

УДК: 615.276:615.355:577.152.311

Вивчення антиліпоксигеназного механізму антиексудативної дії нового комбінованого протизапального засобу

Г.О. СИРОВА

/Харківський національний
медичний університет/

Резюме

**Изучение антилипоксигеназного механизма антиэкссудативного действия
нового комбинированного противовоспалительного средства**

А.О. Сирова

Приведены результаты экспериментального изучения влияния Мигрепина (МГП) (12,5 мг/кг однократно внутривентрикулярно) и препаратов сравнения на уровень лейкотриенов (ЛТВ₄) в исследуемых объектах. Исследование проведено на крысах линии WAG на модели зимозанового отека. Уровень ЛТВ₄ определяли иммуноферментным методом в сыворотке крови, тканях головного мозга и гомогенатах слизистой оболочки желудка. Установлено, что в исследуемых объектах МГП угнетал образование ЛТВ₄, что патогномично антилипоксигеназному механизму антиэкссудативного действия.

Ключевые слова: зимозановый отёк, лейкотриены, Мигрепин

Summary

**The Investigation of Antilipoxygenase Mechanism of Antiexudative Action
of new Antiinflammatory Combination Medication**

G.O.Syrova

Experimental results of studying of influence of Migrepin (12,5 mg/kg single dose, intragastric) and comparison on the level of leukotriene B₄ (LTB₄) in investigated objects are submitted. Research was carried in WAG-strain rats of both sexes 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 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: zimozan oedema, leukotrienes, Migrepin

В основі розвитку більшості захворювань різної етіології лежить процес запалення [1, 2, 6]. Його основний механізм розвитку полягає у перетворенні арахідонової кислоти, метаболізм якої може відбуватися двома шляхами – ліпоксигеназним і циклооксигеназним [11–16]. Метаболізм арахідонової кислоти за участю фермента 5-ліпоксигенази призводить до утворення лейкотриєнів (ЛТ). 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 проникливості судин у вогнищі запалення. Новий вітчизняний комбінований лікарський засіб Мигрепін (МГП), що як діючу речовину містить калієву сіль 2,4-дихлорбензойної кислоти, кофеїн і карбамазепін, було вивчено нами раніше і виявлено, що він виявляє антиексудативну дію [8, 9].

Метою дослідження було визначення антиліпоксигеназного механізму антиексудативної дії нового вітчизняного комбінованого протизапального лікарського засобу МГП в експерименті на лабораторних тваринах.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено на щурах лінії WAG, розподілених на VI груп по 6 тварин у кожній. I група – інтактний контроль – тварини, які одержували 3% крохмальний слиз 2 мл на 200 г маси щура. II група – група запалення – неліковані тварини, які одержували також 3% крохмальний слиз в тому ж об'ємі, але в умовах зимозанового набряку. III група – тварини, які одержували МГП у дозі 12,5 мг/кг (умовно ефективна) [8]. IV група – тварини, які одержували нордигідрогваяретову кислоту (НДГК) у дозі 400 мг/кг [4]. V група – тварини, які одержували дексаметазон у дозі 0,06 мг/кг [4]. VI група – тварини, що одержували піроксикам в дозі 1,3 мг/кг (доза перераховано за допомогою коефіцієнта видової стійкості Риболовлева Ю.Р., виходячи з доз для людини); VII група – тварини, що одержували диклофенак натрію (Д-На) в дозі 8 мг/кг [4]. Всім тваринам дослідні препарати вводились внутрішньошлунково одноразово у вигляді 0,01–1% завису на 3% крохмальному слизу.

Визначення вмісту ЛТВ₄ у сироватці крові, гомогенатах слизової оболонки шлунка та головного мозку проводили імуноферментним

методом за допомогою комерційного набору виробництва фірми NEOGEN (США/Канада) на імуноферментному аналізаторі «Лаблайн-90» (Австрія). Для гомогенізації тканин використовували 96% етиловий спирт (1:5).

З метою визначення антиліпоксигеназного механізму дії використано модель асептичного ексудативного зимозанового запалення у щурів у зв'язку з тим, що 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). Об'єм стоп вимірювали онкометром за О.С. Захаревським до і через 0,5, 1, 2, 3 години після введення флогогену.

Всі досліди виконано згідно з існуючими рекомендаціями [4–5]. Щури утримувалися в умовах віварію відповідно до правил 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) [10]. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням загальноприйнятих методів [3].

Результати та їх обговорення

При введенні МГП спостерігався антиексудативний ефект на рівні НДГК (протягом 1 та 2 годин спостереження) і дексаметазону (протягом 1, 2 та 3 годин спостереження) (табл. 1). D-Na

Таблиця 1. Вивчення антиліпоксигеназного механізму антиексудативної дії Мігрепіну на моделі зимозанового набряку у щурів

Умови дослід	Антиексудативна активність, %				
	0,5 год	1 год	2 год	3 год	6 год
МГП, 12,5 мг/кг	22,1	47,4	57,9	44,2	38,9
НДГК, 400 мг/кг	38,9	49,5	56,8	52,6	44,2
Дексаметазон, 0,06 мг/кг	26,3	51,5	57,9	44,2	46,3
Піроксикам, 1,3 мг/кг	21,2	23,8	28,2	29,4	27,4
D-Na, 8 мг/кг	24,2	28,4	36,8	30,5	28,4

Таблиця 2. Зміни вмісту лейкотриєну B_4 у щурів на моделі зимозанового набряку

Умови дослід	Сироватка крові, нг/мл	Слизові оболонки шлунка, нг/мл	Головний мозок, нг/мл
Інтактні	1,40±0,22	0,30±0,02	0,60±0,04
Запалення	9,15±1,06*	0,89±0,02*	3,62±0,41*
МГП	3,71±0,74*,†	0,41±0,03*,†	1,47±0,07*,†
НДГК	3,35±0,86*,†	0,43±0,03*,†	1,26±0,11*,†
Дексаметазон	5,81±0,55*,†,‡	0,62±0,008*,†,‡	2,53±0,24*,†,‡
Піроксикам	9,75±2,48*,†	0,93±0,13*,†	3,67±0,43*,†
D-Na	10,26±1,68*,†	0,95±0,11*,†	3,84±0,64*,†

Примітки: * – різниця статистично вірогідна відносно інтактної групи; † – різниця статистично вірогідна відносно групи запалення; ‡ – різниця статистично вірогідна відносно групи МГП.

і піроксикам виявили незначну антиліпоксигеназну активність, що пов'язано з їх механізмом дії (значне пригнічення циклооксигенази і незначне пригнічення ліпоксигенази).

Значна антиексудативна дія МГП на моделі зимозанового набряку свідчить про наявність антиліпоксигеназного компоненту у механізмі його антиексудативної активності. Максимальна антиексудативна ефективність під впливом МГП відмічалася через 2 години після його введення.

Визначення антиліпоксигеназного компоненту в механізмі антиексудативної дії МГП було проведено за вмістом ЛТВ₄ на моделі зимозанового набряку у щурів.

Згідно з отриманими даними (табл. 2), найменший вміст ЛТВ₄ у інтактних щурів визначався у слизовій оболонці шлунка. В тканинах головного мозку рівень цієї сполуки був у 2 рази вищим, а найвищі показники були характерними для сироватки крові.

Розвиток запалення, яке викликали застосуванням зимозану, супроводжувався підвищенням у 3–6 разів рівня ЛТВ₄ у порівнянні з інтактними щурами. Застосування різних препаратів, які гальмують або перешкоджають розвитку запалення, викликало певні зміни в картині накопичення даного медіатора у тканинах. МГП викликав вірогідне зниження рівня ЛТВ₄ у досліджуваних тканинах. І хоча показники в цій групі суттєво перевищували параметри у інтактних тварин, вони були нижчими, ніж у групі запалення у 2–2,5 разу. Зіставними з групою МГП були і показники у щурів, яким вводили НДГК, яка, як відомо, інгібує активність 5-ліпоксигенази та пригнічує утворення ЛТ. У тварин цієї групи спостерігалось зниження у 2–2,5 разу показників у порівнянні з тваринами групи нелікованого контролю. Застосування як протизапального засобу гормонального препарату дексаметазону також пригнічувало перетворення арахідонової кислоти в ЛТВ₄, хоча ефективність цього препарату була вірогідно нижче, ніж у групах з використанням МГП і НДГК. У групах щурів, де як препарати порівняння застосовували піроксикам та D-Na, не спостерігалось пригнічення утворення ЛТВ₄ (див. табл. 2). Рівень досліджуваної речовини практично збігався з показниками у групі нелікованого контролю.

Таким чином, отримані результати свідчать, що розвиток запалення, спричиненого зимозаном, призводив до 3–6-разового підвищення продукції ЛТВ₄ у досліджуваних тканинах. Застосування протизапальних засобів викликало неоднакові зміни рівня даної сполуки у тканинах організму. Так, найбільшу пригнічувальну дію на утворення ЛТВ₄ виявляли препарат, що вивчався, – МГП та НДГК. Застосування обох цих засобів у 2–2,5 разу знижувало рівень ЛТВ₄ в дослідних тканинах у порівнянні з групою запалення. Ці препарати пригнічували продукцію ЛТВ₄ нейтрофілами та еозинофілами, завдяки чому, напевне, пригнічувався ексудативний компонент гострої запальної реакції.

Незважаючи на те, що цей показник у групах із використанням МГП та НДГК залишався вірогідно вище норми (в середньому на 165 та 139% відповідно), водночас його рівень був найбільш низьким з усіх груп, що вивчалися. Це свідчить про те, що препарат МГП пригнічував ліпоксигеназний шлях перетворень арахідонової кислоти, і таким чином суттєво знижував утворення ЛТВ₄ в тканинах організму при розвитку запалення.

Введення МГП (12,5 мг/кг) одноразово внутрішньошлунково викликало пригнічення утворення ЛТВ₄ нейтрофілами та еозинофілами у сироватці крові, слизовій оболонці шлунка та тканинах головного мозку, завдяки чому відбувалось пригнічення і ексудативного компоненту гострої запальної реакції.

Висновки

В механізмі антиексудативної дії МГП має місце антиліпоксигеназний компонент, що підтверджено біохімічними дослідженнями визначення ЛТВ₄ у сироватці крові, слизовій оболонці шлунка та тканинах головного мозку.

Список використаної літератури

1. Богачик О. Анализ фармацевтического рынка нестероидных противовоспалительных средств и анальгетиков-антипиретиков в Украине / О. Богачик, Н. Светличная // Провизор. – 1998. – № 5. – 18 с.
2. Виктор А. П. Безопасность современных нестероидных противовоспалительных препаратов: между сциллой и харибдой? / А.П. Виктор // Укр. ревматол. журн. – 2002. – № 4(10). – С. 12–22.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О.В. Стефанова. – К., 2001. – 527 с.
5. Колб В. Т. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования / В.Т. Колб, В.С. Камышников. – М.: Медицина, 1968. – С. 35–36.
6. Лоуренс Д.Р. Воспаление и нестероидные противовоспалительные средства / Д. Р. Лоуренс, П. Н. Беннит // Клиническая фармакология: рук. / пер. с англ. – М.: Медицина, 1991. – Т. 1. – С. 485–523.
7. Мамчур В. Й. Патологічний стан головного мозку змінює антиноцицептивну дію ненаркотичних анальгетиків / В. Й. Мамчур, В. І. Опришко, В. І. Жилук // Ліки. – 2000. – № 1 – 2. – С. 13–16.
8. Сирова Г. О. Експериментальне вивчення протизапальної дії препарату «Мігрепін» / Г. О. Сирова // Український біофармацевтичний журнал. – 2009. – № 4(4). – С. 35–38.
9. Сирова Г. О. Експериментальне обґрунтування дозозалежної антиексудативної дії нового нестероїдного протизапального лікарського засобу / Г. О. Сирова // Клінічна фармація. – 2010. – Т. 14, № 1. – С. 52–54.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Council of European. – Strasbourg, 1986. – №123. – 51 p.
11. Hawkey C.J. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: overall risk and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pumpinhibitors / C.J. Hawkey, M.J. Langman // Gut. – 2003. – Vol. 52. – P. 600–808.
12. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I. Role in inflammation // Cell Biology. – 2002. – N29. – P. 533–554.
13. Kolaczowska E. Cyclooxygenases I Nonsteriodae antiinflammatory drugs as ther inhibitor // Cell Biology. – 2002. – N29. – P. 555–578.
14. Vane J.R. Cyclooxygenases I and II / J.R. Vane, Y.S. Bakhle, R.M. Botting // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. – 1998. – N38. – P. 97–120.
15. Warner T.D. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors. and lessons from the clinic / T.D. Warner, J.A. Mitchell // FASEB J. – 2004, May. – Vol. 18 (7). – P. 790–804.
16. Weir M.R. Renal effects of nonselective NSAIDs and coxibs // Cleveland Clin J Med. – 2002. – Vol. 69 (Suppl. 1). – P. S1 53–58.