

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ НОВОЇ ВІТЧИЗНЯНОЇ МАЗІ “ЕСТАН” НА РІЗНИХ МОДЕЛЯХ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ

Л.В.Яковлева, К.П.Бездітко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: протизапальні препарати; проктологічні захворювання; комбіновані мазі

Представлені результати вивчення протизапальної активності нової вітчизняної комбінованої мазі “Естан”, призначеної для місцевого лікування геморою та інших проктологічних захворювань. Мазь створено на основі екстракту кори дуба і екстракту насіння каштану кінського. Дослідження проведені на 40 білих мишах та 40 білих безпородних щурах. Використані моделі термічного запалення стопи у мишей, карагенінового і зимозанового запалення у щурів. Як препарати порівняння за спектром фармакологічної дії були вибрані мазь “Геморон”, мазь “Ауробін” і “Венозний гель Др. Тайсс”. Проведені дослідження показали, що мазь “Естан” проявляє виражену протизапальну активність, яка перевершує препарати порівняння. Механізм дії мазі “Естан” цілком вірогідно пов’язаний з пригніченням гістаміну, серотоніну, кінінів, лейкотрієнів, меншою мірою, простагландинів. Отримані результати підтверджують доцільність подальшого вивчення мазі “Естан” з метою створення нового препарату комбінованої дії для проктології.

Медикаментозне лікування проктологічних захворювань (гострого та хронічного геморою, анальної тріщини, проктиту) набуває все більшого значення, що обумовлюється їх значною поширеністю серед усіх верств населення (від 80 до 150 випадків на 100000 населення), тяжкістю перебігу та частим рецидивуванням [2]. Провідними клінічними ознаками цієї групи захворювань є ураження слизової оболонки прямої кишки різного ступеня тяжкості, яке супроводжується ознаками запалення, больовим синдромом, погіршенням місцевої мікроциркуляції. Досить часто, особливо при хронічному геморої та анальних тріщинах спостерігається нашарування на основний процес вторинної інфекції [7, 11]. Це обумовлює використання при зазначеній патології комплексних засобів місцевої дії, що поєднують протизапальні, анальгетичні властивості, сприяють ре-

паративним процесам слизової оболонки. На теперішній час на фармацевтичному ринку України кількість таких засобів обмежена. Практично всі вони закордонного виробництва, що значно підвищує їх вартість. Крім того, до складу більшості цих засобів входять НПЗЗ та глюкокортикоїди, які негативно впливають на репаративні процеси та протипоказані у випадках приєднання вторинної інфекції. З огляду на це актуальним є створення та впровадження у медичну практику нових вітчизняних препаратів на основі природної сировини для місцевого лікування проктологічних захворювань, які поєднують високу ефективність з безпечністю застосування та економічною доступністю для широких верств населення. Спеціалістами ВАТ “ХФЗ “Червона зірка” під керівництвом канд. біол. наук І.В.Трутаєва для місцевого лікування геморою та інших проктологічних

захворювань на основі екстракту кори дуба та екстракту з насіння кінського каштану була створена мазь “Естан”. Вивчення її протизапальної дії було метою даного дослідження.

Матеріали та методи

Дослідження проводили у ЦНДЛ НФаУ під керівництвом проф. Л.В.Яковлевої. Протизапальні властивості мазі “Естан” досліджували на різних моделях гострого запалення із уже доведеними механізмами розвитку: термічного запалення стопи у мишей, карагенінового та зимозанового набряків стопи у щурів [1]. Препаратами порівняння за спектром фармакологічної дії були обрані вже зареєстровані на ринку України мазь “Геморон” (Фармасайнс Інк, Канада; діючі речовини — жир печінки акул, фенілефрин), мазь “Ауробін” (“Gedeon Richter”, Угорщина; діючі речовини — преднізолон, D-пантенол, триклозан) та “Венозний гель Др. Тайсс” (“Др. Тайсс Натурварен ГмбХ”, Німеччина; діючі речовини — екстракт з насіння каштану кінсько-

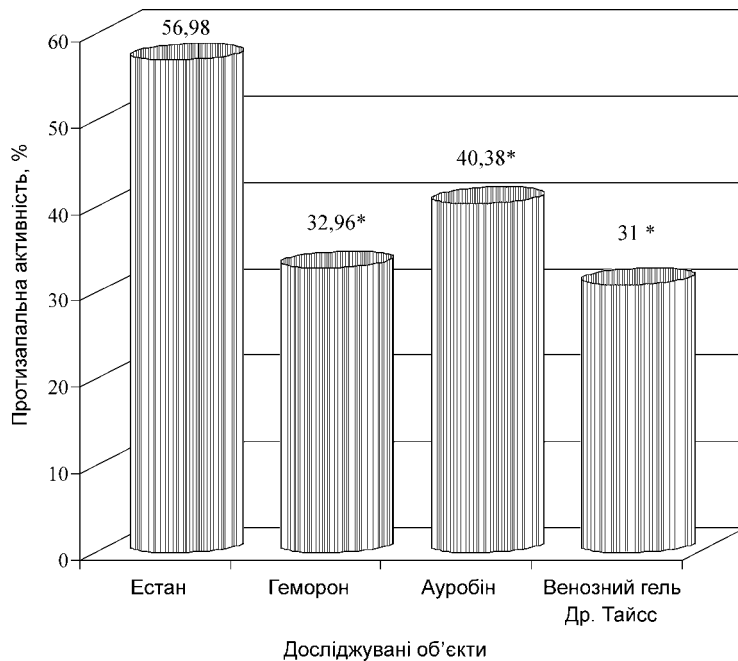


Рис. Протизапальна активність мазі "Естан" на моделі термічного запалення стопи у мишей

го та екстракт із квіток календули). Мазь "Естан" використовували в дозі 25 мг/см², препарати "Геморон", "Ауробін" та "Венозний гель Др. Тайсс" — 30 мг/см², 25 мг/см² та 20 мг/см² відповідно. Експериментальні дози були встановлені при проведенні попередніх досліджень та є оптимальними, що повністю всмоктуються у шкіру тварин та достатньо її зволожують.

Модель термічного запалення стопи у мишей відтворена на 40-а мишах-самцях з масою тіла 21,0-22,0 г, що були сформовані у 5 груп по 8 тварин у кожній. Перша група — позитивний контроль, друга, третя, четверта та п'ята — дослідні. Запалення відтворювали шляхом занурення задньої правої лапи мишей у воду з температурою 66,5±0,5°C на 4 с. Лікування тварин досліджуваною маззю та препаратами порівняння проводили 2 рази: відразу після опіку та через 2 год. Через 24 год після відтворення запалення мишей виводили з експерименту за допомогою дислокації шийних хребців під ефірним наркозом. Відрізали обидві задні лапки на рівні надступакомогомілкового суглоба, зважували на торсійних вагах марки "BT-500" і визначали різницю в масі між набряклою і здоровою

лапами [1]. Протизапальну активність досліджуваних об'єктів визначали за формулою:

$$ПА = \frac{\Delta M_k - \Delta M_d}{\Delta M_k} \cdot 100\%$$

де: ПА — протизапальна активність, %;

ΔM_k та ΔM_d — середня різниця в масі між набряклою та ненабряклою лапами у групі позитивного контролю та у дослідній групі.

Гострий карагеніновий набряк викликали у 40-а статевозрілих щурів-самців масою 185-200 г субплантарним введенням у праву задню стопу 0,1 мл 1% розчину карагеніну виробництва фірми "Sigma" (США) [1]. Щури були сформовані у 5 груп по 8 тварин у кожній. Мазь "Естан" та препарати порівняння наносили на праву задню стопу двічі: за 40 хв до ін'єкції флоготропного агента та через 20 хв після його введення. Тварин групи позитивного контролю не лікували. Про розвиток набряку судили за збільшенням об'єму лапи, який вимірювали у динаміці через 1, 2, 3, 4, 5 та 6 год за допомогою механічного онкометра за А.С.Захаревським [1]. Протизапальну активність (ПА) визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з тваринами групи по-

зитивного контролю та виражали у відсотках. Розрахунок проводили за формулою:

$$ПА = \frac{\Delta V_k - \Delta V_d}{\Delta V_k} \cdot 100\%$$

де: ПА — протизапальна активність, %;

ΔV_k та ΔV_d — середня різниця в об'ємі набряклої і ненабряклої стопи в групі позитивного контролю та в дослідній групі.

Зимозановий набряк викликали у 40-а статевозрілих щурів-самців масою 160-175 г субплантарним введенням 0,1 мл 2% суспензії зимозану виробництва фірми "Sigma" (США) у праву задню стопу [1]. Досліджувані об'єкти наносили на стопу на шкірно двічі: за 40 хв до субплантарного введення зимозану та через 15 хв після його введення. Тварин групи позитивного контролю не лікували. Об'єм стопи тварин вимірювали до введення зимозану і через 0,5, 1, 2, та 3 год після введення флогогенного агента за допомогою механічного онкометра за А.С.Захаревським. Активність препаратів оцінювали за спроможністю знижувати набряк у порівнянні з групою контрольної патології і розраховували у відсотках за вищенаведеною формулою (див. методику карагенінового набряку стопи у щурів).

Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики (вираховували середнє арифметичне та його стандартну помилку) за допомогою стандартного пакету "Statistica 6,0" з урахуванням рівня значущості $p \leq 0,05$. При порівнянні статистичних вибірок відносних перемінних, після того як однофакторний дисперсійний аналіз виявив відмінності між експериментальними групами, використовували критерій Ньюмана-Кейлса [4].

Результати та їх обговорення

Результати, отримані на моделі термічного запалення і представлені на рис., свідчать, що всі досліджувані об'єкти мають протизапальну дію, але активність мазі "Естан" значно перевершує дію препаратів порівняння.

Таблиця 1

Протизапальна активність мазі “Естан” та препаратів порівняння — мазі “Геморон” та гелю “Венозний гель Др. Тайсс” на моделі карагенінового набряку стопи у щурів у динаміці ($\bar{X} \pm S_x$)

Групи тварин	Показники	Доза, мг/см ²	Динаміка розвитку запалення, год					
			1 год	2 год	3 год	4 год	5 год	6 год
Позитивний контроль	ΔV , ум. од.	-	9,25±0,80	18,00±1,95	41,13±2,97	42,13±2,41	39,38±2,36	37,50±2,51
Мазь “Естан”	ΔV , ум.од.	25	4,63±0,92*	7,63±0,71*	28,25±2,02*	35,13±1,66	31,63±1,95*	29,88±2,22*
	Активність, %		50	57,6	31,3	16,6	19,7	20,3
Мазь “Геморон”	ΔV , ум. од.	30	5,63±1,21*	8,38±0,84*	34,50±2,19	40,13±0,85	37,25±1,19**	36,13±1,62
	Активність, %		39,2	53,5	16,1	4,7	5,4	3,7
Мазь “Ауробін”	ΔV , ум. од.	25	8,13±0,44**	14,50±1,04*/**	28,25±1,51*	26,25±2,34*/**	22,63±1,95*/**	21,38±1,75*/**
	Активність, %		12,2	19,4	31,3	37,7	42,5	43
Венозний гель Др. Тайсс	ΔV , ум. од.	20	6,13±0,72*	7,63±1,05*	35,50±1,24	40,37±2,00	38,13±1,43**	35,25±1,10
	Активність, %		33,8	57,6	13,7	4,2	3,2	6

Примітки:

- 1) * — відхилення достовірне щодо позитивного контролю (ANOVA, критерій Ньюмана-Кейлса), $p \leq 0,05$;
- 2) ** — відхилення достовірне щодо мазі “Естан” (ANOVA, критерій Ньюмана-Кейлса), $p \leq 0,05$;
- 3) ΔV — величина набряку;
- 4) $n=8$ — кількість тварин у кожній групі.

Модель карагенінового набряку є класичною моделлю для вивчення протизапальних властивостей лікарських препаратів і широко використовується в експериментальній фармакології. Відомо, що у механізмі розвитку карагенінового набряку стопи у щурів у перші 30-90 хв беруть участь гістамін і серотонін, в інтервалі між 1,5-2,5 год — кініні, а між 2,5-5,5 год — простагландини (ПГ) [1].

На цій моделі мазь “Естан” проявила протизапальну активність протягом усього терміну дослідження (табл. 1). На 1-й год спостереження на її тлі набряк ураженої кінцівки пригнічувався достовірно щодо позитивного контролю на 50%, а на 2-й год була зареєстрована максимальна (57,6%) протизапальна активність досліджуваної мазі. У цей період протизапальна дія мазі “Естан” не поступалася активності препаратів порівняння “Геморон” і “Венозний гель Др. Тайсс” та достовірно перевищувала дію препарату “Ауробін”. З 3-ї год експерименту протизапальна активність мазі “Естан” знижувалась, але під її впливом спостерігалися достовірні відмінності щодо показ-

ника набряку позитивного контролю на 3-й, 5-й та 6-й год експерименту; на 4-й год була зареєстрована тенденція ($p=0,07$) до пригнічення запалення. Під впливом препаратів “Геморон” і “Венозний гель Др. Тайсс” з 3-ї по 6-у год спостереження ступінь набряку стопи у щурів не мав достовірних відмінностей щодо показника позитивного контролю. Активність мазі “Ауробін” з 3-ї год розвитку запалення значно підвищилась та зрівнялась з маззю “Естан”. Протягом 4-6-ї год під впливом мазі “Ауробін” ступінь набряку був достовірно меншим за аналогічний показник у групах позитивного контролю та мазі “Естан”.

Таким чином, динаміка протизапальної активності досліджуваної мазі “Естан” на моделі карагенінового запалення дає можливість стверджувати, що компоненти даної мазі пригнічують такі медіатори запалення як серотонін, гістамін, у значній мірі впливають на кініні. Мазь “Естан” пригнічує на рівні препаратів порівняння “Геморон” та “Венозний гель Др. Тайсс” і значно більш виразно, ніж мазь “Ауробін”. Мазь “Естан” також здатна

помірно інгібувати синтез ПГ, а у препаратів “Геморон” та “Венозний гель Др. Тайсс” ця дія відсутня.

Пригнічуючий вплив мазі “Естан” на гістамін, серотонін та кініні, цілком вірогідно, реалізується за рахунок екстракту каштану кінського. За даними літератури, есцин, що входить до його складу, інгібує активність серотоніну та гістаміну [3, 10]. На етапі дії включення кінінів у патогенез гострого запалення він стимулює утворення α_2 -глобуліну, який, у свою чергу, інгібує систему кініногенезу. Дія на простагландинову ланку запалення також може бути обумовлена здатністю есцину пригнічувати простагландини [3, 6], а ще, можливо, реалізується за рахунок виражених антиоксидантних і, як наслідок цього, мембраностабілізуювальних і судинозміцнювальних властивостей БАР як екстракту кори дуба (поліфеноли групи ДР та ін.), так і екстракту каштану кінського (есцин та ін.) [5, 8]. Ефективність гелю “Венозний гель Др. Тайсс” обумовлена активністю каштану кінського, а мазі “Геморон” пов’язана з дією вітаміну Е та судинозвужувальною активністю фенілефрину. Проти-

Таблиця 2

Вплив мазі “Естан” та препаратів порівняння — мазей “Геморон” та “Ауробін” і гелю “Венозний гель Др. Тайсс” на розвиток запалення на моделі зимозанового набряку стопи у щурів у динаміці ($\bar{X} \pm S_x$)

Групи тварин	Показники	Доза, мг/см ²	Динаміка розвитку запалення, год			
			0,5 год	1 год	2 год	3 год
Позитивний контроль	ΔV , ум. од.	-	19,88±1,80	19,38±1,68	16,38±2,06	12,50±1,68
Мазь “Естан”	ΔV , ум. од.	25	13,38±1,31*	11,50±0,76*	9,00±0,33*	8,13±0,40
	Активність, %		32,7	40,6	45	35
Мазь “Геморон”	ΔV , ум. од.	30	13,25±1,03*	14,75±0,92*	14,50±1,68**	11,75±1,60
	Активність, %		33,3	23,9	11,5	6
Мазь “Ауробін”	ΔV , ум. од.	25	11,50±1,13*	8,63±1,63*	6,38±1,15*	4,13±1,04*/**
	Активність, %		42,1	55,5	61,1	67
Венозний гель Др. Тайсс	ΔV , ум. од.	20	14,75±1,11*	14,63±1,16*	12,88±1,26	10,50±0,63
	Активність, %		25,8	24,5	21,4	16

Примітки:

1) * — відхилення достовірне щодо позитивного контролю (ANOVA, критерій Ньюмана-Кейлса), $p \leq 0,05$;

2) ** — відхилення достовірне щодо мазі “Естан” (ANOVA, критерій Ньюмана-Кейлса), $p \leq 0,05$;

3) ΔV — величина набряку;

4) $n=8$ — кількість тварин у кожній групі.

запальна активність мазі “Ауробін” реалізується за рахунок дії преднізолону. Відомо, що глюкокортикостероїди (ГКС) не мають вираженого впливу на гостру фазу запалення, що обумовлює низьку активність мазі на 1-й та 2-й год дослідження. Протизапальний ефект ГКС пов’язаний з інгібуванням фосфоліпази А₂, яка контролює утворення простагландинів (простагландинів, тромбоксану), лейкотрієнів та фактора, що активує тромбоцити (ФАТ). Саме тому мазь “Ауробін” на цій моделі була найбільш активною у період простагландинового запалення.

Оскільки відомо, що одним з чинників запалення є лейкотрієни (ЛТ), а складові мазі “Естан” (екстракт каштану кінського та екстракт кори дуба) містять флавоноїди та дубильні речовини, які за даними літератури впливають на ці медіатори запалення [3, 5, 9], було доцільним провести дослідження протизапальної активності цієї мазі на моделі гострого зимозанового набряку. Зимозан — структурний полісахарид клітинної оболонки дріжджів, здатний викликати локальну гостру запальну реакцію. Лейкотрієни розглядаються як одні з найбільш

важливих медіаторів на ранній стадії зимозанового запалення, а інгібітори ферменту ліпооксигенази (ЛО), що бере участь в їх утворенні, здатні запобігати розвитку цього запалення [1]. Результати експерименту наведені у табл. 2.

Через півгодини та годину після введення зимозану (у період лейкотрієнового запалення) мазь “Естан” та всі препарати порівняння достовірно не поступались один одному за виразністю протизапальної дії. Через 2 год мазь “Естан” достовірно пригнічувала запалення, не поступаючи мазі “Ауробін”. У препаратів “Геморон” та “Венозний гель Др. Тайсс” у цей період протизапальної дії не зареєстровано. На 3-ій год на тлі лікування маззю “Естан” реєстрували тенденцію ($p=0,06$) до пригнічення набряку. Мазь “Ауробін” у цей час проявляла максимальну (67%) протизапальну активність на даній моделі.

Наведена динаміка протизапальної активності досліджуваних препаратів на моделі зимозанового запалення дає змогу припустити, що всі вони мають майже однаковий пригнічуючий вплив на такі медіатори запалення як

ЛТ. Мазь “Естан” також певною мірою здатна впливати на циклооксигеназу (ЦО) та пригнічувати синтез ПГ, хоча і поступається у цьому мазі “Ауробін”.

Встановлений вплив мазі “Естан” на ЛТ підтверджує дані літератури про інгібуючу дію на ці медіатори запалення біофлавоноїдів, що містяться в екстракті каштану кінського та у екстракті кори дуба [3, 5, 8, 9]. Протизапальну активність мазі по відношенню до ПГ підтверджують і пояснюють результати попередніх досліджень (див. модель карагенінового запалення).

Таким чином, проведені дослідження показали, що мазь “Естан” за виразністю протизапальної активності перевершує препарати порівняння “Геморон”, “Венозний гель Др. Тайсс” та “Ауробін”. Механізм дії мазі “Естан” цілком вірогідно пов’язаний з пригніченням, у першу чергу, таких медіаторів запалення як гістамін, серотонін, кініни, ЛТ та у значно меншій мірі ПГ.

ВИСНОВКИ

1. Мазь “Естан” проявляє достовірну протизапальну активність відносно позитивного контролю на моделях карагенінового,

зимозанового запалення та термічного набряку стопи у мишей.

2. Механізм дії мазі “Естан” цілком вірогідно пов’язаний з пригніченням, у першу чергу, таких медіаторів запалення як гістамін,

серотонін, кініні, ЛТ та у значно меншій мірі ПГ.

3. Протизапальна активність мазі “Естан” перевершує дію мазей “Геморон”, “Ауробін” та гелю “Венозний гель Др. Тайсс”.

4. Результати проведених досліджень свідчать про доцільність більш поглибленого вивчення мазі “Естан” з метою створення нового препарату місцевої дії для лікування проктологічних захворювань.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
2. Иофе А.Ю., Ткач С.М., Кузенко Ю.Г. //Сучасна гастроентерологія. — 2005. — №2. — С. 92-95.
3. Куцик Р.В., Зузук Б.М., Дьячок В.В. //Провизор. — 2002. — №4. — С. 28-33.
4. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабиц П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — 2001. — 320 с.
5. Сахарова Т.С., Герасимова О.А. Изучение механизмов противовоспалительного действия новых растительных полифенольных препаратов //IX Росс. нац. конгр. “Человек и лекарство”, 8-12 апреля 2002. — М., 2002. — С. 689.
6. Babak Mohajer, Thomas Y. Ma. //Prostaglandins and Lipid Mediators. — 2000. — Vol. 61. — P. 125-143.
7. Carapeti E.A., Phillips R.K.S. Treatment of hemorrhoids. In: J.Beynon, N.D.Carr (Eds): Recent advances in coloproctology. — Springer-Verlag London Limited, 2000. — P. 155-166.
8. Hassig A., Liang W.X., Schwabl H. et al. //Med. Hypotheses. — 1999. — Vol. 52, №5. — P. 479-481.
9. Lin C.C., Hsu Y.F., Lin T.C. //Anticancer Res. — 2001. — Vol. 21, №1A. — P. 237-243.
10. Lynnette R. //Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. — 2001. — Vol. 475, №1-2. — P. 89-111.
11. Wasvary H.J., Hain J., Mosed-Vogel M. et al. //Dis. Colon Rectum. — 2001. — Vol. 44 (8). — P. 1069-1073.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 714-27-15.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.05.2008 р.