ГЛЮКОРИБІН — НОВИЙ ПРОТИАЛЕРГІЙНИЙ ПРЕПАРАТ

Л.В.Яковлєва, В.В.Чікіткіна, Н.Ф.Сапожникова

Національна фармацевтична академія України

Ключові слова: алергія; протиалергійна активність; гістамін; імуномодулююча дія

Наведені результати вивчення протиалергійних властивостей нового рослинного препарату "Глюкорибіну" з листя смородини чорної. Встановлено, що на експериментальних моделях алергійних реакцій "негайного" і "сповільненого" типів досліджуємий препарат виявляє виражену протиалергійну активність, яка перевершує ефект препарату порівняння "Діазоліну". Механізм дії глюкорибіну не пов'язаний з антигістамінними та мембраностабілізуючими властивостями і обумовлений, очевидно, імуномодулюючою дією полісахаридної субстанції глюкорибіну.

Проблема алергійних захворювань є однією з актуальних у сучасній медицині. Кількість хворих, що страждають на алергійні захворювання, в усьому світі продовжує збільшуватися [5, 9] у зв'язку з погіршенням екологічної ситуації, поширенням хімічних речовин у побуті, виробництві і сільському господарстві, інтенсивним застосуванням лікарських засобів: антибіотиків, вакцин і сироваток, вітамінів, нейролептиків, з розповсюдженням штучного годування дітей, використанням у харчовій промисловості консервантів і впливом природних чинників: пилу, пуху і пилку рослин.

Сучасна фармакотерапія алергійних захворювань застосовує протиалергійні засоби, що діють на різні стадії алергійної відповіді, і об'єднує антигістамінні, гормональні препарати, імуномодулятори та ін.

Поряд з високою фармакологічною дією більшість протиалергійних препаратів здатна викликати небажані побічні ефекти, які проявляються у вигляді пригнічення ЦНС, підвищення зсідання крові та артеріального тиску, ульцерогенної дії та ін., що свідчить про актуальність розробки нових препаратів для лікування алергопатологій, позбавлених зазначених побічних ефектів. У зв'язку з цим народна і все частіше наукова медицина в комплексне лікування алергійних захворювань обгрунтовано включає фітотерапію.

Дія лікарських рослин базується на протиалергічному, протизапальному, загальнозміцнюючому й адаптогенному ефектах. Для усунення проявів свербіння застосовують валеріану лікарську, кропиву звичайну, мелісу лікарську, кульбабу звичайну, смородину чорну, хвощ польовий та ін. [4].

Як адаптогени в алергології використовуються препарати женьшеню, елеутерококу колючого, лимонника китайського, родіоли рожевої. Фармакологічний ефект препаратів цієї групи обумовлений впливом на надниркові залози і проявляється у підвищенні резистентності організму до стресових і шкідливих впливів різноманітного походження.

Вплив на надниркові залози може викликати порушення функції статевих залоз, особливо у неповнолітніх пацієнтів, та інші небажані ефекти. У зв'язку з цим увагу дослідників привертають ті рослинні адаптогени, які проявляють більш фізіологічну стимулюючу дію на кору надниркових залоз. До даної групи відносяться череда трироздільна, солодка гола, калина червона, лопух справжній [4, 11].

Номенклатура стандартизованих фітопрепаратів в алергології в даний час обмежена, що служить обгрунтуванням цілеспрямованого пошуку протиалергійних рослинних субстанцій.

Використовуючи дані літератури щодо протиалергійних властивостей настоїв, відварів, сиропу зі смородини чорної, на кафедрі фармакогнозії Національної фармацевтичної академії України доц. В.С.Кисліченко розробила таблетований протиалергійний фітопрепарат "Глюкорибін" на основі полісахаридної субстанції, одержаної з листя смородини чорної [8]. На цей час таблетки глюкорибіну проходять 1-у фазу клінічних випробувань.

У запропонованій роботі подані результати вивчення протиалергійної активності субстанції глюкорибіну на експериментальних моделях алергійних реакцій "негайного" і "сповільненого" типів та зроблена спроба пояснення на основі аналізу результатів можливого механізму дії препарату.

Матеріали та методи

Експерименти проводили на 24 морських свинках обох статей масою 320-600 г, 38 білих безпородних щурах-самцях масою 150-200 г і 40 безпородних мишах обох статей масою 16-25 г. Тварини утримувалися на стандартному раціоні віварію ЦНДЛ.

Л.В.Яковлєва — доктор фарм. наук, професор, завідувачка ЦНДЛ Національної фармацевтичної академії України (м. Харків)

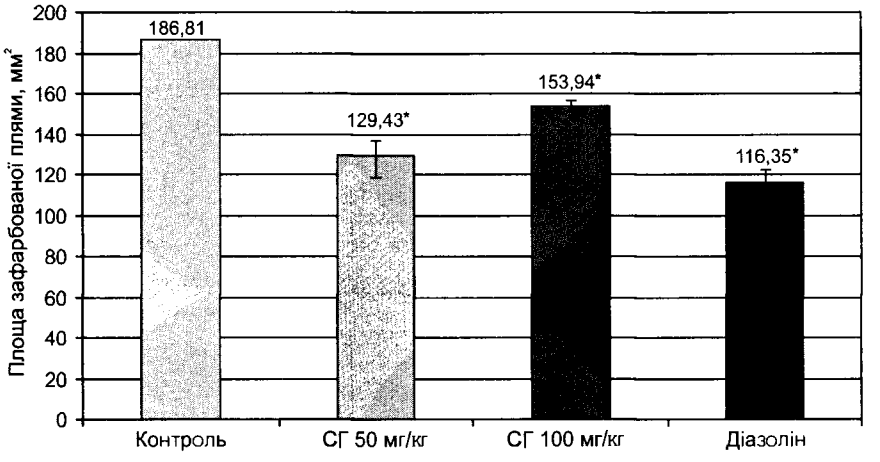

Рис. 1. Протиалергійна активність субстанції глюкорибіну на моделі активної шкірної анафілаксії. Умовні позначення: контроль — контрольна патологія; СГ 50 мг/кг — субстанція глюкорибіну в дозі 50 мг/кг; СГ 100 мг/кг — субстанція глюкорибіну в дозі 100 мг/кг; діазолін — діазолін у дозі 6 мг/кг *p<0,05 відносно контролю.

Як алергійну реакцію "негайного" типу in vivo використовували модель активної шкірної анафілаксії [6].

Сенсибілізацію морських свинок здійснювали триразово підшкірно через день сумішшю, що складається з 0,25 мл ізотонічного розчину хлориду натрію, який містить 5 мг альбуміну і 0,25 мл повного ад'юванту Фрейнда [3]. Субстанцію глюкорибіну вводили тваринам дослідних груп протягом 14 днів після сенсибілізації щодня внутрішньошлунково в дозах 50 і 100 мг/кг. Препаратом порівняння був обраний діазолін, як засіб, який широко застосовується в алергології, є малотоксичним і не чинить впливу на ЦНС. Дозу діазоліну 6 мг/кг розраховували за методом Ю.П.Риболовлєва [10], виходячи з добової дози діазоліну для дорослої людини 0,1 г.

На 21-й день після початку сенсибілізації експериментальним тваринам внутрішньошкірно вводили розрізнювальну дозу альбуміну — 40 мкл, потім внутрішньовенно вводили 0,5 мл 1% розчину синього Еванса. Через 30 хв. тварин забивали й відсепаровували шкіру. Виразність шкірної алергійної реакції оцінювали за площею зафарбованих плям у місці введення розрізнювальної ін'єкції [6].

Для тестування протиалергійної активності субстанції in vitro використовували реакцію дегрануляції тучних клітин. Щурів сенсибілізували нормальною кінською сироваткою в суміші зі стерильною вазеліновою олією в співвідношенні 1:1 за об'ємом триразово через день підшкірними ін'єкціями 1 мл суміші [1]. Тварини дослідних груп одержували субстанцію глюкорибіну в дозах 50 і 100 мг/кг і препарат порівняння "Діазолін" у дозі 6 мг/кг з першого дня сенсибілізації протягом 14 днів. Тварини контрольних груп (інтактної і сенсибілізованої) одержували еквівалентну кількість води.

На 21-у добу тварин забивали й одержували сироватку для постановки тесту. Тучні клітини одержували з перитонеального ексудату інтактних щурів. Препарати готували на предметному склі, пофарбованому 0,3% спиртовим розчином нейтрального червоного, інкубували протягом 15 хв. при 37°С і читали під мікроскопом. Оцінку результатів проводили диференціальним методом, підраховуючи показник дегрануляції тучних клітин (ПДТК) за формулою (1):

$$ПДТК = 1а+2б+3с+3д/100 \quad (1),$$

де: а, б, с та д — кількість (середня з трьох повторень) дегранульованих клітин відповідно до ступеня дегрануляції. У кожній камері підраховували 100 клітин. Реакцію вважали позитивною, якщо ПДТК перевищував 0,2 [7].

Як алергійну реакцію "сповільненого" типу використовували тест гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ) за методом Kitamura [12]. Сенсибілізацію мишей здійснювали шляхом однократного внутрішньоочеревинного введення суспензії еритроцитів барана (ЕБ) у дозі 10^7 ЕБ на мишу. З наступного дня до дня врахування результатів тварини дослідних груп одержували щодня перорально субстанцію глюкорибіну у дозах 25, 50 і 100 мг/кг і препарат порівняння "Діазолін" у дозі 8,38 мг/кг, розрахованій за методом Ю.П.Риболовлєва [10] для мишей. Тварини контрольних груп (інтактної і сенсибілізованої) одержували еквівалентну кількість води. На 5-у добу вводили розрізнювальну дозу суспензії ЕБ 10^8 у 0,05 мл фізіологічного розчину під апоневротичну пластинку однієї з нижніх кінцівок. У контрлатеральну лапу ввводили фізіологічний розчин у тому ж об'ємі і через 24 години оцінювали вираженість місцевої алергійної реакції, порівнюючи розміри набряку дослідної і контрольної лап шляхом визначення маси задніх кінцівок. Індекс реакції обчислювали за формулою (2):

$$IP = P_0 - P_к/P_к \cdot 100 \quad (2),$$

де: IP — індекс реакції; P_0 — маса дослідної лапи; $P_к$ — маса контрольної лапи.

Результати експериментів статистично обробляли за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення

У механізмі алергійних реакцій "негайного" типу, до яких належить активна шкірна анафілаксія, бере участь комплекс "антиген-антитіло", який викликає виділення одного з основних медіаторів алергії — гістаміну з клітинних депо. Гістамін відіграє важливу роль у процесах зміни судинно-тканинної проникності. Його

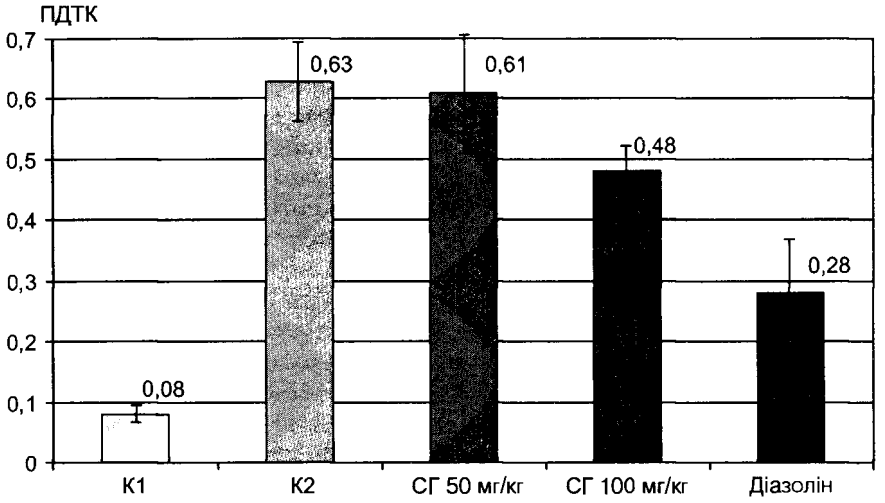

Рис. 2. Протиалергійна дія субстанції глюкорибіну в реакції дегрануляції тучних клітин. Умовні позначення: К1 — інтактний контроль; К2 — контроль сенсибілізований; СГ 50 мг/кг — субстанція глюкорибіну в дозі 50 мг/кг; СГ 100 мг/кг — субстанція глюкорибіну в дозі 100 мг/кг; діазолін — діазолін у дозі 6 мг/кг

Таблиця

Протиалергійна дія субстанції глюкорибіну в реакції гіперчутливості сповільненого типу у мишей

Препарат	Умови досліду	Доза,мг/кг	Кількість тварин	Індекс реакції
Контроль I	-	-	8	2,61±1,05
Контроль II	Парентеральна сенсибілізація	-	7	5,86±0,50
Діазолін		6	8	3,62±0,75*
Субстанція глюкорибіну		25	6	1,46±0,32*,**
		50	6	2,84±0,72*
		100	6	1,60±0,43*,**

*Відхилення статистично достовірне по відношенню до контролю II, P<0,05.
**Відхилення статистично достовірне по відношенню до діазоліну, P<0,05.

вплив на стінки капілярів шкіри викликає різке збільшення їхньої проникності, що призводить до виходу барвника в тканину. Діаметр зафарбованої плями в місці внутрішньошкірної ін'єкції антигену є показником місцевої анафілактичної реакції. Чим більший діаметр плями, тим виразніша реакція.

Дані рис. 1 свідчать про те, що діазолін і субстанція глюкорибіну вірогідно зменшують розміри зафарбованої плями на місці внутрішньошкірного введення антигену в порівнянні з контрольною групою.

Крім утворення зафарбованих плям великого діаметра, у контрольній групі тварин спостерігалася набряклість зони введення антигену і множинні точкові крововиливи, що вказує на початкову (судинну) стадію розвитку реакції на введений білок по типу реакції Артюса [2]. У дослідних групах ця реакція не спостерігалася.

Таким чином, субстанція глюкорибіну в дозах 50 і 100 мг/кг виявляє антиалергійну дію на моделі активної шкірної анафілаксії у морських свинок, сенсибілізованих альбуміном.

У алергійних реакціях "негайного" типу, прикладом яких був попередній експеримент, функцію клітин-мішеней виконують тучні клітини сполучної тканини. Дегрануляція клітин під дією комплексу "антиген-антитіло" приводить до "наповнення" організму біологічно активними речовинами.

З метою вивчення впливу субстанції глюкорибіну на виділення медіаторів алергії з тучних клітин було проведене дослідження in vitro на тучних клітинах перитонеального ексудату щурів.

Представлені на рис. 2 дані свідчать про те, що субстанція глюкорибіну у вивчених дозах 50 і 100 мг/кг на відміну від діазоліну слабо пригнічує дегрануляцію тучних клітин і не перешкоджає звільненню медіаторів алергійних реакцій "негайного" типу.

Враховуючи те, що в розвитку алергійного процесу виділяють імунологічну, патохімічну і патофізіологічну фази, співставлення результатів експериментів in vivo та in vitro дозволяє припустити відсутність впливу досліджуваної субстанції на патохімічну стадію алергійних реакцій "негайного" типу.

Протиалергійна активність глюкорибіну, найбільш імовірно, пов'язана або з впливом на активний гістамін чи гістамінові рецептори, або, що більш вірогідно для рослинної полісахаридної субстанції, з імуномодулюючою дією, пов'язаною з впливом на пригнічення вироблення антитіл.

На наступному етапі дослідження інтерес становило підтвердження імуномодулюючого ефекту глюкорибіну на моделі алергійної реакції "сповільненого" типу, яка дозволяє визначити здатність препарату впливати на клітинну імунологічну відповідь при введенні розрізнювальної дози алергену. Інтенсивність реакцій гіперчутливості сповільненого типу і їх тривалість залежать від строків формування і дії різноманітних субпопуляцій Т-супресорів, які пригнічують ГСТ.

Субстанція глюкорибіну (табл.) у вивчених дозах значно зменшує ступінь виразності реакції ГСТ у сенсибілізованих тварин, індекс реакції зменшується до рівня, який відповідає інтактному контролю. Діазолін чинить суттєво більш слабку дію ніж субстанція глюкорибіну в дозі 25 мг/кг.

З наведених даних видно, що протиалергійна активність субстанції глюкорибіну в реакції ГСТ також, очевидно, обумовлена її іму-

номодулюючими властивостями, а не спроможністю пригнічувати виділення гістаміну, який не приймає участі у розвитку ГСТ.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що субстанція глюкорибіну виявляє антиалергійну активність на моделі алергійної реакції "негайного" типу in vivo і виражену протиалергійну дію на моделі алергійної реакції сповільненого типу, яка перевищує протиалергійний ефект препарату порівняння "Діазоліну". Як показує аналіз одержаних результатів, протиалергійна активність полісахаридної субстанції глюкорибіну, найбільш імовірно, пояснюється її імуномодулюючими властивостями, що потребує подальшого експериментального підтвердження.

ВИСНОВКИ

1. Субстанція глюкорибіну з листя смородини чорної виявляє протиалергійну активність на моделі активної шкірної анафілаксії на рівні діазоліну.

2. У тесті непрямої дегранулюції тучних клітин in vitro досліджуваний препарат на відміну від діазоліну не показав стабілізуючого ефекту на мембрани тучних клітин, що свідчить про суттєві відмінності в механізмі дії глюкорибіну та діазоліну.

3. У реакції гіперчутливості сповільненого типу за протиалергійною активністю субстанція глюкорибіну вірогідно перевершує препарат порівняння "Діазолін", що, можливо, є результатом імуномодулюючої дії полісахаридної субстанції глюкорибіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Адо А.Д. Общая аллергология. — М.: Медицина, 1978. — С. 170.*
2. *Адо А.Д. Общая аллергология. — М.: Медицина, 1978. — С. 361-364.*
3. *Андреева И.Н., Сараф А.С., Макаров В.А. //Фармакол. и токсикол. — 1991. — Т. 54, №5. — С. 27-29.*
4. *Голышева М.А., Ирошникова Е.С., Адо В.А. //Вестник дерматол. и венерол. — 1991. — №12. — С. 50-53.*
5. *Гущин И. //Врач. — 1993. — №1. — С. 29-31.*
6. *Иммунологические методы / Под ред. Х.Фримеля. — М.: Медицина, 1987. — 472 с.*
7. *Ишимова Л.М. Тучные клетки соединительной ткани и базофилы крови в диагностике аллергии немедленного типа / Проблемы иммунологической реактивности и аллергии. — М.: Медицина, 1971. — С. 186.*
8. *Кисличенко В.С. //Фармац. журн. — 1997. — №3. — С. 54-57.*
9. *Новиков Д.К. Клиническая аллергология: Справ. пособие. — Мн.: Вышейш. шк., 1991. — 511 с.*
10. *Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. //Доклады АН СССР. — 1979. — Т. 246, №6. — С. 1513-1516.*
11. *Соколов С.Я., Замотаев И.П. Справочник по лекарственным растениям. — М., 1984. — 447 с.*
12. *Kitamura K. //J. Immunol. Methods. — 1980. — Vol. 39. — P. 277-283.*

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (0572) 45-00-86.
Національна фармацевтична академія України

Надійшла до редакції 10.02.2000 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду Державного науково-експертного центру лікарських засобів МОЗ України

Про побічну дію препарату **"Діакардин"** (табл. по 0,03 г) виробництва компанії "Leniva" (Чехія)

У хворого 53 років з ІХС, стенокардією напруги II ФК із вазоспастичним компонентом, постінфарктним міокардіосклерозом та НКО при застосуванні в комплексній фармакотерапії (одночасно пацієнт отримував аспірин) діакардину по 0,09 г на добу перорально на другий після початку прийому день з'явились почервоніння на шкірі тулуба, свербіння, а на третій день — висипи у вигляді папул, які зливалися. Препарат був відмінений, призначена додаткова фармакотерапія, але висипи наростали ще протягом двох діб, після чого почала відбуватись редукція симптомів зазначених побічних явищ, які зникли без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому не відомі.

Інформація надійшла від Інституту кардіології ім. М.Д.Стражеска АМН України (м. Київ).