

ВЛИЯНИЕ МЕТАПРОТА И ГИПОКСЕНА НА РАЗВИТИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ РЕАКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 615.015.21:615.276

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

Смоленская государственная медицинская академия Минздрава РФ

Ключевые слова:

гипоксен; метапрот; кислота ацетилсалициловая; карагенин; острое воспаление.

Резюме:

В эксперименте на модели карагенин-индуцированного воспаления лапы крыс наблюдали динамику развития острой воспалительной реакции. Регистрировали изменения объема пораженной конечности (отек лапы) и показатели свободнорадикального окисления. Показано, что ацетилсалициловая кислота в дозе 100 мг/кг уменьшает развитие воспалительной реакции. Гипоксен и метапрот в дозе 50 мг/кг обладают слабой противовоспалительной активностью, но потенцируют действие ацетилсалициловой кислоты. При совместном энтеральном введении гипоксена и метапрота с ацетилсалициловой кислотой на фоне применения карагенина отмечен мощный противовоспалительный эффект, что проявлялось существенным снижением регистрируемых показателей воспаления и быстрым восстановлением объема пораженной конечности. Наиболее эффективна комбинация гипоксена с ацетилсалициловой кислотой.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из наиболее распространенных типовых патологических процессов, который развивается в организме от различных этиологических факторов (физических, химических, инфекционных, эндогенных), является воспаление. Обязательные компоненты воспаления, как известно, — повреждение тканей и комплекс сосудисто-экссудативных и пролиферативных реакций, направленных на удаление патогенного фактора и восстановление целостности тканей [2]. Современная концепция воспаления рассматривает этот патофизиологический феномен с позиции решающего участия в нем окислительного стресса [9]. К настоящему времени накоплено множество клинических и экспериментальных данных, доказывающих важную роль активированных метаболитов кислорода и других радикалов в патогенезе воспаления, в возникновении и развитии всех его основных стадий [10].

Средствами выбора при фармакотерапии воспалительной реакции являются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Однако несмотря на несомненную клиническую эффективность, применение любых НПВП имеет свои ограничения. Это обусловлено тем, что даже кратковременный прием данных препаратов может приводить

к развитию побочных эффектов, которые в целом встречаются примерно в 25 % случаев, а у 5 % больных могут представлять серьезную угрозу для жизни [8, 11]. Многие исследователи среди перспективных путей повышения эффективности и безопасности НПВП рассматривают, в частности, их комбинированное использование с антигипоксантами/антиоксидантами [1, 5]. В связи с этим большой научно-практический интерес представляют исследования влияния антигипоксентов на развитие воспалительной реакции и эффективность НПВП при их комбинированном применении.

Цель исследования состояла в изучении эффективности применения гипоксена и метапрота с кислотой ацетилсалициловой при остром карагенин-индуцированном воспалении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 182 крысах линии Wistar массой 190–210 г. Модель карагенин-индуцированного воспаления лапы крыс воспроизводили согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [6]. Карагенин в виде 1%-го водного раствора в объеме 0,1 мл вводили субплантарно в заднюю левую лапу опытным группам крыс. Контрольной группе животных вводили равный объем растворителя.

Лекарственные вещества гипоксен и метапрот в дозе 50 мг/кг, ацетилсалициловую кислоту (АСК) в дозе 100 мг/кг в виде водных растворов вводили зондом в желудок за 1 час до индукции воспаления и далее 1 раз в сутки в течение всего опыта (30 суток). При комбинированном применении вещества вводили с интервалом 1 час.

Объем конечностей экспериментальных животных измеряли с помощью плетизмометра до введения, через 3 часа после введения карагенина и в динамике развития воспаления. В качестве критериев оценки эффективности АСК и антигипоксентов использовали: прирост объема конечности и торможение воспаления. Прирост объема конечности рассчитывали по формуле:

$$П = \frac{О - И}{И} \times 100 \%$$

П — прирост отека;

О — величина объема лапы после введения индуктора воспаления;

И — величина объема лапы до введения индуктора воспаления.

■ Таблица 1. Общая структура селеносодержащих металлокомплексных соединений πQ1983, πQ2170

Группы животных, (n = 10)	Доза, мг/кг	Объем лапы, мл, (M±m)		Прирост объема, %	Торможение воспаления, %
		До введения	После введения		
Контрольная группа		1,43±0,05	1,44±0,06		
Карагенин		1,45±0,05	2,52±0,07*	73,8	
АСК+Карагенин	100	1,46±0,04	1,81±0,07**	24,0	67,5
Гипоксен+Карагенин	50	1,43±0,05	2,14±0,07**	49,6	32,8
Гипоксен+АСК+Карагенин	50/100	1,37±0,08	1,56±0,04**	13,8	81,3
Метапрот+Карагенин	50	1,45±0,037	2,27±0,04**	56,5	23,4
Метапрот+АСК+Карагенин	50/100	1,48±0,056	1,72±0,06**	16,2	78,0

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

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 карагенина.

Затем животных декапитировали под легким эфирным наркозом. В момент декапитации животных осуществляли забор крови. Показатели свободнорадикального окисления (СРО) в сыворотке крови — интенсивность быстрой вспышки (Φ_{\max} — прямопропорциональна процессу ПОЛ) и величину светосуммы свечения (обратнопропорциональна активности антиоксидантной системы) регистрировали на отечественном хемилюминиметре CL-3606 фирмы «Диалог» с помощью программы «CLM».

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

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 3 часа после субплантарного введения карагенина у опытных крыс развивался выраженный отек пораженной конечности, объем которой существенно увеличивался и составлял 2,52 мл, что на 73,8 % больше исходного объема (табл. 1). У контрольных животных объем лапы не изменялся.

Применение лекарственных препаратов тормозило развитие карагенин-индуцированного отека. Так, на фоне введения АСК объем конечности увеличился только на 24 %, а торможение воспаления со-

ставляло 67,5 % по сравнению с опытной группой без лечения. При применении гипоксена прирост объема конечности составил 49,6 %, а торможение воспаления — 32,8 %. На фоне введения метапрота прирост объема конечности составил 56,5 %, а торможение воспаления — 23,4 %. Метапрот усиливал противовоспалительный эффект АСК при их комбинированном применении (торможение воспаления 78 %). Использование комбинации АСК и гипоксена показало наилучший результат, объем конечности увеличился лишь на 13,8 % относительно исходного состояния, а торможение воспаления составило 81,3 % по сравнению с группой, где применялся карагенин.

Очевидно, АСК тормозит синтез простагландинов и тромбксана, что и приводит к уменьшению отека и воспаления. Эффект гипоксена и метапрота, вероятно, связан с мощной антиоксидантной активностью препаратов [4]. При совместном применении гипоксена и метапрота с АСК в условиях формирования воспалительной реакции отмечается синергичное действие препаратов. Антигипоксанты потенцируют противовоспалительный эффект АСК, в результате чего наблюдается выраженное торможение острого карагенин-индуцированного отека.

При измерении объема конечности опытных животных в динамике воспалительного процесса было отмечено, что карагенин индуцирует выраженный

■ Таблица 2. Влияние гипоксена, метапрота и ацетилсалициловой кислоты на развитие воспалительной реакции лапы крыс в динамике

Группы животных (n=7)	Исходное состояние	Сутки после индукции воспаления						
		1	3	5	7	14	21	30
	Объем лапы в мл (M±m)							
Контрольная группа	1,33±0,04	1,35±0,05	1,35±0,04	1,34±0,04	1,34±0,06	1,33±0,03	1,34±0,06	1,33±0,05
Карагенин	1,32±0,04	2,38±0,06*	2,36±0,03*	2,35±0,04*	2,34±0,03*	2,31±0,04*	2,23±0,05*	2,17±0,03*
АСК+Карагенин	1,31±0,03	1,79±0,03**	1,76±0,04**	1,75±0,02**	1,69±0,03**	1,47±0,03**	1,36±0,02**	1,32±0,03**
Гипоксен+Карагенин	1,31±0,05	2,11±0,08**	2,09±0,07**	2,07±0,05**	1,95±0,04**	1,85±0,06**	1,73±0,03**	1,68±0,05**
Гипоксен+АСК+Карагенин	1,31±0,05	1,48±0,04**	1,56±0,05**	1,53±0,06**	1,38±0,04**	1,33±0,06**	1,31±0,07**	1,32±0,03**
Метапрот+Карагенин	1,31±0,04	2,21±0,03**	2,21±0,02**	2,19±0,03**	2,12±0,03**	2,03±0,01**	1,91±0,02**	1,85±0,04**
Метапрот+АСК+Карагенин	1,32±0,04	1,65±0,02**	1,64±0,03**	1,59±0,02**	1,48±0,04**	1,35±0,02**	1,33±0,03**	1,32±0,04**

* — различие с контролем статистически значимо (p < 0,05), ** — различие с каррагенином статистически значимо (p < 0,05)

* — различие с контролем статистически значимо ($p < 0,05$), ** — различие с карагенином статистически значимо ($p < 0,05$)

отек лапы, который сохраняется в течение 30 суток наблюдения (табл. 2).

Применение АСК достоверно тормозило выраженность отека во все периоды наблюдения, а спустя 14–20 суток лечения объем пораженной конечности животных приближался к контрольным значениям. Гипоксен и метапрот тоже угнетали выраженность отека на карагенин, но их действие было слабым (особенно у метапрота) и не приводило к устранению отека даже к 30 суткам. Однако оба препарата повышали эффективность АСК при комбинированном введении. Их совместное назначение с АСК тормозило развитие карагенинового отека, и к 7–14-м суткам лечения объем пораженной конечности опытных животных приближался к контролю. Наиболее сильный эффект отмечен при введении комбинации гипоксена с АСК.

В следующей серии экспериментов мы изучили активность СРО в сыворотки крови через 3 часа после индукции воспаления, а также влияние на процессы пероксидации АСК и гипоксена, которые наиболее эффективно в предыдущих опытах тормозили развитие карагенинового отека конечности.

Результаты исследования активности процессов СРО представлены в таблице 3. Как из неё следует, интенсивность быстрой вспышки и величина светосуммы

свечения в группе животных, где применялся карагенин, были достоверно выше (в 2,4 и в 2 раза соответственно) значений контрольной группы. Такие изменения показателей свидетельствуют об активации СРО (активация процессов перекисного окисления липидов и снижение активности антиоксидантной защиты).

В опытных группах крыс на фоне применения лекарственных препаратов показатели СРО увеличивались, но уже не так выражено, например, в группе, где применялась АСК, интенсивность быстрой вспышки увеличилась в 2,1 раза, а величина светосуммы свечения в 1,5 раза по отношению к контролю. На фоне приема гипоксена интенсивность быстрой вспышки и величина светосуммы свечения увеличились в 1,4 и 1,5 раза соответственно. При назначении комбинации гипоксена и АСК наблюдалось максимальное угнетение СРО, индуцированного карагенином. Показатели интенсивности быстрой вспышки и величины светосуммы свечения в этой группе опытных животных были выше контрольных значений только в 1,1 раза.

Выраженное ингибирование процессов СРО при применении гипоксена и его комбинации с АСК в условиях острого воспаления, по-видимому, объясняется полигидрофениленовой структурой основного ядра гипоксена. Гидроксильные группы полигидрохинона

■ Таблица 3. Показатели свободно-радикального окисления при карагенин-индуцированном воспалении и его фармакологической коррекции

Группы животных (n=10)	Доза мг/кг	Фтах, отн. ед.	Величина светосуммы свечения, отн. ед.
Контрольная группа		2731±362,8	36875±5327,0
Карагенин		6578±411,2*	72978±7383,2*
АСК+карагенин	100	5836±385,7**	56037±2539,5**
Гипоксен+карагенин	50	3894±241,8**	55873±4953,7**
Гипоксен+АСК+карагенин	50 100	3051±239,3**	42659±1076,6**

* — различие с контролем статистически значимо ($p < 0,05$), ** — различие с карагенином статистически значимо ($p < 0,05$)

легко отдают свой атом водорода, который может взаимодействовать с активным радикалом с образованием пероксидов. В молекуле гипоксена одновременно могут существовать до 12 гидроксильных групп, способных одномоментно или последовательно связать большое количество свободных радикалов [3, 7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты проведенных экспериментов показали, что субплантарное введение 1%-го водного раствора карагенина крысам уже через 3 часа вызывает развитие острой воспалительной реакции, которая проявляется выраженным отеком (увеличение объема лапы) пораженной конечности и активацией процессов свободно-радикального окисления в сыворотке крови. Отек пораженной конечности сохраняется в течение 30 суток (период наблюдения). Энтеральное введение опытным животным ацетилсалициловой кислоты тормозит развитие воспалительной реакции. Введение гипоксена и метапрота в дозах 50 мг/кг оказывает слабое противовоспалительное действие. Однако применение антигипоксантов в комбинации с ацетилсалициловой кислотой при остром карагенин-индуцированном воспалении сопровождается существенным увеличением противовоспалительного эффекта и более быстрым восстановлением объема конечности. Наиболее эффективна комбинация гипоксена с ацетилсалициловой кислотой. У животных, получавших эту комбинацию на фоне введения карагенина, все регистрируемые признаки воспаления (прирост объема конечности, процент торможения воспаления, показатели активности свободно-радикального окисления) во все периоды наблюдения были значительно меньше по сравнению с другими опытными группами животных. Данные результаты свидетельствуют о том, что гипоксен и метапрот потенцируют противовоспалительный эффект ацетилсалициловой кислоты. Возможно, это связано с мощным антиоксидантным действием препаратов и подавлением экссудативной фазы воспаления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барчук М. А., Прилепова И. А. Динамика показателей перекисного окисления липидов и ферментативного звена антирадикальной защиты при лечении паци-

◆ Информация об авторах

Новиков Василий Егорович — д. м. н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28. E-mail: novikov.farm@yandex.ru.

Илюхин Сергей Алексеевич — очный аспирант кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ. 214019, Смоленск, ул. Крупской, д. 28. E-mail: chemtester@mail.ru.

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

- ентов с язвенной болезнью // Совр. гастроэнтерология. — 2002. — № 2. — С. 59–61.
2. Игнатов Ю. Д., Кулес В. Г., Мазуров В. И. Клиническая фармакология нестероидных противовоспалительных средств. — М.: ГЭОТАР, 2010. — 258 с.
3. Левченкова О. С., Новиков В. Е. Антигипоксанты: возможные механизмы действия и клиническое применение // Вестник СГМА. — 2011. — № 4. — С. 43–57.
4. Новиков В. Е., Левченкова О. С. Фармакология гипоксии. — Смоленск: СГМА, 2007. — 130 с.
5. Новиков В. Е., Крюкова Н. О., Новиков А. С. Гастропротекторные свойства мексидола и гипоксена // Эксперим. и клин. фармакология. — 2010. — № 5. — С. 15–18.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р. У. Хабриева. — М., 2005. — 832 с.
7. Смирнов В. С., Кузьмич М. К. Гипоксен. — СПб., М.: Фарм-индекс, 2001. — 104 с.
8. Brooks P. M. Treatment of rheumatoid arthritis: from symptomatic relief to potential cure // Br. J. Rheumatol. — 1998. — Vol. 37. — P. 1265–1271.
9. Crapo J. D. Oxidative stress as an inhibitor of cytokine release and cell damage // First ERS Lung Science Conference. — Taormina, 2003. — P. 15–19.
10. Rahman I., Adcock I. M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD // Eur. Respir. J. — 2006. — Vol. 28. — P. 219–242.
11. Vane J. R., Flower R. J., Botting R. M. History of aspirin and its mechanism of action // Stroke. — 1990. — Vol. 21, Suppl. 12. — P. 12–23.

INFLUENCE OF METAPROT AND HYPOXEN ON THE INFLAMMATORY REACTION DEVELOPMENT IN THE EXPERIMENT

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

◆ **Summary:** The dynamics of the acute inflammatory response was observed in the experiment modeling caragenin-induced rat paw inflammation. The changes in the volume of damaged limb (paw edema) and indices of free radical oxidation were registered. Acetylsalicylic acid in the dose of 100 mg/kg was shown to reduce the development of inflammation. Hypoxen and metaprot in the dose of 50 mg/kg have got low anti-inflammatory activity, but potentiated the effect of acetylsalicylic acid. Simultaneous enteral administration of hypoxen and metaprot with the acetylsalicylic acid during the treatment with caragenin the powerful anti-inflammatory effect was marked, it was presented with a significant decrease in the parameters of inflammation recorded and rapid recovery of the damaged limb. The combination of hypoxen with acetylsalicylic acid was the most effective one.

◆ **Key words:** hypoxen; metaprot; acetylsalicylic acid; caragenin; acute inflammation.

Novikov Vasilii Yegorovich — Doctor of Medical Sciences, professor, Head of the Department of Pharmacology, Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28. E-mail: novikov.farm@yandex.ru.

Ilyukhin Sergey Alekseyevich — Postgraduate Fellow, Dept. of Pharmacology, Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28. E-mail: chemtester@mail.ru.

Pozhilova Yelena Vasilyevna — Postgraduate Fellow, Dept. of Pharmacology, Smolensk State Medical Academy. 214019, Smolensk, Krupskaya St., 28. E-mail: nau@sgma.info.