

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ МЕТАКРУКСА НА ТЕЧЕНИЕ АДЪЮВАНТНОЙ БОЛЕЗНИ

М. В. Савохина

Национальный фармацевтический университет (Харьков)

Введение

Фармакотерапия ревматических заболеваний продолжает оставаться одной из наиболее сложных проблем современной клинической медицины. Этиология многих болезней недостаточно изучена, что представляет определенные трудности в проведении эффективной и безопасной этиотропной терапии. Результаты научных исследований патогенеза в последние годы расширил знания о структурных и функциональных особенностях системы иммунитета, механизмах развития иммунного ответа и воспаления при ревматических заболеваниях [3].

В настоящее время для лечения ревматических заболеваний используется большое число лекарственных средств с различными фармакологическими механизмами действия, относящихся к различным химическим классам, общим свойством которых является способность подавлять развитие процессов экссудации [6,9,10,11]. Несмотря на выраженную противовоспалительную активность стероидных и нестероидных противовоспалительных средств, они могут проявлять отрицательные реакции на организм больного: повреждают желудочно-кишечный тракт, нарушают функцию печени и почек, подавляют пролиферацию хондроцитов. Кроме того, регистрируются нарушения кроветворения, наблюдаются изменения со стороны ЦНС [2,4,5,14]. Множественность неблагоприятных реакций, свойственная современным противовоспалительным средствам, указывает на актуальность проблемы поиска новых противовоспалительных препаратов для лечения ревматических заболеваний.

В качестве источника фармакологически активных веществ синтетического происхождения выявлены новые, впервые синтезированные, органические производные акридинина [1,12].

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

На основании проведенного фармакологического скрининга для доклинического изучения отобрана пиперидиновая соль 4-метокси-6-метил-акридинил-9-тиоуксусной кислоты (условное название "Метакрукс"), обладающего выраженным антиэкссудативным, анальгетическим и диуретическим действием. Экспериментально доказана перспективность проведения первой фазы клинических испытаний метакрукса в качестве противовоспалительного средства нестероидной структуры.

Связь работы с научными программами, планами, темами. Работа выполнена в соответствии с основным планом научно-исследовательских работ Национального фармацевтического университета (№ государственной регистрации 01.01.0003124, шифр темы ВН 10.07.0030.02).

Целью исследования изучено влияние метакрукса на течение адьювантной болезни в опытах на лабораторных животных.

Материалы и методы исследования

Для проведения экспериментального изучения специфической фармакологической активности в условиях полукрупного синтеза наработан порошок-субстанция метакрукса на кафедре неорганической химии Запорожского государственного медицинского университета. Метакрукс представляет собой белый кристаллический порошок без запаха, растворим в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, ледяной уксусной кислоте, водных растворах щелочей, трудно растворим в воде, нерастворим в эфире. Специфическую фармакологическую активность метакрукса, изучали в соответствии с методическими рекомендациями по экспериментальному (доклиническому) исследованию нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ [8].

Наиболее информативной для экспериментальной оценки противовоспалительной активности исследуемых соединений при заболеваниях суставов является модель адьювантного артрита. Экспериментальная болезнь животных, вызываемая введением адьюванта Фрейнда характеризуется комплексом воспалительных изменений с преобладанием пролиферативного компонента, локализующихся главным образом в суставах или окружающих тканях, в коже и в лимфоидной ткани и используется как экспериментальная модель для изучения ревматоидного артрита [13].

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії

Адьювантную болезнь моделировали на белых крысах 6-и месячного возраста массой 205-220 г. Экспериментальный синдром вызывали субплантарным введением 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда, который являлся взвесью убитой при 100°C вакцины БЦЖ в вазелиновом масле, с целью исследования инокуляции адьюванта в течение 28 дней [13]. Лечебно-профилактический эффект учитывали по способности метакрукса уменьшать отек лап, вторичные воспалительные изменения, периметр хвоста и нормализовать следующие гематологические показатели: скорость оседания эритроцитов (СОЭ), изменения лейкоцитарной формулы, время свертывания крови; предотвращать деструктивные изменения тканей коленных и голеностопных суставов, а также способности уменьшать изменения миокарда [8].

Объем пораженной лапки измеряли онкометрическим методом. Гематологические показатели регистрировали трижды: исходный фон на 14 сутки и на 28 сутки. Лейкоциты подсчитывали в камере Горяева, СОЭ определяли в аппарате Панченкова, время свертывания крови по Мас и Магро [7].

Во всех опытах метакрукс вводили внутривенно с помощью специального металлического зонда в виде 5%-ной тонкодисперсной водной суспензии, стабилизированной твином-80.

Все животные были разделены на четыре группы по 7 крыс в каждой серии: первая - интактные; вторая - крысы с адьювантной болезнью; третья - крысы с адьювантной болезнью, леченные метакруксом; четвертая - крысы с адьювантной болезнью, леченные диклофенаком.

* Полученные результаты и их обсуждение

У животных опытной группы к периоду манифестации адьювантной болезни (14-28 сутки) наблюдались признаки интоксикации. Животные меньше потребляли корма, чем интактные. У животных с экспериментальным синдромом максимальный отек пораженной лапки наблюдали на 5-е и 15-е сутки после введения адьюванта. Животные были менее подвижными, суставы их стали синюшными, отечными. В группе животных, получавших метакрукс, все эти явления были менее выражены. У белых крыс с экспериментальной адьювантной болезнью с первых суток после введения адьюванта Фрейнда

нарастали явления отежности и гиперемии пораженной конечности. Максимальный отек наблюдался на 7-10 сутки.

Результаты полученных экспериментальных данных представлены в табл. 1.

Таблица 1
Антиэкссудативная активность метакрукса и диклофенака на модели адьювантной болезни (n=7)

Препараты	Исходный объем лапки (M±m) мл	Объем лапки (M±m) мл, через		
		7 суток	14 суток	28 суток
Опытная (2-я группа)	1,44±0,08 100,0%	1,20±0,09* 83,3%	0,98±0,05* 68,1%	0,88±0,08* 61,1%
Метакрукс 8,5 мг/кг (3-я группа)	1,48±0,07 100,0%	0,85±0,06 * 57,4%	0,69±0,07* 46,6 %	0,62±0,07* 41,9%
Диклофенак 8 мг/кг (4-я группа)	1,50±0,05 100,0%	0,94±0,07* 62,7 %	0,86±0,08* 59,7%	0,73±0,06* 48,7%

Примечание: * -p<0,05 по отношению к исходному объему лапки.

Установлено, что у не леченных животных с адьювантной болезнью объем лапки на 7-е сутки уменьшился во второй группе на 16,7%, а на 14-е и 28-е сутки, соответственно на 31,9% (p<0,05) и 38,9% (p<0,05). Объем лапки у крыс, с адьювантной болезнью, леченных метакруксом (8,5 мг/кг) через 7 суток уменьшился на 42,3% (p<0,05), на 14-е сутки - на 53,4% (p<0,05), на 28-е сутки - на 58,1% (p<0,05). Объем лапки у крыс леченных диклофенак, через 7 суток уменьшился на 37,3% (p<0,05), через 14 суток на 40,3% (p<0,05) и через 28 - на 51,3% (p<0,05).

Таким образом, фармакотерапевтический эффект метакрукса реализовался положительной динамикой антиэкссудативного эффекта. В момент максимального развития отека метакрукс вызывал у животных ингибирование воспалительной реакции.

Результаты лабораторного анализа крови крыс представлены в табл. 2. На регистрируемых этапах наблюдения у животных опытной группы наблюдались грубые изменения гематологических показателей. Установлены существенные изменения лабораторных показателей крови, которые свидетельствуют о наличии воспалительного процесса.

Полученные данные показывают, что на 14-й день опыта скорость оседания эритроцитов у животных с экспериментальной адьювантной болезнью увеличилась в 1,83 раза и на 28 день опыта - в

3,17 раза по сравнению с исходными значениями. Значения скорости оседания эритроцитов у леченных животных метакруксом и диклофенаком-натрия находились в пределах нормы.

В контрольной группе наблюдался выраженный лейкоцитоз: общее количество лейкоцитов на 14-е сутки возросло на $3,2 \cdot 10^9/\text{л}$, а на 28-е сутки - на $14,5 \cdot 10^9/\text{л}$.

Таблица 2

Изменение скорости оседания эритроцитов и общего количества лейкоцитов при адьювантной болезни у крыс леченных метакруксом и диклофенаком (n=7)

Препараты	Исходные значения	На 14-й день		На 28-й день	
		Скорость оседания эритроцитов, мм/час			
Контроль	2,9±0,08	5,3±0,14	9,2±0,13		
Метакрукс	2,5±0,11	2,8±0,18*	3,1±0,21*		
Диклофенак	2,6±0,07	3,2±0,21*	3,4±0,16*		
Общее количество лейкоцитов $10^9/\text{л}$					
Контроль	15,7±0,91	18,9±0,97	30,2±0,72		
Метакрукс	15,0±0,74	14,8±0,62*	16,4±0,64*		
Диклофенак	14,8±0,62	16,3±0,84*	15,9±0,93*		

Примечание. * - достоверность $p < 0,05$ по отношению к контролю.

Изучение лейкоцитарной формулы в динамике эксперимента показало значительный рост количества сегментоядерных нейтрофилов и незначительное увеличение количества эозинофилов, что свидетельствует о наличии аутоиммунного и воспалительного процесса в организме животных с адьювантной болезнью (табл.3).

После введения метакрукса и диклофенака колебания общего количества лейкоцитов и форменных элементов крови были в интервале физиологической нормы (табл.3)

При воспалении изменяются гемостатические и реологические свойства крови за счет изменения белковых фракций крови, изменения активности калликреин-кининовой системы, а также увеличивается содержание фибрина, что приводит к уменьшению времени свертывания крови.

В табл.4 представлены результаты влияния метакрукса и диклофенака на процесс свертывания крови.

Анализ полученных результатов показывает, что в контрольной группе время свертывания крови составило $72,6 \pm 3,25$ секунды. На 14-е и 28-е сутки наблюдалось укорочение времени свертывания крови в 1,36 и 1,49 раза, соответственно.

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Лечебное применение метакрукса привело к снижению процессов свертывания крови. Так на 14-й день время свертывания крови увеличилось на 34,6% ($p < 0,05$), а на 28-й - на 56,1% ($p < 0,05$).

Таблица 3

Влияние метакрукса и диклофенака на лейкоцитарную формулу у крыс с адьювантной болезнью (n=10)

Сери опытов	Сроки наблюдения (сутки)	Лейкоцитарная формула				
		Нейтрофилы		Лимфоциты	Эозинофилы	Моноциты
		Палочко-ядерные	Сегментоядерные			
Контроль	Исходные значения	4,0±0,12	59,7±2,13	28,0±1,94	3,1±0,11	5,2±0,34
	14	14,0±0,19	50,6±2,47	26,3±2,11	4,3±0,28	4,8±0,29
	28	15,0±0,13	48,8±2,27	26,4±2,76	4,8±0,31	5,0±0,19
Метакрукс	Исходные значения	4,6±0,11	60,9±2,14	26,9±2,81	2,9±0,17	4,7±0,22
	14	7,0±0,21	68,2±1,75	17,6±3,11	2,8±0,16	4,4±0,19
	28	5,1±0,27	66,0±2,21	22,4±2,56	2,9±0,11	3,6±0,34
Диклофенак	Исходные значения	4,3±0,09	63,0±2,39	25,4±3,28	2,7±0,09	4,6±0,47
	14	8,6±0,12	65,1±2,14	19,2±3,61	2,5±0,13	4,6±0,84
	28	7,0±0,31	64,9±1,32	20,3±1,22	2,9±0,21	4,9±0,51

Таблица 4

Влияние на процессы свертывания крови при лечебно-профилактическом применении метакрукса и диклофенака (n=10)

Препараты	Время свертывания крови, с		
	исходный фон	на 14-й день	на 28-й день
Контроль	72,6±3,25	53,5±1,87*	48,7±1,21*
Метакрукс	78,2±4,12	105,3±1,17*	122,1±1,39*
Диклофенак	76,3±3,26	89,8±1,09*	93,4±2,26*

Примечание: * - достоверность различий по сравнению с исходным фоном.

Препарат сравнения диклофенак-натрия увеличивает время свертывания крови на 14-е сутки на 17,7% ($p < 0,05$) и на 28-е на 22,4% ($p < 0,05$).

Выводы

1. На модели адьювантной болезни метакрукс проявил ангиэкссудативное действие.
2. Метакрукс ускоряет скорость оседания эритроцитов, вызывает значительный рост сегментоядерных нейтрофилов.
3. Метакрукс оказывает антиагрегационное действие.

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії

Литература

1. Акридин - основа для создания лекарственных средств / А.К. Сухомлинов, Д.К.Шаха, З.Г.Сычева [и др.] // Фармац. журнал. - 1984. - № 1. - С. 29-34.
2. Астахова А.В. Нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), спектр побочных реакций / А.В. Астахова // Безопасность лекарств - 2000. - № 1. - С. 26-30.
3. Воспаление : руководство для врачей / под ред. В.В. Серова, В.С. Паукова. - М.: Медицина, 1995. - 640 с.
4. Гребенева Л.С. Побочные эффекты лечения нестероидными противовоспалительными препаратами и пути их коррекции / Л.С.Гребенева, С.В.Насонова, Л.И.Цветкова // Клиническая медицина. -1997. - № 5.- С. 42 - 45.
5. Ждан В.М. Діагностика, профілактика і лікування НПВЗ-гастропатій / В.М.Ждан, І.П.Катеренчук, Т.І.Ярмола. - 2005. - 111 с.
6. Избранные лекции по клинической ревматологии / под ред. В.А. Насоновой, Н.В. Вунчука. - М.: Медицина, 2001. - 272 с.
7. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / [Меньшиков В.В., Денекторская А.И. Золотницкая Р.П. и др. ; под ред. В.В. Меньшикова]. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
8. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению нестероидных противовоспалительных фармакологических веществ / под ред. Тринуса Ф.П. - М. : Управление по внедр. нов. лек. средств и мед. техники, ФК МЗ СССР, 1983. - 11 с.
9. Рациональная фармакотерапия ревматических заболеваний: руководство для практических врачей / под общ. ред. В.А. Насоновой, Е.А. Насонова. - М.: Литтерра, 2003. - 507 с.
10. Рациональное применение нестероидных противовоспалительных препаратов в офтальмологии / Н.В. Бездетко, И.А. Зупанец, Г.Ф. Жабоедов, П.А. Бездетко. - Киев; Харьков, 2003. - 28 с.
11. Раціональне застосування нестероїдних протизапальних препаратів при лікуванні захворювань суглобів / І.А. Зупанець, В.М. Коваленко, Г.В. Дзяк [та ін.]. - Киев; Харьков, 2002. - 24 с.

12. Савохина М.В. Первичная фармакологическая оценка калиевых и аммониевых солей акридинил-9-тиоуксусных кислот / М.В.Савохина // Лекарства-человеку. - Харьков, 2002. - Т.17, № 1. - С.119-121.

13. Саратиков А.С. Адьювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия) / А.С.Саратиков, Л.К.Венгеровский, Т.П.Прищеп. - Томск: Изд-во Томск. ун-та, 1983. - 103 с.

14. Свиницкий А.С. НПВП гастродуоденопатии у больных остеоартрозом: особенности диагностики, профилактики и лечения / А.С. Свиницкий // Научно-практическая ревматология. - 2002. - № 3. - С. 26-31.

Резюме

Савохина М.В. Изучение действия метакрукса на течение адьювантной болезни.

В работе представлены исследования влияния нового фармакологического вещества метакрукса на течение адьювантной болезни. На модели адьювантной болезни метакрукс проявил антиэкссудативное и антиагрегационное действие, а также ускоряет скорость оседания эритроцитов и вызывает значительный рост сегментоядерных нейтрофилов.

Ключевые слова: воспаление, суставы, экспериментальные животные, акридин, метакрукс.

Резюме

Савохіна М.В. Вивчення дії метакрукса на перебіг ад'ювантної хвороби.

У роботі представлені дослідження впливу нової фармакологічної речовини метакрукса на перебіг ад'ювантної хвороби. На моделі ад'ювантної хвороби метакрукс проявив антиексудативну та антиагрегаційну дію, а також прискорює швидкість осідання еритроцитів та визиває значне зростання сегментоядерних нейтрофілів.

Ключові слова: запалення, суглоби, експериментальні тварини, акридин, метакрукс.

Summary

Savokhina M.V. Studing of the effect of action of metacrucs on adjuvant illness.

The investigation of influence of new pharmacological substance of metacrucs on adjuvant illness course is presented in the article. Using the model of adjuvant illness metacrucs revealed anti-exudative and anti-aggregative effects as wellas hastens erythrocyte sedimintation rate and quickens the growth of segmentonuclear neutrophil.

Key words: inflammation, joints, experimental animals, acridin, metacrucs.

Рецензент: д.мед.н., проф.В.Д.Лук'яничук