ์ของวิตามินเอ หรือ อินเตอร์ลิวคิน-1เบต้า ในภาวะที่มีและไม่มีสารเพนโทซานพอลิซัลเฟต ไคโตซานพอลิซัลเฟต และไดอะซีลิน เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นจึงศึกษาการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อ โดยการวัดสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบเนื้อพื้นของกระดูกอ่อนผิวข้อ ที่สลายออกมาในน้ำเลี้ยงเซลล์ เช่น ไกลโคซามิโนไกลแคน ไฮยาลูโรแนน และคอนครอยตินซัลเฟต รวมทั้งวัดปริมาณกรดยูโรนิกที่เหลื่ออยู่ในกระดูกอ่อนผิวข้อ

ไดอะซีลินซึ่งเป็นยาที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคข้อ มีคุณสมบัติในการยับยั้งฤทธิ์ของอนุพันธ์ของวิตามินเอ และ อินเตอร์ลิวคิน-1เบต้า ที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อ รวมทั้งลดการแสดงออกของเอนไซม์ในกลุ่ม MMP คล้ายกันกับเพนโทซานพอลิซัลเฟต และไคโตซานพอลิซัลเฟต ที่มีคุณสมบัติยับยั้งฤทธิ์ของอนุพันธ์ของวิตามินเอ และ อินเตอร์ลิวคิน-1เบต้า ที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อ แต่พบว่าที่ความเข้มข้นสูงกว่า 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของสารทั้งสองตัวสามารถเหนี่ยวนำให้มีการเสื่อมสลายของกระดูกอ่อนผิวข้อ และเพิ่มการแสดงออกของเอนไซม์ในกลุ่ม MMP จากผลการยับยั้งการสลายกระดูกอ่อนผิวข้อของสารทั้งสองตัว ได้หวังว่าในอนาคตจะได้มีการพัฒนาสารดังกล่าวเพื่อใช้เป็นยารักษาโรคข้อเสื่อมได้ต่อไป