

ВЛИЯНИЕ АНТИГИПОКСАНТОВ НА РАЗВИТИЕ ОСТРОГО ФОРМАЛИНОВОГО ОТЕКА

УДК 615.015.21:615.276

© В. Е. Новиков, Е. В. Пожилова, С. А. Илюхин

ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» МЗ РФ, Смоленск

Ключевые слова:

амтизол; гесперидин; гипоксен; метапрот; острое воспаление.

Резюме

В эксперименте на модели острого формалин-индуцированного воспаления лапы крыс регистрировали изменения объема пораженной конечности (отек лапы) и показатели лейкограммы. Изучено противовоспалительное действие антигипоксантов (амтизол, гесперидин, гипоксен, метапрот). Показано, что гипоксен в дозе 50 мг/кг обладает слабой противовоспалительной активностью, но потенцирует действие нестероидных противовоспалительных средств. При совместном энтеральном введении гипоксена с ацетилсалициловой кислотой или диклофенаком отмечен мощный противовоспалительный эффект, что проявлялось существенным снижением регистрируемых показателей воспаления.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные вещества с антигипоксическими и антиоксидантными свойствами сегодня широко применяются в медицинской практике [2, 6, 10, 11]. Пристальное внимание к антигипоксантам обусловлено многообразным метаболотропным действием данной группы препаратов. В основе их фармакодинамики лежат различные метаболические механизмы, включая регуляцию потребления кислорода и энергетический обмен, воздействие на процессы свободно-радикального окисления и проницаемость клеточных мембран, влияние на регуляторные факторы клеточной адаптации и другие процессы [1, 5, 8, 9]. В научной литературе имеются сведения о противовоспалительной активности антигипоксантов и возможности их применения в лечении воспалительных заболеваний [3, 4, 12].

При фармакотерапии воспалений препаратами выбора, как известно, являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС). Однако несмотря на несомненную клиническую эффективность, даже кратковременный прием данных препаратов может приводить к развитию побочных эффектов, представляющих серьезную угрозу для жизни. Среди перспективных путей повышения эффективности и безопасности НПВС рассматривается, в частности, их комбинированное использование с антигипоксантами/антиоксидантами [7].

Целью настоящей работы явилось изучение противовоспалительной активности антигипоксантов различного химического строения и их влияние на эффективность НПВС при остром формалин-индуцированном воспалении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на крысах-самцах линии Wistar массой 180–220 г. Острую воспалительную реакцию воспроизводили путем субплантарного введения 0,1 мл 2%-го водного раствора формалина в левую заднюю лапу опытным группам крыс. Контрольным животным вводили равный объем воды очищенной. В работе изучены вещества с антигипоксантной и антиоксидантной активностью различной химической структуры: амтизол (3,5-диамино-1,2,4-тиадиазол), гесперидин (5,3'-диокси-4'-метокси-7-рамноглюкозид флавонона), гипоксен (натриевая соль [поли-{-2,5-дигидроксифенилен}-4-тиосульфокислоты) и метапрот (2-этилтиобензимидазол гидробромид), которые вводили в дозе 50 мг/кг. Препараты сравнения — ацетилсалициловая кислота (АСК) в дозе 100 мг/кг и диклофенак натрия в дозе 8 мг/кг. Все лекарственные вещества вводили в виде водных растворов зондом в желудок за 1 час до индукции воспаления. При комбинированном применении вещества вводили с интервалом 1 час.

Величину отека измеряли онкометрическим методом по изменению объема конечности экспериментальных животных [13]. Объем конечностей животных измеряли до введения и через 3 часа после введения формалина. В качестве критериев оценки противовоспалительной эффективности антигипоксантов и НПВС использовались: прирост объема конечности и торможение воспаления. Прирост объема конечности рассчитывали по формуле:

$$П = \frac{О - И}{И} \times 100\%, \text{ где}$$

П — прирост отека;

О — величина объема лапы после введения индуктора воспаления;

И — величина объема лапы до введения индуктора воспаления.

Торможение воспаления рассчитывали по формуле:

$$100\% - \left(\frac{O-I}{I} (o) : \frac{O-I}{I} (k) \right) \times 100\%, \text{ где}$$

о — леченные животные (опытные);

к — группа формалина.

Сразу после измерения объема конечности экспериментальных животных подвергали одномоментной декапитации под легким эфирным наркозом. В момент декапитации животных осуществляли забор крови. Подсчет лейкограммы и определение СОЭ проводили общепринятым методом [3].

Статистическую обработку результатов опытов выполняли с помощью пакета прикладных программ Statistica Version 6.0

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 3 часа после субплантарного введения формалина у крыс развивался выраженный отек пораженной конечности, объем которой существенно увеличивался и составлял $2,24 \pm 0,03 \text{ см}^3$ ($p < 0,05$), что на 52,4% больше исходного объема. У контрольных животных объем лапы не изменялся (табл. 1).

На фоне введения гипоксена объем конечности увеличился по сравнению с контрольной группой животных на 41,1%, что было достоверно меньше,

чем в опытной группе с формалином. Торможение воспаления гипоксеном составило 21,6%. Предварительное введение метапрота было менее эффективно (торможение воспаления 13,0%). Амтизол и гесперидин не оказали статистически значимого влияния на развитие формалинового отека, прирост объема конечности в обоих случаях был сопоставим с моделью. На фоне введения АСК и диклофенака увеличение объема конечности у опытных крыс было менее выраженное (соответственно на 21,3 и 10,3%), а торможение воспаления составило 59,3 и 80,3% соответственно по сравнению с группой, где применялся формалин.

При комбинированном применении гипоксена с АСК или с диклофенаком для коррекции воспаления отмечено минимальное увеличение объема конечности, причем данные показатели существенно не отличались от значений контрольной группы, а торможение воспаления составило 80,7 и 88,0%. Применение метапрота, амтизола и гесперидина в комбинации с НПВС не отличалось по выраженности воспалительного отека от монотерапии только НПВС.

Из приведенных результатов следует, что гипоксен уменьшает развитие формалин-индуцированного отека конечности. При комбинированном применении антигипоксанта с АСК или диклофенаком он потенцирует противовоспалительный эффект НПВС.

Результаты исследования лейкограммы и СОЭ экспериментальных животных представлены в та-

■ Таблица 1. Влияние антигипоксантов и НПВС на объем конечности крыс через 3 часа после введения формалина

Группы животных, (n = 10)	Доза, мг/кг	Объем лапы, см ³ , (M ± m)		Прирост объема, %	Торможение воспаления, %
		До введения	После введения		
Контроль		1,43 ± 0,05	1,44 ± 0,06		
Формалин		1,47 ± 0,05	2,24 ± 0,03*	52,4	
Антигипоксанты + формалин					
Гипоксен	50	1,41 ± 0,02	1,99 ± 0,01 * #	41,1	21,6
Метапрот	50	1,47 ± 0,02	2,14 ± 0,02 *	45,6	13,0
Амтизол	50	1,41 ± 0,04	2,07 ± 0,05 *	46,8	10,6
Гесперидин	50	1,32 ± 0,06	1,95 ± 0,05 *	47,7	8,9
НПВС + формалин					
АСК	100	1,55 ± 0,04	1,88 ± 0,02 * #	21,3	59,3
Диклофенак	8	1,46 ± 0,03	1,61 ± 0,03 #	10,3	80,3
Антигипоксанты + НПВС + формалин					
Гипоксен + АСК	50 100	1,48 ± 0,02	1,63 ± 0,02 #	10,1	80,7
Гипоксен + Диклофенак	50 8	1,43 ± 0,02	1,52 ± 0,02 #	6,3	88,0
Метапрот + АСК	50 100	1,33 ± 0,05	1,65 ± 0,05 #	24,0	54,2
Метапрот + Диклофенак	50 8	1,45 ± 0,02	1,59 ± 0,03 #	9,6	81,7
Амтизол + АСК	50 100	1,38 ± 0,03	1,69 ± 0,04 * #	22,4	57,2
Гесперидин + АСК	50 100	1,33 ± 0,04	1,63 ± 0,03 * #	22,5	57,0

* — различие с контролем статистически значимо ($p < 0,05$); # — различие с формалином статистически значимо ($p < 0,05$)

■ Таблица 2. Влияние антигипоксантов и НПВС на лейкограмму и СОЭ крови крыс при формалин-индуцированном воспалении

Группы животных (n = 10)	Доза мг/кг	Лейкограмма крови крыс					СОЭ, мм/час
		Нейтрофилы		Эозинофилы, %	Моноциты, %	Лимфоциты, %	
		Палочко-ядерные, %	Сегментоядерные, %				
Контроль		0,6±0,21	22,4±0,26	1,7±0,03	1,8±0,17	73,5±3,51	1,51±0,01
Формалин		1,1±0,06 *	44,2±2,66 *	0,8±0,04 *	4,7±0,02 *	49,2±3,66 *	12,4±0,22
Антигипоксанты + формалин							
Гипоксен	50	1,0±0,05 *	39,9±3,06 *	0,7±0,01 *	4,6±0,08 *	53,8±3,42 *	7,7±0,01 * #
Метапрот	50	1,0±0,04 *	40,4±2,21 *	0,7±0,03 *	4,7±0,05 *	53,2±3,57 *	12,3±1,02 *
Амтизол	50	1,1±0,03 *	43,1±2,68 *	0,8±0,01 *	4,8±0,04 *	50,2±3,58 *	12,3±0,87 *
Гесперидин	50	1,0±0,02 *	42,3±3,02 *	0,7±0,01 *	4,8±0,05 *	51,2±3,19 *	12,4±0,94 *
НПВС + формалин							
АСК	100	0,7±0,07 #	35,1±3,81 * #	0,9±0,05 *	3,6±0,03 * #	59,7±4,24 * #	5,4±0,05 * #
Диклофенак	8	0,7±0,06 #	28,6±2,86 * #	1,2±0,02 * #	2,6±0,06 * #	66,9±4,22 #	3,6±0,08 * #
Антигипоксанты + НПВС + формалин							
Гипоксен + АСК	50 100	0,6±0,04 #	33,2±2,56 * #	0,9±0,06 *	2,7±0,06 * #	62,6±3,60 #	3,1±0,03 * #
Гипоксен + Диклофенак	50 8	0,6±0,05 #	24,6±2,71 #	1,5±0,07 #	2,3±0,04 #	71,0±4,54 #	2,6±0,07 #
Метапрот + АСК	50 100	0,7±0,02 #	38,4±1,36 * #	1,3±0,04 #	3,3±0,03 * #	56,3±2,69 * #	5,3±0,11 * #
Метапрот + Диклофенак	50 8	0,6±0,01 #	26,4±1,54 #	1,5±0,07 #	3,3±0,08 * #	68,2±3,84 #	3,4±0,08 * #
Амтизол + АСК	50 100	0,7±0,01 #	44,0±2,23 *	1,0±0,02 *	3,3±0,03 * #	51,0±2,67*	5,5±0,65 * #
Гесперидин + АСК	50 100	0,7±0,01 #	45,0±2,15 *	0,9±0,01 *	3,5±0,03 * #	49,9±4,15 *	5,3±0,15 * #

* — различие с контролем статистически значимо (p < 0,05); # — различие с формалином статистически значимо (p < 0,05)

блице 2. Из таблицы следует, что во всех опытных группах животных введение формалина вызывало относительную нейтрофилию с увеличением процентного содержания сегментоядерных нейтрофилов на фоне общего лейкоцитоза. Такие изменения в лейкоцитарной формуле характерны для острого воспалительного процесса.

При введении формалина количество зрелых форм нейтрофилов в крови животных возросло до 44,2±2,66%, количество моноцитов до 4,7±0,02%, количество лимфоцитов и эозинофилов снизилось до 49,2±3,66% и 0,8±0,04% (p < 0,05). На фоне введения АСК и диклофенака изменения были менее выражены — количество зрелых форм нейтрофилов увеличилось до 35,1±3,81% и 28,6±2,86%, моноцитов до 3,6±0,03% и 2,6±0,06%, а количество эозинофилов (0,9±0,05% и 1,2±0,02%) и лимфоцитов (59,7±4,24% и 66,9±4,22%) оставалось сниженным. Антигипоксанты оказали слабое влияние на показатели лейкограммы, которые приближались к значениям группы без фармакологической коррекции.

При комбинированном применении гипоксена с АСК и диклофенаком отмечены минимальные изменения лейкограммы по сравнению с контрольной группой: количество нейтрофилов увеличилось до 33,2±2,56 и 24,6±2,71%, моноцитов до 2,7±0,06 и 2,3±0,04%, количество эозинофилов снизилось до 0,9±0,06 и 1,5±0,07%, а количество лимфоцитов

приближалось к контрольным значениям. На фоне комбинации метапрота с диклофенаком также отмечены незначительные изменения лейкограммы. Комбинированное применение метапрота, амтизола и гесперицина с АСК существенно не изменяло показатели лейкограммы на фоне воспаления, индуцированного формалином, по сравнению с опытной группой, получавшей одну АСК.

При индукции воспаления формалином наблюдалось увеличение СОЭ до 12,4 мм/час (P < 0,05). На фоне профилактического введения АСК и диклофенака СОЭ достоверно снижалось. На фоне введения антигипоксантов СОЭ снижалось только под влиянием гипоксена. Остальные антигипоксанты достоверно не изменяли данный показатель. При комбинированном применении антигипоксантов с НПВС наименьшие изменения СОЭ отмечены от комбинаций гипоксен+диклофенак и гипоксен + АСК.

Таким образом, субплантарное введение 2%-го водного раствора формалина крысам вызывает через 3 часа развитие острой воспалительной реакции, которая проявляется выраженным отеком (увеличение объема лапы) пораженной конечности и характерными изменениями лейкограммы и СОЭ крови. Предварительное энтеральное введение опытным животным антигипоксантов (амтизол, гесперидин, гипоксен, метапрот) существенно не изменяет развитие воспалительной реакции. Слабое противовоспалительное действие оказывает гипок-

сен в дозе 50 мг/кг. Применение гипоксена в комбинации с ацетилсалициловой кислотой или диклофенаком при остром формалин-индуцированном воспалении сопровождается выраженным увеличением противовоспалительного эффекта НПВС. У животных, получавших эти комбинации лекарственных веществ на фоне введения формалина, регистрируемые признаки воспаления (прирост объема конечности, процент торможения воспаления, показатели лейкограммы и СОЭ) были значительно меньше по сравнению с другими опытными группами животных. Менее эффективной оказалась комбинация метапрота с диклофенаком. Данные результаты свидетельствуют о том, что гипоксен и в меньшей степени метапрот потенцируют противовоспалительный эффект НПВС. Возможно, это связано с мощным антиоксидантным действием препаратов и подавлением экссудативной фазы воспаления [2, 3, 5].

ВЫВОД

Гипоксен в дозе 50 мг/кг оказывает слабое противовоспалительное действие на модели острого формалин-индуцированного воспаления. Применение гипоксена в комбинации с диклофенаком или ацетилсалициловой кислотой потенцирует противовоспалительный эффект НПВС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Левченкова О. С., Новиков В. Е. Антигипоксанты: возможные механизмы действия и клиническое применение // Вестник Смоленской гос. мед. академии. — 2011. — № 4. — С. 43–57.
2. Левченкова О. С., Новиков В. Е., Пожилова Е. В. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов // Обзоры по клинич. фармакологии и лек. терапии. — 2012. — Т. 10, № 3. — С. 3–12.
3. Новиков В. Е., Илюхин С. А. Влияние гипоксена на эффективность кислоты ацетилсалициловой при остром воспалении // Эксперим. и клинич. фармакология. — 2013. — Т. 76, № 4. — С. 32–35.
4. Новиков В. Е., Илюхин С. А., Пожилова Е. В. Влияние метапрота и гипоксена на развитие воспалительной реакции в эксперимента // Обзоры по клинич. фармакологии и лек. терапии. — 2012. — Т. 10, № 4. — С. 63–66.

◆ Информация об авторах

Новиков Василий Егорович — д. м. н., зав. кафедрой фармакологии. Смоленская государственная медицинская академия. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28. E-mail: nau@sgma.info.

Пожилова Елена Васильевна — соискатель кафедры фармакологии. Смоленская государственная медицинская академия. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28. E-mail: nau@sgma.info.

Илюхин Сергей Алексеевич — к. м. н., соискатель каф. фармакологии. Смоленская государственная медицинская академия. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28. E-mail: nau@sgma.info.

5. Новиков В. Е., Катунина Н. П. Фармакология и биохимия гипоксии // Обзоры по клинич. фармакологии и лек. терапии. — 2002. — Т. 1, № 2. — С. 73–87.
6. Новиков В. Е., Климкина Е. И. Фармакология гепатопротекторов // Обзоры по клинич. фармакологии и лек. терапии. — 2005. — Т. 4, № 1. — С. 2–20.
7. Новиков В. Е., Крюкова Н. О., Новиков А. С. Гастропротекторные свойства мексидола и гипоксена // Эксперим. и клинич. фармакология. — 2010. — Т. 73, № 5. — С. 15–18.
8. Новиков В. Е., Левченкова О. С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // Эксперим. и клинич. фармакология. — 2013. — Т. 76, № 5. — С. 37–47.
9. Новиков В. Е., Левченкова О. С. Митохондриальные мишени для фармакологической регуляции адаптации клетки к воздействию гипоксии // Обзоры по клинич. фармакологии и лек. терапии. — 2014. — Т. 12, № 2. — С. 28–35.
10. Новиков В. Е., Маслова Н. Н. Влияние мексидола на течение посттравматической эпилепсии // Эксперим. и клинич. фармакология. — 2003. — Т. 66, № 4. — С. 9–11.
11. Пожилова Е. В., Новиков В. Е., Новикова А. В. Фармакодинамика и клиническое применение препаратов на основе гидроксипиридина // Вестник Смоленской гос. мед. академии. — 2013. — Т. 12, № 3. — С. 56–66.
12. Тургенева Л. Б., Новиков В. Е., Пожилова Е. В. Лечение воспалительных заболеваний пародонта мексидолом // Патогенез. — 2011. — Т. 9, № 3. — С. 67.
13. Fereidoni M., Ahmadiani A., Semnanian S., Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema // Pharm. Toxicol. Methods J. — 2000. — Vol. 43. — P. 11–14.

INFLUENCE OF ANTIHYPOXANTS ON THE DEVELOPMENT OF ACUTE PHORMALIN-INDUCED EDEMA

V. E. Novikov, E. V. Pozhilova, S. A. Ilyukhin

◆ **Summary:** In the experiment in a model of acute formalin-induced inflammation of rat paw, the changes of size of the affected limbs (paw edema) and parameters of leukogram were registered. The anti-inflammatory effect of antihypoxants (amtizol, hesperidin, hypoxen, metaprot) was investigated. It has been shown that hypoxen 50 mg/kg have weak anti-inflammatory activity, but potentiate the effect of nonsteroid anti-inflammatory drugs. At simultaneous enteral administration of hypoxen with acetylsalicylic acid or diclofenac, evident anti-inflammatory effect was marked, that was manifested by significant reduction in registered inflammation symptoms.

◆ **Key words:** amtizol; hesperidin; hypoxen; metaprot; acute inflammation.

Novikov Vasilii Egorovich — MD, professor, Head of the Department of Pharmacology. Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskoy St., 28, Russia. E-mail: nau@sgma.info.

Pozhilova Elena Vasil'yevna — Postgraduate Fellow, Dept. of Normal Physiology. Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskoy St., 28, Russia. E-mail: nau@sgma.info.

Ilyukhin Sergey Alekseevich — Cand. Biol. Sci., Postgraduate Fellow, Dep. of Pharmacology. Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskoy St., 28, Russia. E-mail: nau@sgma.info.