

АНТИЛІПОКСИГЕНАЗНИЙ КОМПОНЕНТ У МЕХАНІЗМІ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ МІГРЕПІНУ

Наведено результати експериментального вивчення впливу мігрепіну (12,5 мг/кг одноразово внутрішньо-шлунково) і препаратів порівняння на рівень лейкотриєну B_4 (ЛТВ₄) в досліджуваних об'єктах. Дослідження проведено на 36 щурах лінії WAG масою 180-220 г обох статей (по 6 тварин у кожній групі) на моделі "зимозанового набряку". Рівень ЛТВ₄ визначали в сироватці крові, гомогенатах слизової оболонки шлунка і тканинах головного мозку імуноферментним методом. Встановлено, що мігрепін пригнічує утворення ЛТВ₄ в досліджуваних об'єктах. Тому вважаємо, що в механізмі дії мігрепіну має місце антиліпоксигеназний компонент.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протизапальна дія, зимозановий набряк, ліпоксигеназа, мігрепін, лейкотриєни.

ВСТУП. В основі розвитку більшості захворювань різної етіології лежить запалення, яке являє собою складну реакцію організму на зовнішнє та внутрішнє ураження [2, 6-10, 12, 13]. Дія пошкоджувального фактора будь-якої етіології призводить до змін, в результаті яких із фосфоліпідів клітинних мембран вивільнюються поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК). Фермент фосфоліпаза A_2 сприяє виділенню з ПНЖК арахідонової кислоти, яка є попередником ейкозаноїдів – біологічно активних речовин ліпідної природи. Основний механізм розвитку запалення полягає у перетворенні арахідонової кислоти. Її метаболізм може відбуватись двома шляхами – ліпоксигеназним і циклооксигеназним, при цьому утворюються біохімічні сполуки, що відрізняються як за хімічною структурою, так і за фізіологічною дією [11, 14-18].

Метаболізм арахідонової кислоти з участю ферменту 5-ліпоксигенази призводить до утворення лейкотриєнів (ЛТ). Першими в разі ліпоксигеназної реакції утворюються ЛТА₄ – нестабільні сполуки з періодом напіврозпаду 3-5 хв. Подальший їх метаболізм призводить до утворення дигідроксиейкозотетраєнової кислоти – ЛТВ₄ або ЛТ С₄, Д₄, Е₄, які за хімічною будовою являють собою ліпідопептиди.

Джерелом утворення ЛТВ₄ є лейкоцити, які у великій кількості знаходяться у вогнищі запалення (нейтрофіли, еозинофіли). Ці ЛТ являють собою високоактивні медіатори запалення локальної дії, які викликають накопичення лейкоцитів, порушення мікроциркуляції та зростання проникності судин у вогнищі запалення. Окрім ексудативної дії, ЛТВ₄ проявляють суттєву агрегаційну та хемотоксичну активність. Встановлено також, що арахідонова кислота і ЛТВ₄ підсилюють вихід лізоциму з лейкоцитів.

Новий вітчизняний лікарський засіб "Мігрепін" (МГП) було вивчено нами раніше. Встановлено, що він проявляє антиексудативну протизапальну активність на моделі "формалінового набряку" [1].

Метою роботи було визначити можливість антиліпоксигеназного компонента в механізмі антиексудативної дії МГП.

Методом роботи було визначити можливість антиліпоксигеназного компонента в механізмі антиексудативної дії МГП.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для визначення антиліпоксигеназного компонента в механізмі антиексудативної дії МГП використано модель асептичного ексудативного зимозанового запалення в щурів. Зимозан сприяє утворенню і виділенню ЛТ, тому провокує локальну гостру запальну реакцію. Його вводили субплантарно з розрахунку 0,1 мл на тварину у вигляді 2 % суспензії (Sigma).

Досліди проведено на 36 щурах лінії WAG масою 180-220 г, яких було поділено на 6 груп по 6 тварин у кожній: 1-ша група (інтактний контроль) – тварини, які одержували 3 % крохмальний слиз (2 мл на 200 г); 2-га (група "запалення") – неліковані тварини, які також отримували 3 % крохмальний слиз у тому ж об'ємі, але за умов зимозанового набряку; 3-тя – тварини, які одержували МГП у дозі

12,5 мг/кг; 4-6 – тварин, які отримували препарати порівняння: нордигідрогваяретову кислоту (НДГК) у дозі 400 мг/кг [3] (4-та група), інгібітор ліпази дексаметазон у дозі 0,06 мг/кг (дозу перераховано за допомогою коефіцієнта видової стійкості Ю.Р. Риболовлева, виходячи з доз для людини) [5] (5-та), диклофенак-натрію (D-Na) в дозі 8 мг/кг [3] (6-та). Усім щурам дослідні препарати було введено внутрішньошлунково одноразово у вигляді 0,01-1 % завису на 3 % крохмальному слизу.

Вміст ЛТВ₄ у сироватці крові, гомогенатах слизової оболонки шлунка та головного мозку визначали імуноферментним методом за допомогою комерційного набору виробництва фірми "NEOGEN" (США/Канада) на імуноферментному аналізаторі "Лаблайн-90" (Австрія). Для гомогенізації тканин використовували 96 % етиловий спирт (1 частина тканини на 5 частин етилового спирту).

Усі досліді виконано відповідно до існуючих рекомендацій [3]. Щурів утримували в умовах віварію згідно з правилами гуманного ставлення до лабораторних тварин. Усі втручання проводили з дотриманням принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів [5].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В інтактних щурів вміст ЛТВ₄ складав у слизовій оболонці шлунка (0,30±0,02) нг/мг, в головному мозку – (0,60±0,04) нг/мг, в сироватці крові – (1,40±0,22) нг/мг (рис. 1).

Розвиток запалення, яке викликали шляхом застосування зимозану, супроводжувався багатократним (у 3-6 разів) підвищенням рівня ЛТВ₄ порівняно з інтактними щурами. У сироватці крові це підвищення досягало 654 %, у слизовій оболонці шлунка – 297 %, у тканинах головного мозку – 603 %. Рівень ЛТВ₄ складав, відповідно, (9,15±1,06), (0,89±0,07), (3,62±0,41) нг/м у досліджуваних об'єктах.

МГП викликав вірогідне зниження рівня ЛТВ₄ в усіх тканинах, які досліджували. І хоча показники в цій групі суттєво перевищували параметри в інтактних тварин, вони були вірогідно статистично нижчими, ніж у групі "запалення". Так, у сироватці крові й тканинах головного мозку рівень ЛТВ₄ був меншим, ніж у групі "запалення", у 2,5 раза, а в слизовій оболонці шлунка – у 2 рази. Вміст ЛТВ₄ складав у

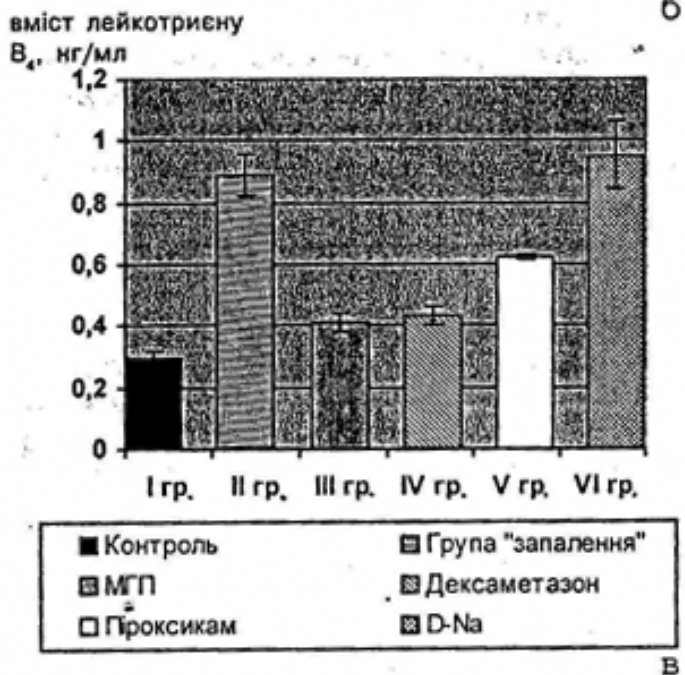
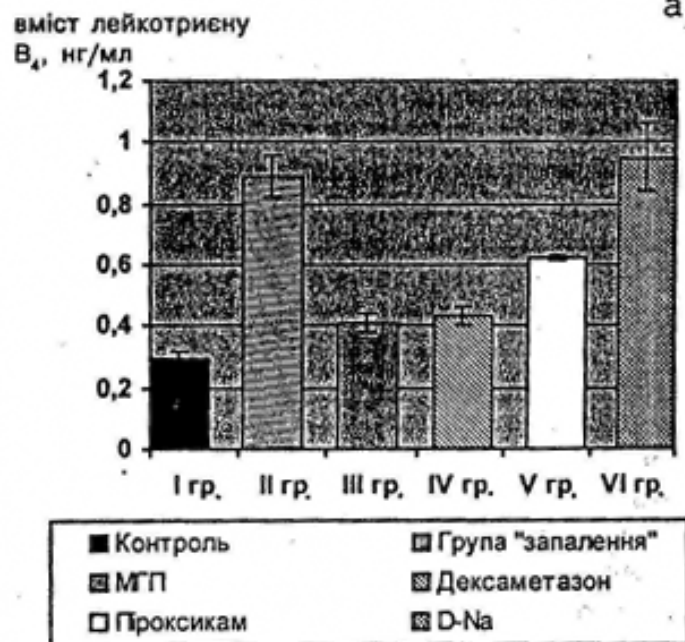
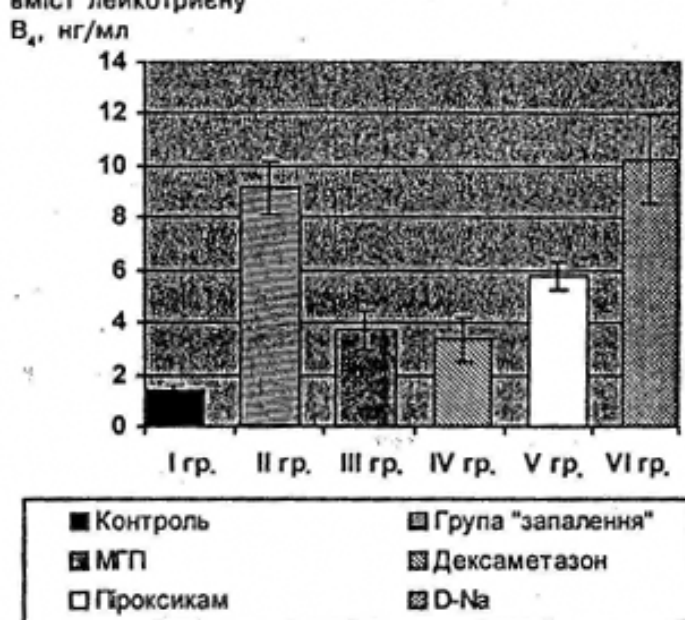


Рис. 1. Вміст лейкотриєнів B₄ у сироватці крові (а), слизовій оболонці шлунка (б) і головному мозку (в) при застосуванні мігрєпіну та препаратів порівняння за умов зимозанового набряку.

оболонці шлунка – (0,41±0,03) нг/мг, а в головному мозку – (1,47±0,07) нг/мг.

Аналогічними з групою МГП були й показники вмісту ЛТВ₄ у щурів, яким вводили НДГК. Остання пригнічує активність 5-ліпоксигенази та утворення ЛТ. У тварин цієї групи спостерігалось 2-2,5-кратне зниження показників порівняно з групою "запалення". Вміст ЛТВ₄ складав у сироватці крові (3,35±0,86) нг/мл, у слизовій оболонці шлунка – (0,43±0,03) нг/мг, а в головному мозку – (1,26±0,11) нг/мг.

Використання дексаметазону також пригнічувало перетворення арахідонової кислоти в ЛТВ₄, хоча ефективність застосування цього препарату була вірогідно нижчою, ніж у групах, де використовували МГП і НДГК. Вміст ЛТВ₄ складав у сироватці крові (5,81±0,55) нг/мл, у слизовій оболонці шлунка – (0,62±0,01) нг/мг, а в головному мозку – (2,53±0,24) нг/мг.

Незважаючи на те, що рівень ЛТВ₄ у групах, де використовували МГП та НДГК, залишався вірогідно вищим норми (в середньому на 165 та 139 % відповідно), він був найнижчим з усіх дослідних груп. Це свідчило про те, що МГП пригнічував ліпоксигеназний шлях перебудови арахідонової кислоти і, таким чином, суттєво знижував утворення ЛТВ₄ в тканинах організму при розвитку запалення (рис. 1).

Використання D-Na не призводило до сповільнення продукування ЛТВ₄. Навпаки, його введення викликало суттєве підвищення утворення даного медіатора запалення в тканинах та значне його накопичення в сироватці крові. Вміст ЛТВ₄ складав у сироватці крові (10,26±1,68) нг/мл, у слизовій оболонці шлунка – (0,95±0,11) нг/мг, а в головному мозку – (3,84±0,64) нг/мг. Як відомо, ліпоксигеназна та циклооксигеназна системи перебудови арахідонової кислоти перебувають у конкурентній взаємодії, що впливає на рівень кінце-

реалізує свою антизапальну дію, блокуючи саме циклооксигеназний шлях розвитку запалення, тобто інгібуючи продукування ЦОГ. У результаті цього знижується синтез простагландинів, простацикліну й тромбоксанів, але ліпоксигеназна система окиснення арахідонової кислоти не підлягає яким-небудь порушенням і, як наслідок, незмінним залишається синтез ЛТ, зокрема ЛТВ₄. Це може призводити до посиленого його утворення в тканинах, а особливо у вогнищі запалення, що зумовлює його надмірне накопичення в крові.

На відміну від D-Na, препарат "Мігрелін" спричиняв блокуючу дію на ліпоксигеназний шлях розвитку запалення та, як і НДГК, суттєво пригнічував синтез ЛТВ₄ шляхом інактивації 5-ліпоксигенази.

Таким чином, отримані результати показали, що розвиток запалення, спричиненого зимозаном, призводив до 3-6-кратного підвищення продукування ЛТВ₄ в досліджуваних тканинах. Найбільшу пригнічувальну дію на утворення ЛТВ₄ проявляли МГП та НДГК. Обидва засоби у 2-2,5 рази знижували рівень ЛТВ₄ в досліджуваних тканинах порівняно з групою без лікування. Ці препарати пригнічували продукування ЛТВ₄ нейтрофілами та еозинофілами, завдяки чому, напевне, пригнічувався й ексудативний компонент гострої запальної реакції.

ВИСНОВКИ. 1. Одним із механізмів антиексудативної дії мігреліну є його здатність пригнічувати ліпоксигеназний шлях утворення медіаторів запалення.

2. Мігрелін (12,5 мг/кг одноразово внутрішньошлунково) у сироватці крові, слизовій оболонці шлунка, головному мозку пригнічує утворення ЛТВ₄ на рівні нордигідрогваяретової кислоти, що значно більше порівняно з дексаметазоном і диклофенаком-натрію.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

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. Дзяк Г.В. Нестероидные противовоспалительные препараты / Г.В. Дзяк, А.П. Викторов, Е.И. Гришина. – К.: Морион, 1999. – 122 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / за ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – 527 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. /

В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.

5. Медико-биологическая статистика / под ред. С. Гланц; пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

6. Шварц Г.Я. Современные нестероидные противовоспалительные средства / Г.Я. Шварц. – М.: Реафарм, 2002. – 40 с.

7. 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.

8. Brun J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated dyspepsia the scale of the problem / J. Brun,

9. Catella-Lawson P. Effects of specific inhibition of cyclooxygenase 2 on sodium balance thermodynamics and vasoactive eicosanoids / F. Catella-Lawson // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1999. – № 289. – P. 735-741.

10. Feuba D.A. Gastrointestinal safety and tolerability of non selective nonsteroidal antiinflammatory agents and cyclooxygenase 2 selective inhibitors / D.A. Feuba // Cleveland Clinic. J. Med. – 2002. – 69 (Suppl. 10). – P. 31-39.

11. Hawkey C.J. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: overall risk and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors / C.J. Hawkey, M.J. Langman // Gut. – 2003. – 52. – P. 600-608.

12. Inutero exposure to nonsteroidal antiinflammatory drugs: neonatal renal failure / [D. Benin, V. Fanos, L. Cuzzolin et al.] // Pediatr. Nephrol. – 2003. – № 25. – P. 211-245.

reporting reactions / E.L. Garimoldiano, G.V. Yee // Medical Products Agency. – 2000. – № 11. – P. 74-77.

14. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I. Nonsteroidal antiinflammatory drugs as their inhibitor E. Kolaczowska // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 555-578.

15. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I. Role in inflammation / E. Kolaczowska // Cell Biology. – 2002. – № 29. – P. 533-554.

16. 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.

17. Warner T.D. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic / T.D. Warner, J.A. Mitchell // FASEB J. – 2004. – 18 (7). – P. 790-804.

18. Weir M.R. Renal effects of nonselective NSAIDs and coxibs // Cleveland Clin J Med. – 2002. – 69 (Suppl. 1). – P. 53-58.

Т.В. Звягинцева, А.О. Сыровая, Л.П. Абрамова, Т.И. Ермоленко
ХАРЬКОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

АНТИЛИПОКСИГЕНАЗНЫЙ КОМПОНЕНТ В МЕХАНИЗМЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ МИГРЕПИНА

Резюме

Приведены результаты экспериментального изучения влияния мигрепина (12,5 мг/кг однократно внутривентрикулярно) и препаратов сравнения на уровень лейкотриена B₄ (ЛТВ₄) в исследуемых объектах. Исследование проведено на 36 крысах линии WAG массой 180-220 г обоего пола (по 6 животных в каждой группе) на модели "зимозанового отека". Уровень ЛТВ₄ определяли в сыворотке крови, гомогенатах слизистой оболочки желудка, тканях головного мозга иммуноферментным методом. Установлено, что мигрепин угнетает образование ЛТВ₄ в исследуемых объектах. Поэтому считаем, что в механизме действия мигрепина имеет место антилипоксигеназный компонент.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: противовоспалительное действие, зимозановый отек, липоксигеназа, мигрепин, лейкотриены.

T.V. Zvjagintseva, H.O. Syrova, L.P. Abramova, T.I. Yermolenko
KHARKIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

ANTILOPOXYGENASE COMPONENT IN THE MECHANISM OF ANTI- INFLAMMATORY ACTION OF MIGREPIN

Summary

Experimental results of studying of influence of Migrepin (12,5 mg/kg single dose, intragastric) and comparison preparations on the level of leukotriene B₄ (LTB₄) in investigated objects are submitted. Research was carried on 36 WAG-strain rats of both sexes, mass - 180-220 g (6 animals in each group) using the model of zimozan oedema. The level of LTB₄ was determined in a blood serum, a stomach mucosa, and brain tissues by means of immunoenzyme method. It is established that Migrepin inhibits LTB₄ formation in the investigated objects. Therefore we consider Migrepin to have antilipoxygenase component in the mechanism of action. As compounds having combined (anticyclooxygenase and antilipoxygenase) action are very effective in inflammatory diseases treatment, the investigation of Migrepin influence on cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 is believed to be perspective.

KEY WORDS: anti-inflammatory action, zimozan oedema, lipoxygenase, Migrepin, leukotrienes.

Отримано 16.03.10

Адреса для листування: Т.В. Звягинцева, Харківський національний медичний університет, пр-т Леніна, 4, Харків, 61022, Україна.