

УДК: 615.212:612.017

О.М. Поета,
В.Й. Мамчур

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ІМУНОТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ, МЕЛОКСИКАМУ ТА ЦЕЛЕКОКСИБУ

Дніпропетровська державна медична академія
кафедра фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки
(зав. - д.мед.н., проф. В.Й. Мамчур)

Ключові слова: імунотропна активність, НПЗЗ, миші, гуморальний та специфічний імунітет
Key words: immunotroic activity, NSAIDs, mice, humoral and specific immunity

Резюме. Проведено експериментальне сравнительное исследование иммунотропной активности ингибиторов ЦОГ-2 мелоксикама, целекоксиба и диклофенака натрия. Изучены факторы, принимающие участие в специфическом иммунитете: проведена оценка влияния препаратов на массу и клеточность лимфоидных органов, а также на гуморальный иммунитет (определение титра гемагглютининов, гемолизина и количества антителообразующих клеток селезенки у белых нелинейных мышей). Показано, что с возрастанием селективности препаратов уменьшается их депримирующее влияние на гуморальный и специфический иммунитет. Однако при этом увеличение дозы НПВС приводит к усилению оказываемого ими иммунодепрессивного эффекта.

Summary. Experimental comparative investigation of immunotropic activity of meloxicam, celecoxib and diclofenaci natrii which are COX-2 inhibitors was carried out. The factors taking part in the specific immunity were studied; an assessment of agents impact on the mass, number of cells in lymphoid organs, as well as their impact on humoral immunity (defining of hemagglutinines titre, hemolysines and number of antibody-forming cells in the spleen of white non-linear mice) was carried out. It was shown that along with the growth of selectivity of agents, their depriming impact on humoral and specific immunity falls. However, increase of NSAIDs dose leads to strengthening of immunodepressive effect, caused by NSAIDs.

Кожного дня у світі нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) приймають більш ніж 30 млн. пацієнтів, а щорічно понад 300 млн. людей. Лише 1/3 пацієнтів застосовують протизапальні засоби, придбані за рецептом; інші ж використовують безрецептурні лікарські форми НПЗЗ. Це призводить до широкого застосування цих препаратів для самолікування і робить проблему їх безпечності особливо актуальною [7,14,15]. Тому не припиняються дослідження у галузі пошуку нових, більш безпечних НПЗЗ, а також постмаркетинговий моніторинг побічних ефектів вже існуючих препаратів. Механізм дії цієї групи лікарських засобів реалізується за рахунок гальмування каскаду арахідонової кислоти шляхом інгібування ферменту ЦОГ (COX - cyclooxygenase); тим самим обмежується синтез простагландинів [13].

З позицій патогенезу запального процесу, особливостей механізму терапевтичної дії та

розвитку побічних ефектів НПЗЗ важливо те, що виділяють дві ізоформи ЦОГ: ЦОГ-1 та ЦОГ-2. Відомо, що ЦОГ-2 відіграє ключову роль в утворенні так званих «прозапальних» простагландинів, тому з її інгібуванням пов'язана основна тріада терапевтичних ефектів НПЗЗ: знеболювальна, протизапальна та жарознижувальна дія [10,13,17]. Більшість же побічних ефектів НПЗЗ пов'язані з інгібуванням ЦОГ-1, що відповідає за утворення простагландинів, які підтримують цілісність слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, нирковий кровотік та функцію тромбоцитів [12].

Важливо відмітити, що особливо високий ризик розвитку побічних ефектів спостерігається в осіб похилого та старечого віку, які становлять більш ніж 60% користувачів НПЗЗ [15] та мають вікову дисфункцію імунної системи, що супроводжується розвитком ряду патологічних процесів (атеросклероз, діабет осіб похилого

віку, остеопороз, аутоімунні захворювання тощо) [3,4,5]. Також відомо, що багато лікарських засобів можуть проявляти ненавмисну імунотоксичність (unintendant immunotoxicity) – пошкоджуюча дія препарату на імунну систему не пов'язана з його основним ефектом, що може призвести до розвитку інфекційних ускладнень та зниження резистентності організму до пухлин [1].

Із літературних джерел відомо, що НПЗЗ можуть мати помірну імуносупресорну дію, яка проявляється при їх довготривалому використанні і носить «вторинний» характер: знижуючи проникність капілярів, НПЗЗ ускладнюють контакт імунокомпетентних клітин з антигеном, а також контакт антитіл із субстратом [6,11]. Наряду з цим, НПЗЗ можуть проявляти імуномодулюючу дію, яка пов'язана зі здатністю інгібувати ЦОГ, що каталізує початковий етап біосинтезу простагландинів, здатних пригнічувати функції дозрілих Т- і В-клітин, особливо кооперацію імунокомпетентних клітин [11].

Метою нашого дослідження було вивчення впливу переважно селективного інгібітора ЦОГ-2 мелоксикаму та високоселективного інгібітора ЦОГ-2 целекоксибу на специфічний та гуморальний імунітет у порівнянні з неселективним інгібітором ЦОГ диклофенаком натрію.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Експерименти проведені на білих нелінійних статеводозрілих мишах (самцях та самицях), масою 18-24 г, котрі утримувалися на стандартному раціоні віварію ДДМА. Досліджувані препарати вводили протягом 10 діб.

Наші дослідження включали визначення впливу препаратів на масу та клітинність лімфоїдних органів, які є показниками специфічного імунітету. Тимус та селезінку виділяли на 7-й день після завершення введення препаратів, зважували та визначали коефіцієнт маси лімфоїдних органів і концентрацію мононуклеарних клітин [8].

Для оцінки рівня гуморальної імунної відповіді на 5 добу експерименту тварин імунізували одноразовим внутрішньоочеревинним введенням 3% суспензії еритроцитів барана у дозі $2 \cdot 10^8$ еритроцитів на мишу, в об'ємі 0,2 мл фізіологічного розчину. Визначення кількості антитілоутворюючих клітин (АУК) селезінки за методом Ерне та Нордіна [8] базувалося на здатності антиеритроцитарних антитіл, що продукуються антитілоутворюючими клітинами

імунізованих тварин, руйнувати в присутності комплекменту еритроцити барана, які поміщали разом з клітинами селезінки до агарозного гелю. Визначення титру гемаглютининів та гемолізінів у сироватці крові імунізованих тварин проводили стандартним методом [8], результати представлені в одиницях – \log_2 титра.

Дози досліджуваних препаратів розраховувались з використанням коефіцієнту, який визначав співвідношення між дозами лікарських засобів для людини і миші [2,3,8]. Диклофенак натрію вводили піддослідним тваринам внутрішньоочеревинно у дозах 6 і 30 мг/кг, мелоксикам та целекоксиб – внутрішньошлунково в дозах 1 і 5 мг/кг та 26 і 130 мг/кг відповідно. Контрольні групи тварин отримували відповідний розчинник (дистильовану воду та 0,9% фізіологічний розчин).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою методів параметричної статистики (Т-критерію Стьюдента) [9].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналізом та узагальненням результатів проведених нами досліджень встановлено, що введення двох рівнів доз усіх обраних НПЗЗ викликало однонаправлені, достовірні зміни більшості досліджуваних показників специфічного та гуморального імунітету у порівнянні з контрольними тваринами. Під впливом досліджуваних препаратів паралельно із зниженням гуморальної ланки імунної системи відбувалося зменшення маси тимусу, кількості лімфоїдних клітин у тимусі, а також маси селезінки та кількості лімфоїдних клітин у селезінці (табл.1). Аналіз дії препаратів на титри циркулюючих антитіл у сироватці крові мишей показав найбільшу активність диклофенаку натрію, який у дозах 6 та 30 мг/кг виявляв інгібуючий вплив на титри гуморальних антитіл: 71,6% ($p < 0,05$) та 85,3% ($p < 0,05$) на титр гемолізінів, та 71,9% ($p < 0,05$) і 81,7% ($p < 0,05$) на титр гемаглютининів. Введення мелоксикаму зумовлювало зниження титрів гемаглютининів та гемолізінів на 22,7% ($p < 0,05$) і 14,4% ($p < 0,05$) у дозі 1мг/кг, та на 33,3% ($p < 0,05$) та 30,9% ($p < 0,05$) у дозі 5мг/кг. Целекоксиб викликав достовірно значуще пригнічення титру гемолізінів на 15,5% ($p < 0,05$) лише в дозі 130 мг/кг (табл.2).

Результати дослідження впливу диклофенаку натрію, мелоксикаму та целекоксибу на кількість АУК селезінки імунізованих мишей відображені на рисунку.

Таблиця 1

Дозозалежний вплив нестероїдних протизапальних лікарських засобів на показники маси та клітинності лімфоїдних органів у білих нелінійних мишей (M±m)

Показники	Диклофенак, мг/кг			Мелоксикам, мг/кг			Целекоксиб, мг/кг		
	контроль	6	30	контроль	1	5	контроль	26	130
	n=10	n=8	n=7	n=10	n=9	n=8	n=10	n=8	n=8
Маса тимуса, мг	42,0±2,1	36,6±1,7	33,4±1,3*	38,0±3,0	35,3±1,6	34,1±1,7	40,4±2,7	36,5±1,9	34,6±1,7
Відносна маса тимуса, у.о.	2,0±0,1	1,7±0,1	1,5±0,1±*	1,5±0,1	1,5±0,1	1,4±0,1	1,9±0,1	1,6±0,1	1,5±0,1
Кількість лімфоїдних клітин в тимусі, 10 ⁶	129,5±4,5	121,5±4,6	99,5±4,0*	151,6±4,6	158,5±7,9	130,9±3,4	122,8±7,9	109,4±6,0	105,6±7,4
Маса селезінки, мг	195,9±4,1	151,8±3,9*	132,9±2,3*	225,5±8,4	182,9±6,5*	172,0±8,9*	220,5±6,2	203,5±6,8	177,9±9,9*
Відносна маса селезінки, у.о.	9,1±0,3	7,4±0,3*	5,6±0,2*	8,4±1,3	7,9±0,3*	7,3±0,5*	8,7±0,8	7,2±0,6	6,5±0,9*
Кількість лімфоїдних клітин в селезінці, 10 ⁶	184,3±7,3	141,6±6,0*	104,8±3,9*	197,1±10,0	172,5±5,0*	160,5±8,1*	210,8±16,7	184,5±9,5	162,3±8,9*

Примітки: * - вірогідно відрізняються при порівнянні з контрольною групою (p<0,05);

Отримані нами дані свідчать, що досліджувані препарати зменшують кількість АУК селезінки. Так, при 10-денному введенні диклофенаку натрію в дозах 6 та 30 мг/кг, з проведенням імунізації тварин на 5 день дослідження, кількість АУК селезінки зменшувалась у порівнянні з контролем на 66,3% (p<0,05) та 80% (p<0,05) відповідно. Під впливом мелоксикаму, у

дозах 1 та 5 мг/кг, також спостерігалось пригнічення імунної відповіді, при цьому кількість АУК селезінки знижувалась на 35,7 % (p<0,05) та 44,3% (p<0,05) відповідно. При введенні целекоксибу пригнічення антитілоутворення клітинами селезінки складало 25% (p<0,05) при введенні дози 26 мг/кг та 30,9% (p<0,05) при введенні дози 130 мг/кг.

Таблиця 2

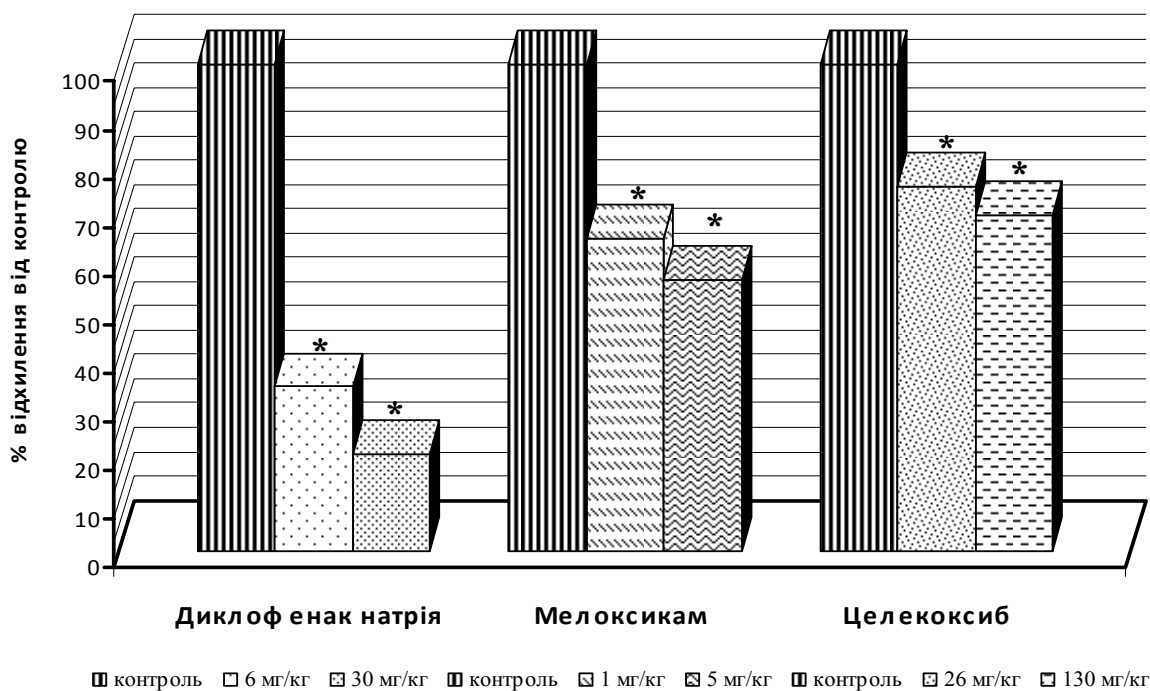
Показники стану імунної відповіді у білих нелінійних мишей під впливом нестероїдних протизапальних лікарських засобів (M±m)

Показник	Диклофенак, мг/кг			Мелоксикам, мг/кг			Целекоксиб, мг/кг		
	контроль	6	30	контроль	1	5	контроль	26	130
	n=9	n=8	n=6	n=10	n=8	n=9	n=10	n=9	n=8
Кількість лімфоїдних клітин в селезінці, 10 ⁶	186,5±5,4	130,9±5,4*	93,6±2,8*	208,9±7,3	174,5±5,3*	165,3±6,7*	195,3±21,5	149,6±2,6*	141,8±5,2*
Концентрація АУК в селезінці, 10 ⁶	288,4±10,3	408,4±23,5*	568,7±22,3*	242,4±10,5	304,3±10,9*	304,5±9,9*	275,7±30,6	334,7±5,9	355,2±12,7*
Кількість АУК в селезінці, 10 ³	116,0±2,9	39,1±1,9*	23,1±0,9*	129,8±5,7	83,4±4,2*	72,3±4,5*	120,0±5,6	90,0±3,0*	82,9±3,7*
Титр гемолізнів, log ₂	9,5±0,7	2,7±0,4*	1,4±0,3*	8,4±0,3	7,2±0,5	5,8±0,5*	8,4±0,4	7,5±0,2	7,1±0,3*
Титр гемаглютининів, log ₂	8,2±0,2	2,3±0,4*	1,5±0,2*	7,5±0,3	5,8±0,5*	5,0±0,5*	8,0±0,3	7,4±0,2	7,1±0,3

Примітки: * - вірогідно відрізняються при порівнянні з контрольною групою (p<0,05);

Результати проведеного нами дослідження підтверджують, що здатність пригнічувати гуморальний імунітет при тривалому застосуванні диклофенаку натрію, навіть у невеликих дозах, є одним з його небезпечних побічних ефектів. Однак при цьому нами встановлена імунодепресивна дія, стосовно досліджуваних ланок імунітету і у переважно- та високоселективних інгібіторів ЦОГ-2 мелоксикаму та целекоксибу, які за багатьма показниками вважаються без-

печнішими для застосування в клінічній практиці порівняно з диклофенаком натрію та індометацином. Високоселективні інгібітори ЦОГ-2 є єдиною групою НПЗЗ, які можуть використовуватись для тривалої протизапальної терапії за неревматичними показаннями [16], що, однак може призвести до пригнічення функцій імунної системи та зниження резистентності організму до патогенних чинників.



Динаміка змін кількості АУК в селезінці під впливом нестероїдних протизапальних лікарських засобів у білих нелінійних мишей

Примітка: * - вірогідно відрізняються при порівнянні з контрольною групою ($p < 0,05$);

ВИСНОВКИ

1. Зниження резистентності організму до патогенних чинників є одним з небезпечних побічних ефектів як неселективних, так і переважно- та високоселективних інгібіторів ЦОГ-2 при їх тривалому застосуванні.

2. Здатність пригнічувати гуморальний та

специфічний імунітет при тривалому застосуванні НПЗЗ зростає із збільшенням їх дози.

3. Збільшення селективності НПЗЗ супроводжується ослабленням їх пригнічувального впливу на специфічний та гуморальний імунітет.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бутенко Г.М. Иммунологические проблемы лекарственной терапии // Вісник фармакології та фармації – 2005. – №10. – С.2-5.
 2. Бутенко Г.М., Терешіна О.П., Максимов Ю.М. Доклінічне вивчення імунотоксичної дії лікарських засобів (методичні рекомендації) - К., 2000. - 19с.
 3. Вікові, статеві та генетичні особливості впливу імунотропних препаратів в експерименті /

Бутенко Г., Родніченко А., Андріанова Л. та ін. // Вісник фармакології та фармації. – 2008. – №2. – С.40-44.
 4. Влияние пептидного фактора эпифиза на возрастные изменения функций иммунной и эндокринной систем / Бутенко Г.М., Коркушко О.В., Лабунец И.Ф. и др. // Журн. АМН України.-2002.-Т.8, №3.-С.457-471.
 5. Вплив індукторів інтерферону на рівень гумо-

ральної імунної відповіді у мишей ліній BALB/C та C57/Bl/6 різного віку / Родніченко А.Є., Андріанова Л.Ф., Пішель І.М., та ін. // Імунологія та алергологія. – 2007. – №4. – С.6-10.

6. Давтян Л. Противовоспалительные «универсалы» // Ліки України. – 2005. – №5. – С. 95-97.

7. Дзяк Г.В., Викторов А.П., Гришина Е.И. Нестероидные противовоспалительные препараты. – К.: Морион, 1999. - 122 с.

8. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / Під ред. О.В.Стефанова – К.: Авіцена, 2001. - 528с.

9. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: Морион, 2001. - 408с.

10. Макаренко О.В., Мамчур В.Й. Інгібітори циклооксигенази – як зробити правильний вибір неопіоїдного анальгетика? // Вісник фармакології та фармації. – 2007. – №8. – С.48-54.

11. Современные аспекты рационального обезболивания в медицинской практике: Практ. руковод-

ство / Под.ред. Трещинского А.И., Усенко Л.В., Зупанца И.А. - К.: Морион, 2000. - 63с.

12. Шаповал О.Н. Нестероидные противовоспалительные средства: проблемы и перспективы применения в медицинской практике // Провизор. – 2004. – №12. – С.6-10.

13. Штрыголь С. Ю. Фармакологические свойства и проблемы безопасности применения нестероидных противовоспалительных препаратов - селективных и специфических ингибиторов циклооксигеназы-2 // Провизор. – 2005. – №2. – С. 37-42.

14. Шухов В.С. О нестероидных противовоспалительных средствах // Лечащий врач. – 2001. – №2. – С.48-51.

15. Щёкина Е.Г., Дроговоз С.М., Страшный В.В. НПВС - Проблемы безопасности // Провизор. – 2003. – №4. – С.8-12.

16. Harris R. Cyclooxygenase-2 (COX-2) and the inflammogenesis of cancer// Subcell Biochem. - 2007. - Vol.42. - P. 93-126.

17. Vane J.R. NSAID's. COX-2 inhibitions and the gut // Lancet - 1995.- Vol. 346. - P. 1105-1106.

