Рекомендована д.ф.н., професором Т.С.Сахаровою

УДК 615.322:582.734.3: 616.72-002.77

ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ НА МОДЕЛІ АД'ЮВАНТНОГО АРТРИТУ У ЩУРІВ

Г.В.Кононенко, С.М.Дроговоз, К.Г.Щокіна

Національний фармацевтичний університет

Досліджена антиексудативна активність екстракту листя горобини звичайної на моделі ад'ювантного артриту у щурів. Екстракт горобини звичайної чинить нормалізуючий вплив на біохімічні показники крові, позитивно впливає на вільнорадикальне окиснення та антиоксидантну систему. Також під впливом досліджуваного препарату спостерігалася нормалізація показників ШОЕ та зменшення загальної кількості лейкоцитів.

Провідною патогенетичною ланкою багатьох захворювань, у тому числі і ревматичних хвороб (РХ), які становлять близько 80% патології в практиці лікаря будь-якої спеціальності, є запальний процес [12, 13]. Основною групою препаратів, які застосовуються в ревматології, є нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ). Їх арсенал нараховує понад 80 препаратів і приблизно 1000 створених на їх основі моно- і багатокомпонентних дженериків. Однак поряд із достатнім ступенем клінічної ефективності всі вони спричиняють ряд серйозних побічних ефектів [11, 14]. У зв'язку з цим актуальним залишається пошук високоефективних лікарських засобів, що пригнічують запалення і володіють мінімальними побічними ефектами. Одним із напрямків створення нових протизапальних засобів є пошук рослинних лікарських препаратів з протизапальними властивостями серед фармакопейних рослин. Вони утворюють достатню сировинну базу, мають малу токсичність, широкий спектр дії, не викликають значних побічних ефектів на відміну від синтетичних речовин, а також більш м'яку, але досить ефективну дію [3]. Горобина звичайна є однією з рослин з потенційними протизапальними властивостями, до того ж вона здавна широко використовується в народній медицині [3]. Дані літератури свідчать про те, що протизапальна активність листя горобини визначається її хімічним складом. Так, її БАР: сорбінова, парасорбінова, аскорбінова кислоти, вітамін А, органічні кислоти, вуглеводи впливають на етіологічні фактори запалення (інфекційне, токсичне, радіаційне пошкодження); флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, антоціани, білкові речовини, макро- та мікроелементи – на патогенез запалення; флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, вітаміни А та С, антоціани, білкові речовини, макро- та мікроелементи – на клінічні прояви запалення (набряк, t°, біль) [3, 4]. Все вищенаведене є обґрунтуванням для вивчення густого екстракту горобини звичайної в якості потенційного протизапального засобу.

Матеріали та методи

Об'єкт дослідження – густий водний екстракт горобини звичайної, отриманий на кафедрі фармакогнозії НФаУ під керівництвом доцента О.В.Криворучко. Поглиблене вивчення протизапальної активності екстракту горобини звичайної проводили на моделі ад'ювантного артриту у щурів згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [1].

Модельну патологію відтворювали одноразовим введенням субплантарно ад'юванту Фрейнда («Difco laboratory», США) в дозі 0,1 мл на 1 тварину [1]. Референтним препаратом був обраний класичний антифлогістик диклофенак натрію виробництва «Червона зірка» (Україна). Досліди проводили на білих щурах лінії Вістар вагою 200-250 г. Тварини були поділені на 4 групи: 1 група – інтактний контроль, 2 група – щури, яким вводили ад'ювант Фрейнда; 3 група – тварини, яким вводили ад'ювант Фрейнда + густий екстракт горобини звичайної в дозі 100 мг/кг; 4 група – щури, які отримували ад'ювант Фрейнда, а також диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг. Така доза фармакологічного препарату горобини була визначена як умовно-терапевтична в скринінгових дослідах на моделях карагенінового та зимозанового набряків у щурів [1].

Досліджувані препарати вводили внутрішньошлунково в лікувальному режимі один раз на добу протягом усього досліду (21 день) [1, 8]. Вплив препаратів на розвиток і перебіг ад'ювантного артриту оцінювали за зменшенням набряку кінцівок (планіметрично), нормалізацією біохімічних показників крові: час згортання крові та загальна кількість лейкоцитів, аланінамінотрансфераза (АлАТ), аспартатамінотрансфераза (АсАТ), загальний білок, ТБК-АП, лужна фосфатаза, сіалові кислоти, відновлений глутатіон [1, 7, 8]. Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) і загальну кількість еритроцитів протягом досліду реєстрували три рази: вихідний стан, на 12 добу (початок генералізованого артриту) та наприкінці дослідження – на 22 добу: лейкоцити підраховували в камері Горяєва, ШОЕ визначали мікрометодом Т.П.Панченкова. Інші біохімічні показники визначали на 22 добу дослідження [1, 2]: процеси руйнування клітин – за активністю маркерних ферментів

Таблиця 1

Вплив екстракту горобини звичайної на динаміку розвитку набряку на тлі ад'ювантного артриту, M±m (n=6)

Доба досліду	Об'єм набряку (в умовних одиницях) / антиексудативна активність (%)				
	контрольна патологія	екстракт горобини звичайної	А	диклофенак натрію	А
Вихідні дані	60,2±1,3	57,8±2,4	-	63,3±1,4	-
1 доба	84,7±2,4	81,8±3,4	-	82,8±2,4	20,4
5 доба	84,2±3,2	77,0±2,8	20,0	81,6±2,6	23,3
7 доба	80,5±3,1	73,5±1,9	22,7	78,3±3,1	26,1
9 доба	79,8±2,4	72,6±2,2	24,5	77,3±2,0	28,6
12 доба	81,2±2,9	72,4±2,9	30,5	76,2±2,0	38,6
15 доба	77,7±2,4	69,5±2,6	33,1	73,7±2,2	40,6
19 доба	76,7±2,7	66,0±1,9	50,3	70,1±2,6	58,2
21 доба	73,9±2,7	63,6±2,4	56,2	67,3±1,8	70,8
$А_{сер.}$%			29,6%		38,3%

Примітки: А – антиексудативна активність в %.

цитолізу АлАТ та АсАТ; запальний процес з руйнуванням сполучної тканини – за рівнем сіалових кислот; наявність захворювань кісткової системи – за вмістом лужної фосфатази (ЛФ); стан білоксинтетичної функції організму – за вмістом загального білка. Інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) визначали за рівнем ТБК-АП, стан антиоксидантної системи (АОС) організму тварин – за вмістом ВГ. Активність АсАТ, АлАТ визначали методом Райтмана-Френкеля, вміст СК – методом Гесса, ЛФ – методом Бесселя-Лоурі-Брока, рівень ЗБ – за біуретовою реакцією, вміст ВГ – методом, описаним Beutler E.D. et al., рівень ТБК-АП проводили за реакцією з 2-тіобарбітуровою кислотою спектрофотометрично методом І.Д.Стальної, Т.Г.Гарішвілі за допомогою біохімічних наборів вітчизняного виробництва [2, 5, 6].

Вимірювання об'єму набряку лап щурів проводили планіметричним методом у динаміці на 1, 5, 7, 9, 12, 15, 17, 19 та 21 добу дослідження. Статистична обробка результатів проведена за допомогою системи Excel MS Office з використанням методів параметричної статистики Манна-Уїтні та Ньюмана-Кейлса [8].

Результати та їх обговорення

Отримані результати наведено в табл. 1.

Максимальний набряк кінцівок у групах контрольної патології та у групах тварин, яких лікували екстрактом горобини звичайної та диклофенаком натрію? спостерігався на 1 добу досліду, потім набряк почав спадати. Референтний препарат почав проявляти активність (20,4%) з першого дня застосування, тоді як у групі тварин, яких лікували екстрактом горобини звичайної, об'єм набряку не відрізнявся від групи контрольної патології. На 5 добу досліду екстракт горобини звичайної виявляв протизапальну активність 20%, а референтний препарат – 23,3%. На 7 та 9 добу досліду екстракт горобини звичайної поступався активності препарату порівняння в 1,2 рази. На 12 добу в групі тварин, яких лікували екстрактом горобини звичайної, антиексудативна активність становила 30,5%, в групі щурів, які отримували диклофенак натрію – 38,9%. Поступово протизапальна активність екстракту горобини звичайної підвищувалася: на 15 добу досліду вона дорівнювала 33,1%, але не перевищувала активність препарату порівняння (40,6%). Максимальну антиексудативну активність досліджувані препарати виявили на 21 добу: екстракт горобини звичайної – 56,2%, а диклофенак натрію – 70,8%.

Середня антиексудативна активність екстракту горобини звичайної протягом досліду складала 29,6% та дещо поступалася дії референтного препарату (38,3%).

На 12 добу (пік розвитку модельної патології) та 22 добу у щурів визначали клінічні показники крові: кількість лейкоцитів та ШОЕ (табл. 2).

Застосування препаратів, що вивчалися, сприяло достовірній нормалізації кількості лейкоцитів та ШОЕ. Так, при застосуванні екстракту горобини звичайної кількість лейкоцитів на 12 добу досліду збільшилась тільки в 1,3 рази, тоді як у групі контрольної патології цей показник підвищився втричі (табл. 2). У групі тварин, яких лікували препаратом порівняння, рівень лейкоцитів підвищився в 1,5 рази на 12 добу, а на 22 добу – лише в 1,2 рази в порівнянні з вихідним контролем. На 22 добу кількість лейкоцитів у тварин, яких лікували екстрактом горобини звичайної, не перевищував показник вихідного контролю. В групі контрольної патології на 22 добу кількість лейкоцитів достовірно перевищувала вихідний контроль у 2,4 рази (табл. 2).

Таблиця 2

Динаміка лейкоцитозу та ШОЕ під впливом екстракту горбини звичайної та диклофенаку натрію на моделі ад'ювантного артриту у щурів (n=6)

Група тварин	Доба досліду		
	вихідний фон	12 день	22 день
Загальна кількість лейкоцитів х 10^9 /л			
Інтактний контроль	11,3±0,2	12,1±0,9	11,0±1,0
Контрольна патологія	11,2±0,4	32,2±0,5*	27,0±2,6*
Екстракт горобини звичайної	11,4±0,6	15,1±0,7**	11,4±1,6**
Диклофенак натрію	11,6±0,7	17,4±0,4**	14,0±1,3**
ШОЕ, мм/год			
Інтактна група	3,8±0,4	3,9±0,8	3,8±0,2
Контрольна патологія	4,2±0,5	19,6±2,1*	9,6±1,0*
Екстракт горобини звичайної	4,1±0,9	8,6±2,2*/**	4,5±1,6**
Диклофенак натрію	4,0±0,8	8,7±1,7*/**	4,4±0,3**

Примітки: * – відмінності достовірні по відношенню до вихідного контролю, (p<0,05); ** – відмінності достовірні по відношенню до контрольної патології, (p<0,05); n – кількість тварин.

У групах тварин, яких лікували екстрактом горобини звичайної та диклофенаком натрію, ШОЕ на 12 добу експерименту перевищувала вихідні показники в 2,1 та 2,2 рази, відповідно. Проте протягом усього експерименту ШОЕ у крові тварин, що отримували екстракт горобини звичайної та диклофенак натрію, була вдвічі нижчою за показники у тварин з групи контрольної патології. На 22 добу у тварин, які отримували екстракт горобини звичайної та препарат порівняння, ШОЕ достовірно не відрізнялася від вихідного контролю (табл. 2).

Під дією досліджуваних препаратів на 22 добу досліду спостерігалося зменшення запальних процесів у піддослідних тварин, про що свідчить зниження маркера цитолізу АлАТ під впливом екстракту горобини звичайної та диклофенаку натрію до рівня інтактного контролю.

Активність АсАТ у тварин, які отримували екстракт горобини звичайної та диклофенак натрію, достовірно відрізнялася від показника в групі тварин інтактного контролю та була в 1,7 рази нижче, ніж у групі контрольної патології.

Під дією патологічного чинника рівень загального білка знижувався в 1,5 рази у групі контрольної патології, проте застосування досліджуваних препаратів сприяло нормалізації цього показника. Під дією диклофенаку натрію рівень загального білка був в 1,2 рази нижче від показника інтактного контролю на відміну від групи тварин, яких лікували екстрактом горобини звичайної, у яких цей показник був на рівні інтактного контролю.

Запальні захворювання, до яких належить ревматоїдний артрит, супроводжуються підвищенням рівня сіалових кислот. Останні утворюються при розпаді сполучної тканини, оскільки при ревматичних хворобах уражається саме сполучна тканина, що супроводжується підвищенням рівня сіалових кислот у крові [5, 9]. Досліджувані препарати знижують вміст сіалових кислот: екстракт горобини звичайної – в 1,2 рази, а диклофенак натрію – в 1,3 рази в порівнянні з групою контрольної патології.

Підвищення рівня лужної фосфатази свідчить про високу вірогідність захворювань кісткової системи [10]. На тлі застосування екстракту горобини звичай-

Таблиця 3

Вплив екстракту горобини звичайної та диклофенаку натрію на біохімічні показники в сироватці крові тварин на моделі ад'ювантного артриту (22 доба), n=6

Показники	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Екстракт горобини звичайної	Диклофенак натрію
АлАТ, мкмоль/ год×мл	1,66±0,2	2,91±0,2*	1,67±0,2**	1,51±0,2**
АсАТ, мкмоль/ год×мл	2,80±0,1	4,94±0,3*	2,86±0,1**	2,84±0,3**
Загальний білок, г/л	67,13±2,1	43,39±1,4*	68,4±2,4**	53,39±1,9**
Сіалові кислоти, ммоль/л	67,1±1,7	97,52±2,3*	82,15±3,4**	72,89±2,8**
Лужна фосфатаза, мкмоль/(с×л)	1,83±0,1	2,97±0,1*	1,50±0,2**	1,98±0,2**
ТБК-АП, ммоль/л	0,62±0,1	1,29±0,1*	0,55±0,1**	0,99±0,1*
Відновлений глутатіон, ммоль/л	8,45±0,7	3,43±0,2*	7,76±1,0*/**	3,56±0,2*

Примітки: * – відмінності достовірні по відношенню до інтактного контролю, (p<0,05); ** – відмінності достовірні по відношенню до контрольної патології, (p<0,05); n – кількість тварин.

ної активність лужної фосфатази порівняно з показником групи контрольної патології зменшилася в 2 рази, а диклофенаку натрію – 1,5 рази.

На фоні застосування екстракту горобини звичайної і диклофенаку натрію (в порівнянні з групою контрольної патології) спостерігалося зниження інтенсивності процесів ВРО, про що свідчить зменшення рівня ТБК-АП під впливом екстракту горобини звичайної в 2,3 рази, а диклофенаку натрію – в 1,3 рази. Тоді як підвищення вмісту ВГ під впливом досліджуваних препаратів свідчить про поліпшення стану антиоксидантної системи. Так, при застосуванні екстракту горобини звичайної спостерігалося підвищення рівня ВГ в порівнянні з групою контрольної патології в 2,3 рази. У групі тварин, яких лікували препаратом порівняння, рівень ВГ не відрізнявся від групи контрольної патології.

ВИСНОВКИ

На моделі ад'ювантного артриту екстракт горобини звичайної виявив антиексудативну активність (28,9%), проте поступався диклофенаку натрію (38,5%). Також під впливом досліджуваних препаратів спостерігалася нормалізація показників ШОЕ та зменшення загальної кількості лейкоцитів.

Екстракт горобини звичайної, як і референтний препарат, нормалізував біохімічні показники крові: активність АлАТ, АсАТ, рівень загального білка, сіалових кислот, лужної фосфатази. Він позитивно впливав на процеси вільнорадикального окиснення (ТБК-АП) та антиоксидантну систему (ВГ) на відміну від препарату порівняння, який не чинив достовірної антиоксидантної дії.

Такий позитивний вплив екстракту горобини звичайної на патогенез запалення суглобів (процеси ексудації, альтерації, проліферації) обумовлений наявністю в ньому таких БАР, як флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, антоціани, білкові речовини, макро- та мікроелементи; на вільнорадикальне окиснення – флавоноїдів, фенолкарбонових кислот, вуглеводів, вітамінів, макро- та мікроелементів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомend. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.*
2. *Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х т. – Мн: Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.*
3. *Кононенко А.В., Дроговоз С.М., Криворучко О.В. // Вісник фармації. – 2012. – №3 (71). – С. 72-74.*
4. *Кононенко А.В., Дроговоз С.М., Криворучко О.В. та ін. // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, №2. – С. 51-54.*
5. *Левченко В.І., Новожитская Ю.М., Сахнюк В.В. та ін. Біохімічні методи дослідження крові хворих: Метод. рекомend. для лікарів хім.-токсикол. відділів держ. лабораторій ветеринарної медицини України. – К., 2004. – 104 с.*
6. *Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: Справ. / Под ред. В.В.Меньшикова. – М.: Медицина, 1997. – 368 с.*
7. *Bunch D.R., Wang S. // Clinical Chemistry. – 2011. – Vol. 57, №10. – P. 205.*
8. *Evangelia Yannaki, Anastasia Papadopoulo, Evangelia Athanasiou // Arthritis & Rheumatism. – 2010. – Vol. 62, №11. – P. 3277-3288.*
9. *Franchini M., Veneri D., Lippi G. // Clinical Laboratory. – 2007. – №53. – P. 63-68.*
10. *Gonzalez C., Hernandez-Cruz B., Rico-Borrego M.J. et al. // Clinical Chemistry. – 2009. – Vol. 55, №6. – P. 127.*
11. *John J. Cush, Kathryn H. Dao // Drug Safety Quarterly. – 2012. – Vol. 4 (3). – P. 1-2.*
12. *Kristin Palmsten, Sonia Hernández-Díaz, Bindee Kuriya et al. // Arthritis Care & Res. – 2012. – Vol. 64, №11. – P. 1730-1738.*
13. *Lippi G., Franchini M., Guidi G.C. // British J. of Sports Medicine. – 2006. – №40. – P. 661-662.*
14. *Simon Tarp, Else M. Bartels, Henning Bliddal et al. // Arthritis & Rheumatism. – 2012. – Vol. 64, №11. – P. 3511-3521.*

УДК 615.322:582.734.3:616.36-002

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ НА МОДЕЛИ АДЪЮВАНТНОГО АРТРИТА У КРЫС

А.В.Кононенко, С.М.Дроговоз, Е.Г.Щокина

Исследована антиэкссудативная активность экстракта листьев рябины обыкновенной на модели адъювантного артрита у крыс. Экстракт рябины обыкновенной оказывал нормализующее влияние на биохимические показатели крови, положительно влиял на свободнорадикальное окисление и антиоксидантную систему. Также под влиянием исследуемого препарата наблюдалась нормализация показателей СОЭ и уменьшение общего количества лейкоцитов.

UDC 615.322:582.734.3:616.36-002.

THE STUDY OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF SORBUS AUCUPARIA LEAVES DENSE EXTRACT ON THE MODEL OF ADJUVANT ARTHRITIS IN RATS

G.V.Kononenko, S.M.Drogovoz, K.G.Shchokina

This article presents the study of the anti-exudative activity of Sorbus aucuparia leaves extracts on the model of adjuvant arthritis in rats. Sorbus aucuparia extract normalizes biochemical parameters of the blood, has a positive effect on the free-radical oxidation and antioxidant system. Under the influence of the medicine studied normalization of ESR parameters and reduction of the total number of leukocytes have been observed and.