

УДК 615.276:616.72-002.772:616-092.9:616-002.2

Л.В. Яковлева, Г.Л. Литвиненко, Є.О. Ковальова
Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ВПЛИВ ПОХІДНИХ ТЕТРАМОВОЇ (VAZ-10) І КАРБОНОВОЇ (L486-0021) КИСЛОТ НА АД'ЮВАНТНИЙ АРТРИТ У ЩУРІВ

Показано позитивний вплив найбільш ефективних хімічних речовин VAZ-10, L486-0021 на ад'ювантний артрит у щурів на фоні їхнього застосування та порівняно з ксефокамом, що підтверджено нормалізацією функціонального стану суглобів і клініко-біохімічних показників. Все це свідчить про зниження інтенсивності імунзапальних процесів у сполучній тканині тварин під впливом досліджуваних похідних. За ступенем фармакологічного впливу речовина L486-0021 проявила більш виразну антиексудативну активність при лікуванні ад'ювантного артрити і перевищила активність речовини VAZ-10 в 1,3 раза та препарату порівняння Ксефокам в 1,2 раза протягом усього експерименту.

Ключові слова: нестероїдні протизапальні засоби, ревматоїдний артрит, експериментальні дослідження, ксефокам.

Протягом останніх років підвищилась увага вчених усього світу до проблеми ревматичних захворювань. Серед цих захворювань особливе місце посідає ревматоїдний артрит.

Ревматоїдний артрит – це хронічне системне сполучнотканинне захворювання з прогресуючим ураженням переважно периферичних (синовіальних) суглобів за типом ерозивно-деструктивного поліартрити [1]. За поширеністю ревматичні захворювання займають третє місце у світі після хвороб органів кровообігу і травлення і охоплюють близько 63 млн людей [2].

В Україні нараховується понад 4 млн хворих на ревматоїдний артрит [3], причому хвороба вражає переважно людей працездатного віку (20–50 років), що призводить до частой і тривалої госпіталізації, а нерідко й до інвалідизації. Жінки хворіють на ревматоїдний артрит в 3–4 рази частіше, ніж чоловіки [2].

Незамінними засобами фармакотерапії суглобового синдрому залишаються нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) [4]. Систематичний і нерідко безконтрольний прийом цих препаратів стає причиною важ-

ких ускладнень, які підвищують летальність пацієнтів з суглобовими захворюваннями.

За даними Державного фармакологічного центру МОЗ України, для усунення запалення і болю при ревматоїдному артриті рекомендований відносно новий представник групи лорноксикамів – ксефокам, як потужний інгібітор ізоферментів ЦОГ-1 та ЦОГ-2. Ксефокам зарекомендував себе як лікарський засіб з високою аналгетичною активністю і відносно низькою токсичністю у пацієнтів з ревматичними захворюваннями. Пригнічувальна дія його на синтез оксиду азоту більш виражена, ніж диклофенаку, піроксикаму, напроксену, ібупрофену та кеторолаку. Ксефокам локально блокує синтез простагландинів у таламічних центрах болю, стимулює вироблення ендогенного динорфіну й ендорфіну, що приводить до фізіологічної активації антиноцицептивної системи [5, 6]. Ксефокам здатний проникати в синовіальну рідину колінних суглобів при ревматоїдному артриті й остеоартриті та тривалий час зберігати свою активність [7, 8].

Метою дослідження було вивчити терапевтичну ефективність речовин VAZ-10,

© Л.В. Яковлева, Г.Л. Литвиненко, Є.О. Ковальова, 2012

L486-0021, які проявили більш виразні протизапальні, анальгетичні, репаративні та інші властивості в попередніх дослідженнях, та оцінити їх вплив на перебіг експериментального ад'ювантного артриту у щурів.

Матеріал і методи. Досліди проведено на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 200–220 г, яких утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ. Під час експерименту тварини знаходилися в кімнаті при $t=20-25$ °С, вологості не більше 55 %, природному світловому режимі день–ніч [9]. Дослідження проведені з дотриманням «Положень Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986).

Найбільш поширеною в фармакології адекватною моделлю, що характеризує ураження сполучнотканинних структур, є модель експериментального ад'ювантного артриту, яку відтворювали за даними А.С. Саратикова та А.І. Венгерівського [10].

Усіх тварин було розподілено на п'ять груп по 7 щурів у кожній: 1-ша – інтактний контроль (ІК); 2-га – контрольна патологія (КП) – тварини, яким на тлі патології вводили дистильовану воду в дозі 1 мл/100 г; 3-тя – тварини, яким на тлі патології вводили речовину VAZ-10 у дозі 14 мг/кг; 4-та – тварини, яким на тлі патології вводили речовину L486-0021 у дозі 10 мг/кг; 5-та група – тварини, яким на тлі патології вводили препарат порівняння Ксефокам у дозі 0,3 мг/кг. Доза для препарату порівняння була перерахована з добової дози для людини з використанням коефіцієнта видової стійкості за методом Ю.П. Риболовлева [11].

В 1-й день експерименту у щурів відтворювали аутоімунний артрит введенням у субплантарний апоневроз правої задньої кінцівки 0,1 мл повного ад'юванту Фрейнда, що містить 1 мл ланоліну, 3 мл вазелінової олії, 4 мг вбитої вакцини БЦЖ, 50 мкл твін-80 та 0,5 мл 0,9%-вого ізотонічного розчину NaCl. Починаючи з 1-го дня експерименту і впродовж чотирьох тижнів усі тварини отримували досліджувані речовини щодня внутрішньоплантарно 1 раз на добу у вигляді водних суспензій. Оцінювали стан стопи і колінного суглоба, які вимірювали в динаміці протягом усього періоду дослідження за допомо-

гою механічного онкометра за А.С. Захаревським [12].

Антиексудативну активність (А) препаратів оцінювали за здатністю зменшувати набряк ураженої стопи у дослідних тварин порівняно з контрольними за формулою

$$A = \frac{(\Delta V_{\text{кп}} - \Delta V_{\text{д}})}{\Delta V_{\text{к}}} \times 100\%,$$

де $\Delta V_{\text{кп}}$ і $\Delta V_{\text{д}}$ – середня різниця в об'ємі набряклої і ненабряклої стопи в групі контрольної патології та в дослідній групі.

Для оцінки терапевтичної дії досліджуваних речовин і препарату порівняння за умов ад'ювантного артриту вивчали гематологічні та біохімічні показники крові двічі протягом досліджу: на 14-ту добу (момент генералізованого артриту) і на 30-ту (наприкінці досліджу).

Одержані дані обробили методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера–Стьюдента [13].

Результати та їх обговорення. Після субплантарного введення ад'юванту Фрейнда у всіх щурів спостерігали місцеву запальну реакцію: швидкий розвиток гіперемії і набряку ураженої кінцівки. В групі контрольної патології максимальний набряк розвивався на 3-тю добу експерименту, на 5-ту–10-ту добу спостерігалось поступове зменшення симптомів гострого запалення (рис. 1). На 14-ту–21-шу добу відбулося значне повторне підсилення запалення. У більшості тварин групи контрольної патології з 14-ї по 30-ту добу дослідження з'являлися ознаки генералізованого артриту, що проявлялося ураженням другої лапи. Повторне збільшення явищ ексудації у тварин свідчить про системний імунологічний характер захворювання.

У тварин, які отримували лікування, пік запалення в ураженій кінцівці розвивався на 3-тю добу, з 4-ї по 14-ту добу спостерігали поступове зниження ексудативної реакції в ураженій лапі. Загострення запальної реакції спостерігали з 17-ї по 25-ту добу, а з 26-ї по 30-ту добу спостерігали зниження запальної реакції в ураженій кінцівці щурів дослідних груп, на відміну від щурів контрольної групи (рис. 1).

Отримані результати лікування тварин показали, що під впливом похідного L486-0021 з 3-ї по 30-ту добу експерименту об'єм ура-

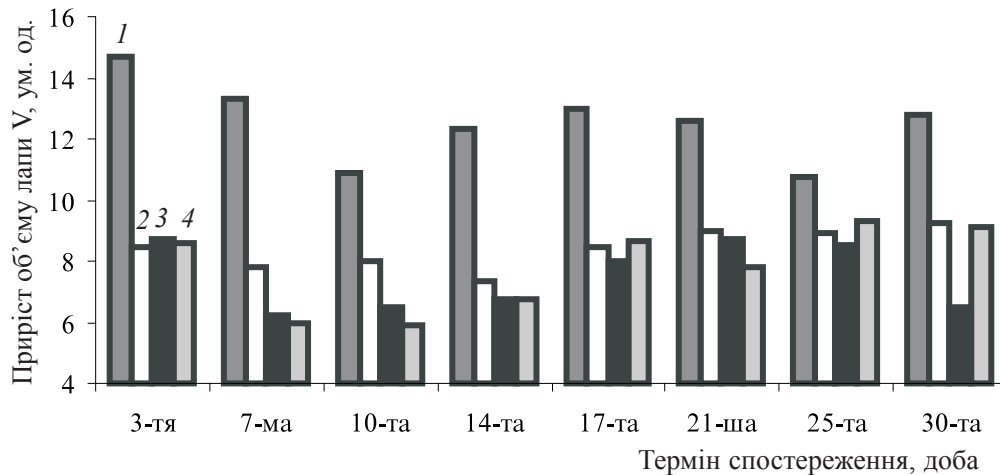


Рис. 1. Динаміка ексудативної реакції в ушкодженій кінцівці на моделі ад'ювантного артриту у щурів контрольної патології (1), яким вводили VAZ-10 (2), L486-0021 (3) та ксефокам (4)

женої кінцівки був статистично значуще нижчим відносно об'єму ураженої кінцівки тварин групи контрольної патології та похідного VAZ-10. У середньому антиексудативна активність похідного L486-0021 становила 39,8 %, що було більше за рівень середньої активності похідного VAZ-10 (31,9 %) і препарату порівняння Ксефокам (37,4 %), рис. 2.

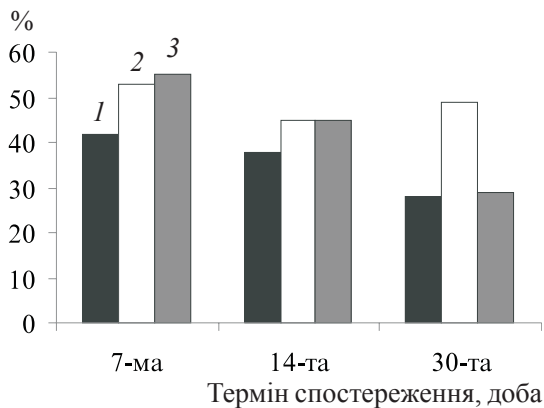


Рис. 2. Антиексудативна активність речовин VAZ-10 (1), L486-0021 (2) та препарату порівняння Ксефокам (3) на моделі ад'ювантного артриту

Згідно з отриманими результатами у щурів групи контрольної патології перебіг ад'ювантного артриту на 14-ту добу експерименту супроводжувався розвитком системного запалення, про що свідчило статистично значуще збільшення кількості лейкоцитів, підвищення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ), зниження часу зсідання крові порівняно з показниками групи інтактного контролю (рис. 3, а). Динаміка показників під впливом дослідних

речовин і препарату порівняння вказує на значне поліпшення реологічних властивостей крові, що свідчить про їх ефективність на цій моделі.

На 28-му добу експерименту у щурів групи контрольної патології відмічалась виразність інтенсивності патологічного процесу, що свідчило про збільшення кількості лейкоцитів та ШОЕ (рис. 3, б). Показник часу зсідання крові у щурів групи контрольної патології залишився на рівні попереднього терміну дослідження і був достовірно нижчим за рівень у щурів групи інтактного контролю. Наведена динаміка показників підтверджує відтворення ад'ювантного артриту, який відповідає такому захворюванню у людини, як ревматоїдний артрит [14]. Оскільки ревматоїдний артрит є хронічним системним захворюванням, його фармакотерапія повинна бути комплексною і спрямованою на пригнічення імунного компонента патологічного процесу [4]. Застосування похідного L486-0021 і препарату порівняння Ксефокам було спрямовано на пригнічення запалення і болю, а також сприяло нормалізації гематологічних і реологічних показників до рівня таких у групі інтактних щурів, що й спостерігали у даному дослідженні.

Дослідження біохімічних показників крові на моделі ад'ювантного артриту показало, що у сироватці крові тварин групи контрольної патології на 14-ту добу експерименту відмічено статистично значуще збільшення порівняно з інтактними тваринами показника інтенсивності запального процесу – лужної

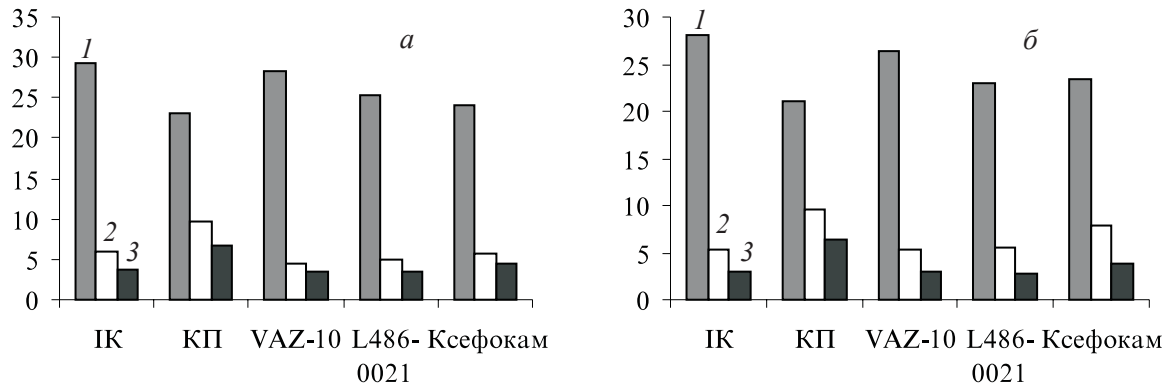


Рис. 3. Динаміка гематологічних показників крові на 14-ту (а) та 28-му (б) добу у щурів на моделі ад'ювантного артриту під впливом VAZ-10, L486-0021 та препарату порівняння Ксефокам: 1 – час зсідання крові; 2 – лейкоцити, $10^9/l$; 3 – ШОЕ, мм/г. $p \leq 0,05$; * достовірно у порівнянні з групою інтактного контролю; # у порівнянні з групою контрольної патології

фосфатази та показника деструкції сполучної тканини – сіалових кислот (рис. 4, а).

На 30-ту добу дослідження у сироватці крові тварин групи контрольної патології вміст сіалових кислот і активність лужної фосфатази статистично значуще перевищували такі інтактних щурів (рис. 4, б). Розвиток ад'ювантного артриту супроводжувався не тільки місцевими проявами запальної реакції, а й мав системний характер, про що свідчать мембранодеструктивні процеси сполучної тканини, які підтверджуються статистично значущим підвищенням рівня загального білка.

відрізнялась від показників у нелікованих тварин. Рівень сіалових кислот статистично значуще відрізнявся від такого у тварин контрольної патології, а рівень лужної фосфатази був таким, як у інтактних тварин.

На 30-ту добу дослідження в групах тварин, які отримували похідні L486-0021, VAZ-10 і препарат порівняння Ксефокам, спостерігали позитивну динаміку біохімічних показників у сироватці крові. Під впливом препаратів статистично значуще щодо контрольної патології знижувався рівень лужної фосфатази і сіалових кислот. Як свідчать отримані

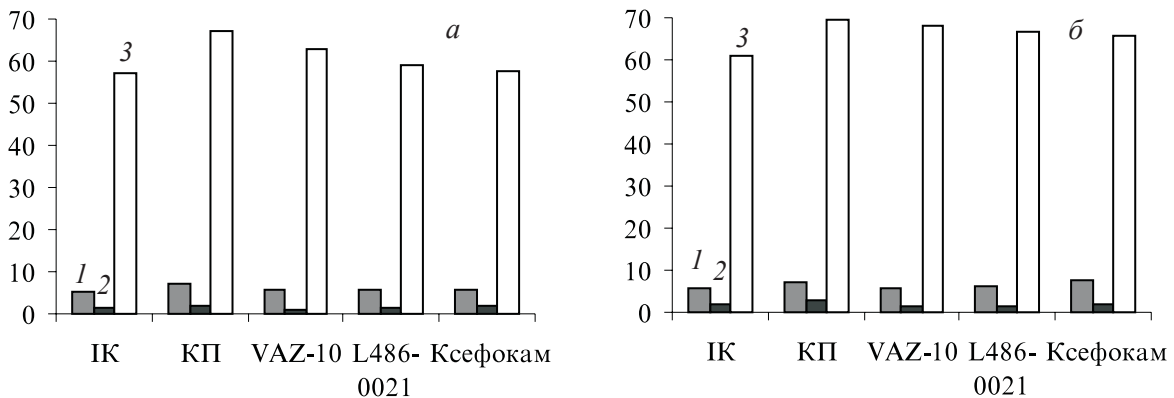


Рис. 4. Динаміка біохімічних показників на 14-ту (а) та 30-ту (б) добу в сироватці крові щурів на моделі ад'ювантного артриту під впливом VAZ-10, L486-0021 та препарату порівняння Ксефокам: 1 – сіалові кислоти, ммоль/л; 2 – лужна фосфатаза, кмоль/(с.л); 3 – загальний білок, г/л. $p \leq 0,05$; * достовірно у порівнянні з групою інтактного контролю; # у порівнянні з групою контрольної патології

В групах тварин, які отримували похідні L486-0021, VAZ-10 і препарат порівняння Ксефокам, динаміка біохімічних показників у сироватці крові на 14-ту добу експерименту

дані, речовина L486-0021 не поступалася за ефективністю препарату порівняння.

Таким чином, за результатами проведених клінічних і біохімічних досліджень

доведено, що похідні L486-0021 та VAZ-10 сприяли пригніченню аутоімунного процесу у тварин.

Висновки

За умов модельної патології ад'ювантного артриту досліджувані похідні L486-0021 та VAZ-10 і препарат порівняння Ксефокам сприяли покращенню загального стану тва-

рин, зменшенню місцевої реакції, нормалізували гематологічні та біохімічні показники. Речовина L486-0021 проявила більш виразну антиексудативну активність при лікуванні ад'ювантного артриту і перевищила активність речовини VAZ-10 в 1,3 раза та препарату порівняння Ксефокам в 1,2 раза протягом усього експерименту.

Список літератури

1. Насонова В. А. Клиническая ревматология / В. А. Насонова, М. Г. Астапенко. – М. : Медицина, 1989. – 592 с.
2. Ревматичні хвороби в Україні: сучасний стан проблеми і надання медичної допомоги та шляхи покращення (аналітично-статистичний довідник) / В. М. Коваленко, В. М. Корнацький, Н. М. Шуба, О. П. Борткевич. – К. : Віпол, 2002. – 42 с.
3. Новые методы базисной терапии ревматоидного артрита в эксперименте / В. К. Гринь, А. М. Гнилорыбов, О. В. Синяченко [и др.]. – Донецк : Каштан, 2005. – 130 с.
4. Насонов Е. Л. Нестероидные противовоспалительные препараты при ревматических заболеваниях / Е. Л. Насонов. – М. : РМЖ, 2001. – Т. 7–8. – С. 265–270.
5. The analgesic NSAID lornoxicam inhibits cyclooxygenase (COX) 1/2, inducible nitric oxid synthase (INOS), and the formation of interleukin (IL)-6 in vitro / I. Berg, H. Fellier, T. Christoph [et al.] // *Inflam. Res.* – 1999. – Vol. 48. – P. 369–379.
6. Лорноксикам. Новый обезболивающий и противовоспалительный препарат. Монография по продукту. – Никомед Фарма. JPbureau, 1998.
7. Proceedings of round table on lornoxicam. – Vienna, 1998.
8. *Staubstrup H.* Abstract, 8th World Congress on Pain, IASP. – Vancouver, August. – 1996.
9. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший нац. конгрес з біоетики, м. Київ, 2001 // *Ендокринологія.* – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142–145.
10. Саратиков А. С. Адьювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия) / А. С. Саратиков, А. И. Венгеровский, Т. П. Прищеп. – Томск : Изд-во Томск. ун-та, 1983. – 102 с.
11. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // *Доклады АН СССР.* – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
12. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О. В. Стефанов, Н. В. Літвінова, М. А. Філо-ненко-Патрушева [та ін.]. – К. : Авіценна, 2001. – С. 292–306.
13. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2001. – 320 с.
14. Ранний ревматоидный артрит: вопросы дифференциальной диагностики / А. А. Мура-дянц, Н. А. Шостак, Т. К. Логинова [и др.]. – М. : Врач, 2004. – Т. 4. – С. 37–39.

Л.В. Яковлева, А.Л. Литвиненко, Е.А. Ковалёва

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ТЕТРАМОВОЙ (VAZ-10) И КАРБОНОВОЙ (L486-0021) КИСЛОТ НА АДЬЮВАНТНЫЙ АРТРИТ У КРЫС

Показано положительное влияние наиболее эффективных производных химических веществ VAZ-10, L486-0021 на адьювантный артрит у крыс на фоне их лечебного применения и по сравнению с ксефокамом, что подтверждено нормализацией функционального состояния суставов и клинико-биохимических показателей. Всё это свидетельствует о снижении интенсивности аутоиммунных процессов в соединительной ткани животных под влиянием исследуемых производных. По степени фармакологического воздействия вещество L486-0021 проявило более выразительную антиэкзудативную активность при лечении адьювантного артрита и превысило активность вещества VAZ-10 в 1,3 раза и препарата сравнения Ксефокам в 1,2 раза в течение всего эксперимента.

Ключевые слова: нестероидные противовоспалительные препараты, ревматоидный артрит, экспериментальные исследования, ксефокам.

L.V. Yakovleva, G.L. Litvinenko, E.A. Kovaleva

INFLUENCE OF DERIVATIVES TETRAMOVOY (VAZ-10) AND CARBOXYLIC (L486-0021) ACIDS ON THE ADJUVANT ARTHRITIS IN RATS

The positive effect of the most effective derivatives of a cipher VAZ-10, L486-0021 on adjuvant arthritis in rats on the background of its therapeutic use and in comparison with Ksefokam, which is confirmed by the normalization of the functional state of the joints and the clinical and biochemical parameters. All this indicates a decline in the intensity of the autoimmune processes in the connective tissue of animals under the influence of the investigated derivatives. According to the degree of the pharmacological effects the substance L486-0021 showed more expressive antiexudative activity in the treatment of adjuvant arthritis and exceeded the activity of the substance VAZ-10 at 1.3 times the reference drug Ksefokam – 1.2 times during the experiment.

Key words: non-steroidal anti-inflammatory drugs, rheumatoid arthritis, experimental studies, Ksefokam.

Поступила 21.05.12