

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕНОМЕНА БИПАТИИ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДНИЗОЛОНА

*О. И. Эпштейн, Е. С. Жавберт, Ю. Л. Дугина, А. В. Пронина,
Е. П. Зуева*, Е. Н. Амосова*, С. Г. Крылова*, Т. Г. Разина**

ООО «НПФ «МАТЕРИА МЕДИКА ХОЛДИНГ», Москва,
*ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, Томск

В экспериментальном исследовании выявлена тенденция к усилению противовоспалительной (модель артрита, вызванного введением полного адьюванта Фрейнда беспородным крысам-самкам) и анальгетической (модель укусных «корчей») активности преднизолонa при совместном (бипатическом) введении с его релиз-активной формой.

Ключевые слова: преднизолон, бипатическое введение, релиз-активность.

EXPERIMENTAL STUDY OF BIPATHY PHENOMENON ON THE EXAMPLE OF PREDNIZOLONE

*O. I. Epstein, E. S. Zhavbert, J. L. Dugina, A. V. Pronina,
E. P. Zueva, E. N. Amosova, S. G. Krylova, T. G. Razina*

A tendency to increase anti-inflammatory (complete Freund's adjuvant induced arthritis model in rats) and analgesic (acetic acid writhing test in mice) activity of prednisolone when administered in its release-active form (bipathic administration) was revealed in an experimental study.

Key words: prednisolone, bipathic administration, release-activity.

Несмотря на значительный прогресс в развитии медицины и фармакологии, проблема поиска новых эффективных лекарственных средств до сих пор актуальна. Одним из новых подходов является создание оригинальных препаратов на основе уже известных лекарственных средств. В 1996 г. было установлено, что в процессе многократного уменьшения концентрации исходного вещества в высоких разведениях появляются (высвобождаются) качественно новые свойства, вследствие чего подобные разведения предложено назвать релиз-активными. Одной из отличительных черт релиз-активных средств является их способность модифицировать эффекты исходного вещества. Данный феномен был назван бипатией. Ранее в целой серии экспериментальных исследований была выявлена эффективность бипатического применения ряда препаратов [3].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение влияния Р-А преднизолонa на противовоспалительное, анальгетическое действие его терапевтической дозы и на побочные эффекты, вызываемые применением данного препарата [2].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 47 беспородных крысах самках (200—250 г) и 43 беспородных мышках самках (26—29 г). Во всех экспериментах использовали Р-А преднизолон (смесь разведений С12, С30 и С200 на воде) производства ООО «НПФ «Материa Медика Холдинг».

Противовоспалительное действие препаратов изучали на модели адьювантного артрита у крыс, вызван-

ного субплантарным введением в правую заднюю лапу 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда (ICN, США) [4]. Первичную реакцию (отек на правой лапе) оценивали на 3, 6, 9, 13-е сутки после инъекции адьюванта. Перед введением препаратов (на 14-е сутки после инъекции) животных делили на 4 группы, которым в течение 11 дней внутривенно с помощью зонда вводили следующие препараты: (1) преднизолон (Никомед, Австрия) в дозе 26,5 мг/кг ($n = 12$); (2) Р-А преднизолон в объеме 0,3 мл на животное ($n = 11$); (3) преднизолон в дозе 26,5 мг/кг, а через час Р-А преднизолон в объеме 0,3 мл на животное ($n = 12$) (бипатическое введение); (4) дистиллированную воду в объеме 0,3 мл на животное ($n = 12$) (контроль). Воспалительную реакцию оценивали в динамике на 15, 17, 20, 22, 24-е сутки после инъекции адьюванта. Рассчитывали разность между объемом лапы с отеком и «здоровой» лапы на 6-е сутки. Прирост отека вычисляли в процентах по отношению к объему здоровой лапы на 6-е сутки. Вторичную иммунологическую реакцию регистрировали по приросту отека на левой лапе. На 27-е сутки после введения адьюванта оценивали влияние исследуемых препаратов на слизистую оболочку желудка.

Анальгетическое действие изучали на модели укусных «корчей» [5]. Беспородных мышей самок делили на 4 группы и внутривенно с помощью зонда вводили следующие препараты: (1) преднизолон (Никомед, Австрия) в дозе 53,0 мг/кг ($n = 11$); (2) Р-А преднизолон в объеме 0,3 мл на животное ($n = 10$); (3) преднизолон в дозе 53,0 мг/кг и Р-А преднизолон в объеме 0,3 мл на животное, причем Р-А преднизолон вводили дважды сразу и через час после вве-

дения преднизолона ($n = 11$) (бипатическое введение); (4) дистиллированную воду в объеме 0,3 мл на животное ($n = 11$) (контроль). Специфическую болевую реакцию «корчи» вызывали внутрибрюшинным введением 0,75%-й уксусной кислоты (0,1 мл/10 г массы тела) спустя час после введения исследуемых препаратов и сразу после второго введения Р-А преднизолона в группе бипатического введения. В течение последующих 20 минут после инъекции уксусной кислоты подсчитывали количество «корчей» у каждого животного и измеряли время их наступления. Анальгетический эффект оценивали по уменьшению количества «корчей» по отношению к контролю, в процентах.

Для оценки достоверности отличий между независимыми выборками использовался U-критерий Манна-Уитни, между зависимыми выборками — критерий Вилкоксона, для анализа частот — точный критерий Фишера [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Измерение объема лап на 3-и сутки после инъекции адьюванта Фрейнда показало, что у крыс развилась воспалительная реакция: объем отека правой лапы, в которую вводили адьювант, составил $1,09$ мл (объем правой лапы с отеком — $2,15 \pm 0,06$; объем левой лапы — $1,06 \pm 0,03$; $n = 47$). После 1-го введения преднизолона (на 15-е сутки) отмечали достоверное уменьшение при-

роста отека по сравнению с 6-ми сутками. Устойчивый противовоспалительный эффект в данной группе развивался на 22-е и 24-е сутки, прирост отека был на 21,8 и 43,0 %, соответственно, меньше, чем в контрольной группе ($p < 0,05$) (табл. 1). По сравнению со значениями, полученными на 6-е сутки, достоверное снижение объема отека наблюдали на 15, 22, 24, 27-е сутки.

В группе бипатического введения преднизолона противовоспалительное действие было зарегистрировано раньше (на 15-е сутки, $p < 0,05$ vs контроль), чем при его изолированном применении (на 22-е сутки, $p < 0,05$ vs контроль). Прироста отека на 15, 20, 22, 24, 27-е сутки эксперимента при бипатическом введении оказался на 24,2, 33,4, 29,0, 29,8, 22,1 % соответственно меньше, чем соответствующие значения в контрольной группе ($p < 0,05$). Выявлена также тенденция к уменьшению объема отека правой лапы у животных группы бипатического введения по сравнению с группой изолированного применения преднизолона в среднем на 9,5 % с 15-х по 22-е сутки и на 27-е сутки ($p > 0,05$) (табл. 1).

При оценке влияния лечебных воздействий на вторичную иммунологическую реакцию (отек левой лапы) обнаружено, что меньший прирост отека по сравнению с группами преднизолона и контроля был зарегистрирован в группе бипатического введения, причем на пике воспаления (20-е сутки) снижение прироста отека до 116,1 % против 132,89 % в контрольной группе оказалось достоверным ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблица 1

Влияние преднизолона и его Р-А формы на развитие артрита, вызванного у беспородных крыс-самок введением адьюванта Фрейнда (правая лапа с отеком)

Группа	Прирост отека ($M \pm m$), %								
	6-е сут.	9-е сут.	13-е сут.	15-е сут.	17-е сут.	20-е сут.	22-е сут.	24-е сут.	27-е сут.
Контроль				$145,5 \pm 9,6^*$	$161,6 \pm 14,6$	$185,4 \pm 11,5$	$168,1 \pm 10,1$	$171,4 \pm 10,8$	$146,5 \pm 8,1$
Р-А преднизолон	$174,40 \pm 6,37$	$185,7 \pm 6,9$	$159,7 \pm 5,2$	$147,7 \pm 11,0^*$	$178,9 \pm 15,2$	$184,3 \pm 10,4$	$191,5 \pm 11,2^*$	$153,5 \pm 11,2^*$	$152,7 \pm 10,5$
Преднизолон				$132,9 \pm 8,9^*$	$162,9 \pm 9,9$	$176,1 \pm 9,9$	$146,3 \pm 7,6^{*#}$	$128,4 \pm 8,6^{*#}$	$141,1 \pm 10,5^*$
Бипатическое введение				$121,3 \pm 7,4^{*#}$	$149,5 \pm 9,5^*$	$152,0 \pm 9,5^{*#}$	$139,1 \pm 7,9^{*#}$	$141,6 \pm 7,1^{*#}$	$124,40 \pm 6,97^{*#}$

Здесь и далее: $*p < 0,05$ по сравнению с данными измерения на 9-е сутки в этой же группе (объем левой лапы на 6-е сутки принят за 100 %); $^{*}p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2

Влияние преднизолона и его Р-А формы на развитие артрита, вызванного у беспородных крыс-самок введением адьюванта Фрейнда (левая лапа)

Группа	Прирост отека ($M \pm m$), %							
	9-е сут.	13-е сут.	15-е сут.	17-е сут.	20-е сут.	22-е сут.	24-е сут.	27-е сут.
Контроль			$89,9 \pm 5,0^*$	$107,6 \pm 7,9$	$132,89 \pm 7,50^*$	$125,2 \pm 9,1$	$119,7 \pm 6,6$	$104,7 \pm 7,4$
Р-А преднизолон	$108,3 \pm 3,3$	$102,9 \pm 4,3$	$92,7 \pm 6,0^*$	$117,6 \pm 6,6$	$118,4 \pm 7,8$	$138,3 \pm 9,7^*$	$113,7 \pm 7,6$	$110,3 \pm 5,5$
Преднизолон			$89,8 \pm 6,0^*$	$116,8 \pm 8,6$	$129,7 \pm 6,7$	$117,50 \pm 8,63$	$90,10 \pm 6,58^*$	$103,3 \pm 4,4^*$
Бипатическое введение			$83,3 \pm 6,1$	$106,8 \pm 6,8^*$	$116,1 \pm 6,9^{*#}$	$100,0 \pm 6,5$	$106,6 \pm 4,8^*$	$91,00 \pm 4,53$

Осмотр слизистых оболочек желудка показал, что во всех опытных группах были крысы, имеющие изъязвления, причем среди животных получавших преднизолон их оказалось в 3,3 раза больше, чем в группах контроля и бипатического введения ($p > 0,05$) (табл. 3). Кроме того, в группе бипатического введения среднее число язв на крысу было в 3,4 раза меньше, чем в группе преднизолона ($p > 0,05$) (табл. 3). Следует отметить, что в группе животных, получавших преднизолон, к концу эксперимента погибла 1 крыса, а в остальных группах выживаемость составила 100 %.

Однократное изолированное введение преднизолона не приводило к достоверным изменениям болевой чувствительности животных по сравнению с контрольной группой. Под действием Р-А преднизолона выявлено снижение болевой чувствительности (количество «корчей» снизилось в 1,6 раза). При бипатическом введении отмечено достоверное укорочение времени наступления корчей и снижение чувствительности к болевым воздействиям по сравнению с контролем ($p < 0,05$) (табл. 4).

Таблица 3

Влияние исследуемых препаратов на слизистую оболочку желудка беспородных крыс-самок с артритом, вызванным введением адьюванта Фрейнда

Группа	Количество язв в желудке, $M \pm m$	Число животных с язвами, %
Контроль	$0,17 \pm 0,17$	8,3
Р-А преднизолон	$0,18 \pm 0,18$	9,1
Преднизолон	$0,27 \pm 0,27$	27,3
Бипатическое введение	$0,08 \pm 0,08$	8,3

Таблица 4

Влияние исследуемых препаратов на болевую чувствительность у мышей, ($M \pm m$)

Группа	Среднее кол-во «корчей» за 20 мин	Время наступления «корчей», мин	Снижение болевой чувствительности, %
Контроль	$21,73 \pm 2,66$	$5,55 \pm 0,71$	—
Преднизолон	$18,73 \pm 4,31$	$4,09 \pm 0,49$	13,8
Р-А преднизолон	$13,70 \pm 1,79^{\#}$	$4,00 \pm 0,33$	37,0
Бипатическое введение	$13,00 \pm 1,51^{\#}$	$3,64 \pm 0,39^{\#}$	40,2

$^{\#}p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

Экспериментальные исследования на модели артрита, вызванного введением адьюванта Фрейнда, свидетельствуют о том, что противовоспалительная активность преднизолона при бипатическом введении возрастает. Следует отметить, что при изолированном применении преднизолона противовоспалительный эффект был обнаружен лишь при первичном воспалении, тогда как при бипатическом введении этого препарата противовоспалительное действие выявлено как при первичном, так и при вторичном воспалении. Добавление Р-А преднизолона также позволило уменьшить побочные эффекты терапии преднизолоном, а именно снизить язвообразование в желудках крыс.

Анальгетическая активность на модели «корчей» обнаружена при бипатическом введении преднизолона и использовании Р-А преднизолона.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что в данном исследовании мы наблюдали лишь тенденцию в развитии эффектов (не отмечено достоверных отличий между группами изолированного и бипатического введения преднизолона), мы полагаем перспективным дальнейшее исследование обнаруженных эффектов для последующего использования бипатического метода в клинической практике с целью снижения побочных эффектов и усиления фармакологической активности преднизолона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. — Л., 1978. — 193 с.
2. Машковский М. Д. Лекарственные средства. — М.: ООО «Новая волна», 2002. — Т. 1. — 624 с.
3. Эпштейн О. И. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2012. — № 7. — С. 62—67.
4. Newbound B. B. // British Journal of Pharmacology and Chemotherapy. — 1963. — Vol. 21. — P. 127—136.
5. Koster R., Anderson M., de Beer E. J. // Federal Proceedings. — 1959. — Vol. 18. — P. 412—418.

Контактная информация

Жавберт Екатерина Сергеевна — научный сотрудник отдела организации доклинических исследований ООО «НПФ «Материа Медика Холдинг», e-mail: ZhavbertES@materiamedica.ru