

Т. В. Звягінцева, Г. О. Сирова,
Л. П. Абрамова, Т. І. Єрмоленко

Антициклооксигеназний компонент у механізмі протизапальної дії «Мігрепіну»

Харківський національний медичний університет

Ключові слова: протизапальна дія, карагеніновий набряк, циклооксигеназа 1, циклооксигеназа 2, «Мігрепін»

У медичній практиці успішно застосовуються як стероїдні так і нестероїдні протизапальні засоби. Відомо, що механізм дії стероїдних протизапальних засобів (СПЗП) пов'язують з їх властивостями індукувати в лейкоцитах синтез спеціальних білків ліпокортинів, що пригнічують активність фосфоліпази А₂. Як наслідок пригнічується синтез арахідонової кислоти, зменшується продукція простагландинів (ПГ), тромбоксану, лейкотриєнів, фактора, що активує тромбоцити. Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) також приймають активну участь у метаболізмі арахідонової кислоти, який відбувається як ліпоксигеназним, так і циклооксигеназним шляхами [6, 9, 10].

При перетворенні арахідонової кислоти під дією ферменту циклооксигенази (ЦОГ) утворюються ПГ, простагландини і тромбоксани. У реалізації циклооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти беруть участь дві ізоформи цього ферменту – конституціональна, або фізіологічна ЦОГ-1 (структурна, «будівельна») і патологічна, або індукована ЦОГ-2 – «запальна», що утворюється тільки у вогнищі запалення [9,10].

ЦОГ-1 відповідальна за синтез протизапальних ПГ, поліпшує мікроциркуляцію в органах, особливо в нирках, легенях і печінці, контролює утворення гомеостатичних ПГ, що мають цитопротекторний ефект відносно слизової оболонки шлунка. Конституційна ЦОГ-1 присутня в активній формі практично в усіх органах і тканинах, вклю-

чаючи шлунково-кишковий тракт, нирки, головний мозок, і бере участь у життєзабезпеченні рутинних фізіологічних функцій [5, 10, 11, 13, 15].

ЦОГ-2 у нормі в невеликих кількостях виявляється переважно в головному мозку та нирках, але її експресія (посилене утворення) різко зростає (у 10–50 разів) при розвитку запального процесу [8, 17]. У вогнищі запалення ЦОГ-2 відповідальна за синтез прозапальних ПГ, що беруть участь у формуванні запальних реакцій, і може у великих кількостях накопичуватися в плазмі крові [14, 16, 18].

Основний механізм дії НПЗП пов'язаний зі зворотнім пригніченням активності ЦОГ. Практично всі НПЗП здатні в тому чи іншому ступені блокувати продукцію обох ізоферментів. Природно, що основний протизапальний ефект НПЗП обумовлений гальмуванням активності ЦОГ-2, а основні побічні ефекти (гастроуденопатія, нефропатія та ін.) з'являються за рахунок блокади ЦОГ-1 [6, 7, 18].

Нами встановлено, що новий комбінований лікарський засіб «Мігрепін» (МГП), що складається з калієвої солі 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну, карбамазепіну та допоміжних речовин виявляє антиексудативну протизапальну дію [1].

З даних літератури відомо, що в патогенезі розвитку «карагенінового набряку» у щурів у перші 30–90 хвилин приймають участь гістамін та серотонін, в інтервалі 1,5–2,5 годин – кініни, а в межах 2,5–5 годин – ПГ [2, 9, 12]. Тому для вивчення механізму антиексудативної дії найбільш інформативною є модель «карагенінового набряку» стопи в щурів [12].

Мета дослідження – визначення механізму антиексудативної протизапальної дії МГП.

Матеріали та методи. Досліди проведено на 36 щурах лінії WAG вагою 180–220 г, яких було розподілено на VI груп по 6 тварин у кожній групі. I група – «інтактний контроль» – тварини, які одержували 3 % крохмальний клейстер (2 мл на 200 г маси щура). II група – група «запалення» – неліковані тварини, які одержували також 3 % крохмальний клейстер у тому ж об'ємі, але в умовах карагенінового набряку. III група – тварини, які одержували МГП (12,5 мг/кг) на фоні карагенінового набряку. Тварини IV, V, VI груп в аналогічних умовах одержували референт-препарати. Тваринам IV групи вводили інгібітор фосфоліпази дексаметазон у дозі 0,06 мг/кг, V групи – піроксикам у дозі 1,3 мг/кг (дозы перераховано за допомогою коефіцієнта видової стійкості Риболєва Ю. Р.) [3], VI групи – диклофенак-натрію (D-Na) у дозі 8 мг/кг [2].

Усім тваринам дослідні препарати було введено внутрішньошлунково одноразово у вигляді крохмального розчину, через 1 годину субплантарно було введено флоготропний агент – 1 % розчин карагеніну об'ємом 0,1 мл.

Через 3 години визначали активність ЦОГ-1 та ЦОГ-2 у сироватці крові, гомогенатах слизової оболонки шлунка та головного мозку флюорометричним методом із використанням комерційного набору виробництва фірми Cayman Chemical Company (США) на спектрофлюориметрі «Хітачі» (Японія). Для гомогенізації тканин використовували фосфатно-сольовий буфер рН 7,4 (1 : 5).

Усі дослідні виконано згідно з існуючими рекомендаціями [2]. Щури втримувалися в умовах віварію згідно з правилами гуманного ставлення до лабораторних тварин. Усі втручання проводили з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів [4].

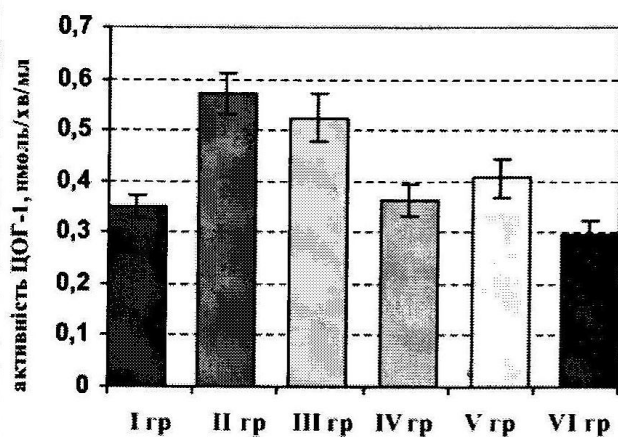
Результати та їх обговорення. Показники активності ЦОГ-1 в досліджуваних тканинах інтактних тварин представлені на рисунку 1. У групі інтактних щурів активність цього ферменту була найбільшою в сироватці крові ($0,350 \pm 0,024$ нмоль/хв/мол), нижче в слизовій оболонці шлунка – $0,287 \pm 0,031$ нмоль/хв/мол і ще нижче в головному мозку – $0,236 \pm 0,036$ нмоль/хв/мол.

Розвиток експериментального карагенінового запалення призводив до експресії даного ензиму в досліджуваних тканинах, на що вказувала суттєва його активація (див. рис. 1). Так, у сироватці крові щурів при розвитку запалення активність ферменту виросла в 1,6 разів, у слизовій оболонці шлунка – у 1,7 разів, у головному мозку – у 2,1 разів.

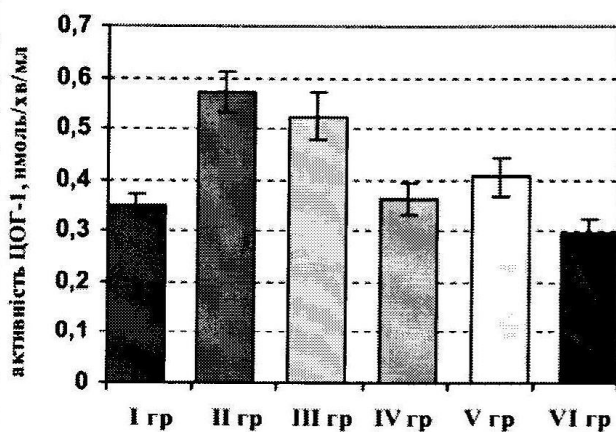
Вірогідних відмінностей активності ЦОГ-1 в сироватці крові, слизовій оболонці шлунка і головному мозку в порівнянні з контрольною нелікованою групою (група «запалення») не відмічалось. МГП не міг забезпечити нормалізації рівня активності ензиму при розвитку запалення, і показники активності ЦОГ-1 у тварин даної групи були значно вище за інтактний рівень: на 21 % у сироватці крові ($P < 0,05$), на 36 % у слизовій оболонці шлунка ($P < 0,02$) і на 57 % у головному мозку ($P < 0,01$).

Використання дексаметазону (див. рис. 1), суттєво стримувало наростання активності ЦОГ-1 при розвитку карагенінового запалення. Показники були суттєво нижчі ніж у контрольній групі «запалення» і при використанні МГП. Вірогідне збільшення показників щодо норми відзначалося тільки в головному мозку ($0,309 \pm 0,033$ нмоль/хв/мол проти $0,236 \pm 0,036$ нмоль/хв/мол в інтактній групі), а в інших об'єктах розходження з контрольною групою були не вірогідні. При застосуванні піроксикаму активність ЦОГ-1 була вірогідно нижчою, ніж у групі «запалення».

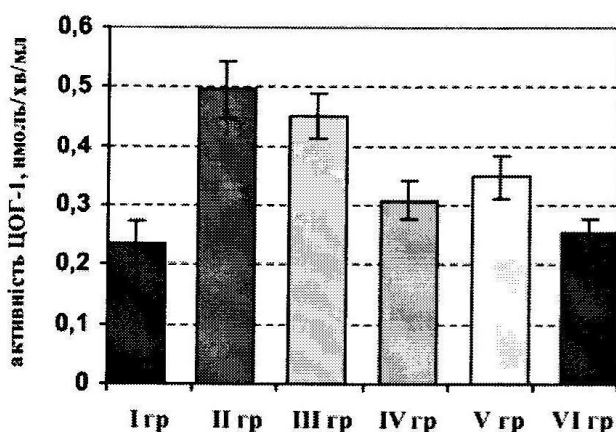
Застосування D-Na (див. рис. 1) викликало суттєве зниження активності ЦОГ-1 не тільки в порівнянні із групами запалення і МГП, але була явна тен-



а) сироватка крові



б) слизова оболонка шлунка



в) ГОЛОВНИЙ МОЗОК

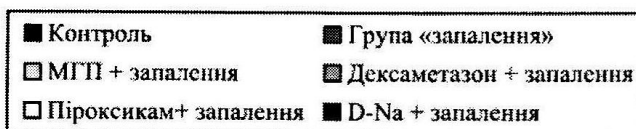


Рис. 1. Активність ЦОГ-1 при застосуванні «Мігреліну» та препаратів порівняння в умовах «карагенінового набряку».

денція до зниження даного показника щодо норми, особливо помітна в сироватці крові (85 % інтактного рівня).

Картина зміни активності іншої ізоформи даного ферменту – ЦОГ-2 носила інший характер (рис. 2). У тканинах і крові інтактних тварин активність ЦОГ-2 була слабо визначена: у сироватці крові – $0,061 \pm 0,005$ нмоль/хв/мл, у слизовій оболонці шлунка – $0,064 \pm 0,007$ нмоль/хв/мл і в головному мозку – $0,059 \pm 0,004$ нмоль/хв/мл.

Розвиток в організмі запального процесу, викликаного карагеніном, супроводжувався підвищенням активності ЦОГ-2 в середньому до 10 разів у порівнянні з інтактними тваринами (див. рис. 2), що було обумовлено, безперечно, індукцією синтезу цього ферменту у вогнищі запалення. Активність ферменту складала $0,662 \pm 0,072$ нмоль/хв/мл у сироватці крові, $0,611 \pm 0,065$ нмоль/хв/мл у слизовій шлунка і $0,634 \pm 0,083$ нмоль/хв/мл у головному мозку.

Застосування препарату МГП спричиняло значну депресивну дію на синтез ЦОГ-2. В усіх досліджуваних об'єктах (див. рис. 2) його активність, незважаючи на розвиток запалення, залишалася практично в межах інтактних значень (102–107 % інтактного рівня).

Застосування дексаметазону забезпечувало значне зниження активності ЦОГ-2 у порівнянні із групою запалення ($P < 0,001$), однак ефект зниження був виражений слабкіше, ніж у групі з застосуванням МГП, і досліджуваний показник був у 1,3 разів вище значень у інтактних щурів ($P < 0,05$).

Використання еталонних НПЗП – піроксикаму та D-Na – безумовно, мало виражений стримуючий вплив на активність ЦОГ-2, що особливо чітко

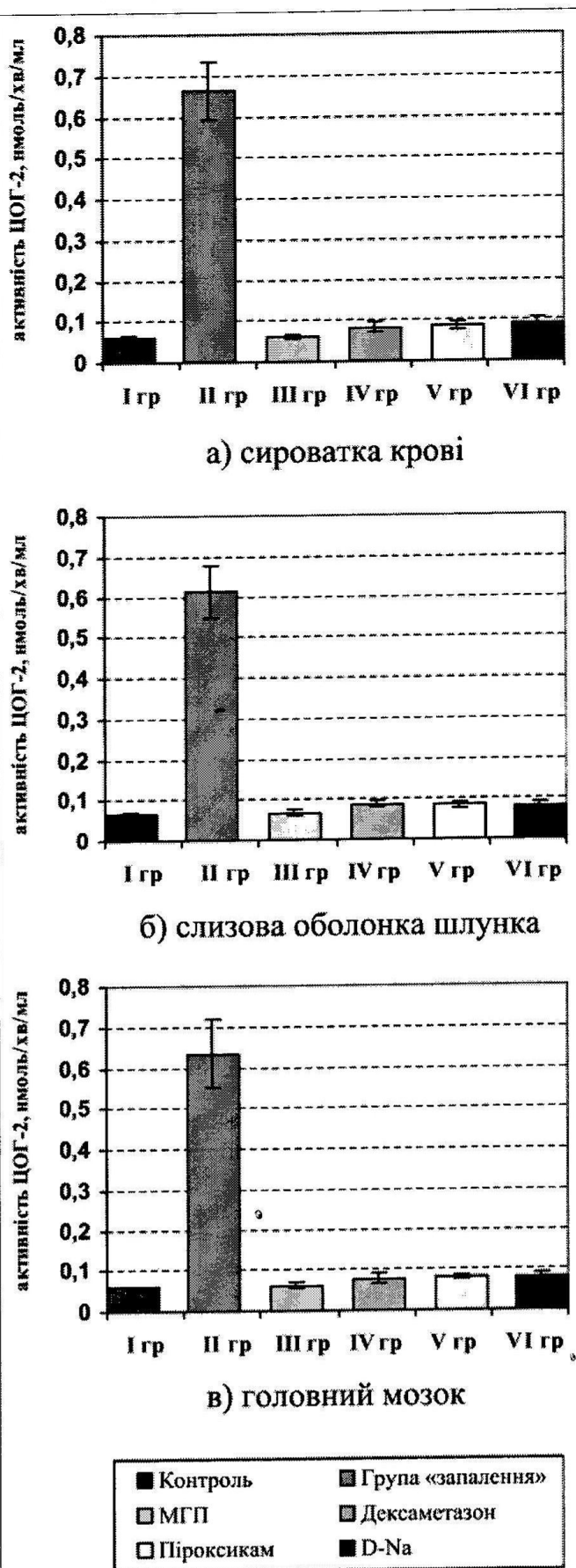


Рис. 2. Активність ЦОГ-2 при застосуванні «Мігрепіну» та препаратів порівняння в умовах «карагенінового набряку».

проявилось в клітинах слизової шлунка (див. рис. 2). Слід також зазначити, що більш виражена протизапальна дія була характерна для піроксикаму, який мав більший інгібуючий вплив на активність досліджуваного ферменту ніж Д-На.

Порівняльний аналіз селективності застосованих препаратів стосовно ізоформ ЦОГ: ЦОГ-1 та ЦОГ-2 наведено в таблиці.

Співвідношення коефіцієнту інгібування (КІ) $KI_{\text{ЦОГ-2}} / KI_{\text{ЦОГ-1}}$ виявляє ступінь «селективності» застосованих препаратів до пригнічення циклооксигеназного шляху розвитку запалення, що може вказувати на виразливість протизапальної дії, а також свідчити про можливість прояву побічних ефектів.

За визначенням «селективності» блокування ЦОГ-2 самим «слабким» у наших експериментах виявився Д-На (показав 3,5–4,1 селективність). Дексаметазон виявив 5,0 – 5,1-кратну селективність у відношенні ЦОГ-2 стосовно ЦОГ-1, що вказувало на його більш ефективнішу дію, як протизапального засобу. Більш високий ступінь селективності спостерігався в НПЗП – піроксикаму. Він показав 5,5 – 6,1-кратну селективність, що свідчило про його значні протизапальні властивості та зберігаючу дію на органи ШКТ та нирки. Найбільш високі показники селективної дії на ЦОГ-2 були притаманні досліджуваному препарату МГП. Разом із цим засіб майже не мав впливу на активність ЦОГ-1. Показники селективності в цій групі були найвищими: 8,8 – 9,6, що було в 1,6 разів вище, ніж у групі з використанням піроксикаму і дексаметазону та більш ніж у 2 рази вище в порівнянні із групою Д-На.

Таблиця

Селективність досліджуваних протизапальних засобів щодо впливу на активність ЦОГ-1 і ЦОГ-2

Група	Сироватка крові	Слизова оболонка шлунка	Головний мозок
	$KI_{\text{ЦОГ-2}}/KI_{\text{ЦОГ-1}}$	$KI_{\text{ЦОГ-2}}/KI_{\text{ЦОГ-1}}$	$KI_{\text{ЦОГ-2}}/KI_{\text{ЦОГ-1}}$
МГП	9,6	8,8	9,2
Піроксикам	5,5	6,1	5,7
Дексаметазон	5,0	5,1	5,1
Диклофенак-натрію	3,7	4,1	3,5

Висновки

1. Експериментальне карагенінове запалення сприяло експресії активності ЦОГ-1 і ЦОГ-2 у сироватці крові, слизовій оболонці шлунка та тканинах головного мозку в щурів.
2. «Мігрепін» (12,5 мг/кг, одноразово, внутрішньошлунково) селективно пригнічує активність ЦОГ-2 у всіх досліджених об'єктах.

3. «Мігрепіну» притаманна більша селективність у відношенні ЦОГ-2, чим дексаметазону, піроксикаму і Д-На. $KI_{\text{ЦОГ-2}} / KI_{\text{ЦОГ-1}}$ «Мігрепіну» складає в сироватці крові 9,6, головному мозку 9,2, слизовій оболонці шлунку 8,8, що в 1,6–2 рази перевищує $KI_{\text{ЦОГ-2}} / KI_{\text{ЦОГ-1}}$ всіх препаратів порівняння.

1. Вивчення специфічної активності нової комбінації похідного 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїну та карбамазепіну в експерименті // Т. В. Звягінцева, Л. Т. Киричок, Г. О. Сирова [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2008. – № 1. – С. 102–105.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації; за редакцією чл. – кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ, 2001. – 527 с.
3. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников: в 2 т. Т.1. Минск: Беларусь, 2000. – 495 с.
4. Медико-биологическая статистика: пер. с англ.; под ред. С. Гланц. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
5. Профілактика та фармакотерапія гастропатій пов'язаних із застосуванням нестероїдних, протизапальних засобів: метод. рекоменд. / [уклад.: О. П. Вікторов та ін.]. – Київ, 2005. – 30 с.
6. Щокіна К. Г. Порівняння протиексудативної дії сучасних нестероїдних протизапальних засобів / К. Г. Щокіна, С. М. Дроговоз, Ю. Н. Максимов // Ліки. – 2004. – № 3–4. – С. 34–40.
7. Acute gastrointestinal permeability responses to different non-steroidal anti-inflammatory drugs / E. Smecuol, J. C. Bai, E. Sugai [et al.] // Gut. – 2001. – V. 49 (5). – P. 650–655.
8. Gastrointestinal cardiovascular, renal and hepatic toxicity of the selective Cox-2 inhibitor meloxicam in a systematic review of 48 studies in 117,755 patients / D. E. Furst, H. Zeidler, E. Lesaffre [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2002. – № 61 (Suppl. 1). – P. 136.
9. Catella-Lawson F. Effects of specific inhibition of cyclooxygenase 2 on sodium balance thermodynamics and vasoactive eicosanoids / Catella-Lawson F. // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1999. – № 289. – P. 735–741.
10. Carrillo-Jimenez R. Celecoxib-induced acute pancreatitis and hepatitis: a case report / R. Carrillo-Jimenez, M. Numberger // Ann. Intern. Med. – 2000. – V. 160. – № 4. – P. 553–554.
11. CSM Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and gastrointestinal (GI) safety // Curr. Probl. Pharmac. – 2002. – № 28. – P. 5.
12. Di Rosa M. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine / M. Di Rosa, J.P. Giroud, D.A. Willoughby // J. Patol. – 1971. – Vol. 104, № 15. – P. 29.
13. Fatal hepatotoxicity secondary to nimesulide / G. Merlani, M. Fox, H. P. Ochen [et. al.] // Clin. Pharmacol. – 2001. – № 57. – P. 321–326.
14. Jannedohloand E-L. Coxibs and the repating of reporting reactions / E-L. Jannedohloand, Q-Y. Yue // Medical Products Agency. – 2000. – № 11. – P. 74–77.
15. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I. Role in intllammation / E. Kolaczowska // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 533–554.
16. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I Nonsteriodae antiinflammatory drugs as ther inhibitor / E. Kolaczowska // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 555–578.
17. Psaty B. M. COX-2 inhibitors – Lessons in drug safety / B. M. Psaty, C. D. Furberg // NEngl. J. Med. – 2005, Mar 17. – V. 352 (11). – P. 1133–1135.
18. Vane J. R. Cyclooxygenases I and II / J. R. Vane, Y. S. Bakhle, R. M. Botting // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1998. – № 38. – P. 97–120.

Т. В. Звягинцева, А. О. Сыровая, Л. П. Абрамова, Т. И. Ермоленко
Антициклооксигеназный компонент в механизме противовоспалительного действия «Мигрепина»

Приведены результаты экспериментального изучения влияния «Мигрепина» (12,5 мг/кг, однократно, внутривентрикулярно) и препаратов сравнения на активность циклооксигеназы-1 и циклооксигеназы-2 в исследуемых объектах. Исследование проведено на 36 крысах линии WAG весом 180–220 г обоего пола (по 6 в каждой группе) на модели «карагенинового отека». Активность ЦОГ-1 и ЦОГ-2 определяли в сыворотке крови, гомогенатах слизистой оболочки желудка и тканях головного мозга флуорометрическим методом. Установлено, что «Мигрепин» угнетает активность ЦОГ-2 в исследуемых объектах. Учитывая тот факт, что на активность ЦОГ-1 «Мигрепин» не влияет – его можно отнести к группе селективных блокаторов ЦОГ-2.

Ключевые слова: противовоспалительное действие, карагениновый отек, циклооксигеназа-1, циклооксигеназа-2, «Мигрепин»

T. V. Zvjagintseva, A. O. Syrovaya, L. P. Abramova, T. I. Ermolenko
Anticyclooxygenase component in the mechanism of anti-inflammatory action of «Migrepin»

Experimental results of studying of influence of the preparation «Migrepin» (12,5 mg/kg single dose, intragastric) and comparative preparations on cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 activity in investigated objects are given. The research was carried on 36 WAG-strain rats of both sexes, mass – 180–220 g (6 animals in each group) using the model of carrageenin oedema. Activity of the cyclooxygenase-1 and the cyclooxygenase-2 was determined in a blood serum, homogenates of a stomach mucosa, and brain tissues by means of fluorometry. Therefore we consider the preparation «Migrepin» as to have an anticyclooxygenase 2 component in mechanism of action in the studied objects. So long as the preparation «Migrepin» has no influence on activity of the cyclooxygenase-1 it can be classified as a selective blocker of the cyclooxygenase-2.

Key words: anti-inflammatory action, carrageenin oedema, cyclooxygenase-1, cyclooxygenase -2, «Migrepin»

Надійшла: 16.02.2010 р.

Контактна особа: Сырова Ганна Олегівна, канд. фарм. наук, доцент, зав. кафедри медичної та біоорганічної хімії, Харківський національний медичний університет, б. 4, проспект Леніна, м. Харків, 61022. Тел.: (57) 707-73-77. E-mail: annasirova@rambler.ru