

Влияние диклофенака натрия на уровень гистамина и серотонина при остром экссудативном воспалении

Иванова Е.А., Воронина Т.А.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. *Актуальность.* Диклофенак рассматривают в качестве общепризнанного эталона препарата сравнения при изучении терапевтического потенциала и безопасности нестероидных противовоспалительных средств. Механизм действия диклофенака обусловлен ингибированием двух изоферментов циклооксигеназы: циклооксигеназы-1 и циклооксигеназы-2. Однако в литературе отсутствуют данные о влиянии препарата на уровень клеточных медиаторов воспаления гистамина и серотонина. *Цель* экспериментального исследования – оценить уровень гистамина и серотонина при остром экссудативном воспалении у крыс и изучить влияние диклофенака натрия на их концентрацию. *Материалы и методы.* Исследование выполнено на самцах белых аутбредных крыс. В качестве модели острого экссудативного воспаления использовали модель уксусного перитонита, который вызывали внутрибрюшинным введением 1 % раствора уксусной кислоты. Концентрацию гистамина и серотонина в плазме крови и перитонеальном экссудате определяли флуориметрическим методом. *Результаты.* Через 3 ч после индукции воспаления в плазме крови крыс отмечено повышение уровня гистамина в 1,9 раза ($p < 0,05$) и серотонина в 3 раза ($p < 0,05$). Диклофенак натрия, вводимый перорально в дозе 6,3 мг/кг за один час до индукции воспаления, значительно уменьшал концентрацию гистамина и не влиял на концентрацию серотонина в плазме крови и не вызывал значимых изменений концентраций изучаемых медиаторов воспаления в экссудате экспериментальных животных. *Заключение.* Способность диклофенака натрия снижать повышенный при экспериментальном перитоните уровень гистамина в плазме крови может являться одним из компонентов механизма уменьшения сосудистой проницаемости и отёчности под действием препарата.

Ключевые слова: диклофенак натрия; гистамин; серотонин; уксусный перитонит; крысы

Для цитирования:

Иванова Е.А., Воронина Т.А. Влияние диклофенака натрия на уровень гистамина и серотонина при остром экссудативном воспалении у крыс // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – №2. – С.12–15. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10009.

Effect of diclofenac sodium on the level of histamine and serotonin in acute exudative inflammation

Ivanova E.A., Voronina T.A.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Resume. *Problem statement.* Diclofenac is considered a well-recognised reference drug in the study of the therapeutic effects and safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Diclofenac works by inhibiting cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. However, no data about the effect of the drug on the level of histamine and serotonin, cellular mediators of inflammation, are available in the literature. *The aim* of this experimental study is to evaluate the level of histamine and serotonin in rats with acute exudative inflammation and to study the effect of diclofenac sodium on their concentration. *Materials and methods.* The study was performed in male outbred white rats. Peritonitis induced by intraperitoneal injection of 1 % acetic acid was used as a model of acute exudative inflammation. The concentration of histamine and serotonin in blood plasma and peritoneal exudate was determined by fluorometry. *Results.* Three hours after the acetic acid injection, the concentration of histamine in the plasma of rats was elevated by a factor of 1.9 ($p < 0.05$), and the concentration of serotonin was increased threefold ($p < 0.05$). A single oral dose of 6.3 mg/kg Diclofenac sodium was administered one hour before the onset of inflammation. The test drug significantly reduced histamine levels in the plasma of rats with acute exudative inflammation but had no effect on serotonin levels. Diclofenac sodium did not change the concentration of the inflammatory mediators in the exudate of animals with the experimental pathology. *Conclusion.* The ability of diclofenac sodium to reduce elevated histamine levels in the plasma of rats with experimental peritonitis may be one of the components of the mechanism by which this drug reduces vascular permeability and swelling.

Keywords: diclofenac sodium; histamine; serotonin; acetic acid-induced peritonitis; rats

For citations:

Ivanova EA., Voronina TA. Effect of diclofenac sodium on the level of histamine and serotonin in rats with acute exudative inflammation. *Farmakogenetika i farmakogenomika*. 2018;2:12–15. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10009.

Введение

Диклофенак является «золотым стандартом» эффективности нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) – ингибиторов циклооксигеназы (ЦОГ), и его рассматривают в качестве общепризнанного эталона препарата сравнения при изучении тера-

певтического потенциала и безопасности лекарств этой фармакотерапевтической группы [1, 2]. Результаты многочисленных рандомизированных контролируемых исследований показали, что ни один из существующих НПВС не превосходит по лечебному действию диклофенак [1]. Механизм действия диклофенака обусловлен ингибированием двух изоферментов ЦОГ: ЦОГ-1

и ЦОГ-2 [1, 2]. Кроме того, у препарата зафиксирована способность снижать уровень интерлейкина-1 β у пациентов с остеоартрозом коленного сустава, у которых концентрация этого интерлейкина в крови была повышена [3]. В экспериментальных исследованиях показано, что диклофенак уменьшает уровень продукта перекисного окисления липидов малонового диальдегида в плазме крови крыс с отёком лапы, вызванным подкожным введением 1 % раствора каррагенана [4], и в перитонеальном экссудате мышей с гликогеновым перитонитом [5] и снижает стимулированную хемоаттрактантами адгезию и индуцированную каррагенаном миграцию лейкоцитов [6]. Однако на сегодняшний день остаётся не изученным влияние препарата на уровень клеточных медиаторов воспаления гистамина и серотонина в качестве компонента его механизма действия. Гистамин и серотонин — биогенные амины, которые выделяются в процессе дегрануляции тучных клеток при воспалении. Оба биогенных амина увеличивают проницаемость сосудистой стенки и циркуляцию лейкоцитов [7, 8]. Серотонин усиливает агрегацию тромбоцитов и при остром воспалении способствует скоплению нейтрофилов в тканях [7, 9]. Оба биогенных амина являются медиаторами ранней фазы воспаления, обуславливая развитие отёчности, что используется для моделирования гистаминового и серотонинового отёков лап у крыс [10–12].

Целью настоящего экспериментального исследования является оценка уровня клеточных медиаторов воспаления гистамина и серотонина при остром экссудативном воспалении у крыс — укусном перитоните и изучение влияния НПВС диклофенака натрия на их концентрацию.

Материалы и методы

Исследования выполнены на самцах белых аутбредных крыс массой 180–200 г, полученных из питомника Филиал «Андреевка» ФГБУН «НЦБМТ» ФМБА России (Московская область). Крысы содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде при 12-часовом световом режиме. Содержание животных осуществлялось в соответствии с нормативным документом СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Организация и проведение работы выполнялись в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами: Приказом Минздрава РФ №199н от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г. (Страсбург).

Экспериментальные животные были разделены на следующие группы, по 6 животных в каждой. 1. Контрольные животные — интактные крысы. 2. Крысы с укусным перитонитом. 3. Крысы с укусным перитонитом, которым за 1 ч до индукции воспаления перорально вводили диклофенак натрия в дозе 6,3 мг/кг. Выбор дозы и способа введения диклофенака натрия обусловлены тем, что ранее было установлено, что изучаемый препарат при таком режиме введения оказывает выраженное противовоспалительное действие, подавляя экссудативную реакцию у крыс с отёком лапы на 40 % [13].

Перитонит у крыс вызывали внутрибрюшинным введением 1 % раствора уксусной кислоты (в физиологическом растворе) из расчёта 1 мл раствора на 100 г массы тела [14]. Через 3 ч в срок, рекомендуемый действующими «Методическими рекомендациями по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств» для оценки выраженности экссудации после введения раствора уксусной кислоты [14], крыс подвергали эвтаназии методом декапитации и собирали кровь. В пробирку с кровью добавляли раствор ЭДТА для предотвращения свёртывания крови и затем кровь подвергали центрифугированию для получения плазмы. Кроме того, у животных с укусным перитонитом собирали экссудат из брюшной полости.

Определение содержания гистамина и серотонина в плазме крови и перитонеальном экссудате проводилось методом, основанным на измерении флуоресценции продуктов конденсации гистамина с ортофталевым альдегидом, серотонина с нингидрином по методике Прошиной Л.Я. [15, 16]. Концентрация гистамина и серотонина выражалась в мкг/мл.

Статистическую обработку проводили в программе «Биостатистика» с помощью критерия Манна–Уитни. Результаты представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В настоящем исследовании установлено, что у крыс с укусным перитонитом через 3 ч после индукции воспаления в плазме крови, повышалась концентрация гистамина и серотонина, соответственно, в 1,9 и в 3 раза по сравнению с группой интактных животных (табл. 1). Гистамин увеличивает сосудистую проницаемость и гидростатическое давление, способствует скоплению аллогенов в очаге воспаления, а под влиянием аллогенов при укусном перитоните у грызунов развивается висцеральная болевая реакция, которая проявляется характерными изгибами тела — «корчами». Известно, что при перитоните активизируются

Таблица 1

Влияние диклофенака натрия при пероральном введении на концентрацию гистамина и серотонина в плазме крови крыс с укусным перитонитом

Группа	Концентрация биогенных аминов, мкг/мл	
	Гистамин	Серотонин
Контроль, интактные животные	0,076 ± 0,008	0,100 ± 0,020
Укусный перитонит, 1 % раствор уксусной кислоты внутрибрюшинно	0,141 ± 0,020*	0,300 ± 0,040*
Диклофенак натрия, 6,3 мг/кг перорально + 1 % раствор уксусной кислоты внутрибрюшинно	0,093 ± 0,001#	0,300 ± 0,060*

Примечания: * – достоверно относительно группы «Контроль, интактные животные», $p < 0,05$; # – достоверно относительно группы «Укусный перитонит, 1 % раствор уксусной кислоты внутрибрюшинно», $p < 0,05$.

Таблица 2

Влияние диклофенака натрия при пероральном введении на концентрацию гистамина и серотонина в перитонеальном экссудате крыс с укусным перитонитом

Группа	Концентрация биогенных аминов, мкг/мл	
	Гистамин	Серотонин
Укусный перитонит, 1 % раствор уксусной кислоты внутрибрюшинно	0,087 ± 0,001	0,021 ± 0,005
Диклофенак натрия, 6,3 мг/кг перорально + 1 % раствор уксусной кислоты внутрибрюшинно	0,083 ± 0,004	0,019 ± 0,003

нейтрофильный и макрофагальный компоненты естественной неспецифической защиты организма [17], и, вероятно, повышение уровня серотонина при укусном перитоните у крыс способствует этому за счёт воздействия на нейтрофильный компонент.

Диклофенак натрия достоверно снижал концентрацию гистамина в плазме крови крыс с укусным перитонитом на 34,0 % по сравнению с уровнем этого биогенного амина в плазме крови животных с экспериментальной моделью воспаления, не получавших препарат (табл. 1). При этом диклофенак натрия не оказывал влияния на концентрацию серотонина в плазме крови и перитонеальном экссудате и гистамина в перитонеальном экссудате крыс с укусным перитонитом через 3 ч после индукции воспаления (табл. 2).

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в плазме крови крыс с экспериментальным перитонитом через 3 ч после индукции воспаления внутрибрюшинным введением 1 % раствора уксусной кислоты наблюдается повышение концентрации гистамина в 1,9 раза и серотонина в 3 раза по сравнению с группой интактных животных. Диклофенак натрия при однократном пероральном введении крысам в дозе 6,3 мг/кг достоверно снижает повышенный при воспалении уровень гистамина в плазме крови животных с укусным перитонитом, но не оказывает влияния на концентрацию серотонина. Способность диклофенака натрия снижать повышенный при экспериментальном перитоните уровень клеточного медиатора воспаления гистамина в плазме крови может являться одним из компонентов механизма уменьшения сосудистой проницаемости и отёчности под действием препарата.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванова Елена Анатольевна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: iwanowaea@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-4961-2051

SPIN-код: 5005-0337

с. н. с. ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Ivanova Elena

Corresponding author

e-mail: iwanowaea@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0003-4961-2051

SPIN code: 5005-0337

Senior Research Officer FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Воронина Татьяна Александровна

SPIN-код: 5766-3452

д. м. н., профессор, заведующая лабораторией психофармакологии, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В. В. Закусова», Москва

Voronina Tatyana

SPIN code: 5766-3452

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Psychopharmacology, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

Литература / References

1. Каратеев А.Е., Яхно Н.Н., Лазебник Л.Б., и др. *Применение нестероидных противовоспалительных препаратов*. Клинические рекомендации. – М.: ООО «ИМА-ПРЕСС»; 2009. [Karateev AE, Yahno NN, Lazebnik LB, et al. *Primenenie nesteroidnykh protivovospalitel'nykh preparatov*. Klinicheskie rekomendacii. Moscow: ООО «ИМА-ПРЕСС»; 2009. (In Russ).]
2. Насонова В.А. Вольтарен (диклофенак натрия) в ревматологии в начале XXI века // *PMЖ*. – 2004. – №12(6). – С.392–395. [Nasonova VA. Voltaren® (diclofenac sodium) in rheumatology at the beginning of the 21st century. *RMJ*. 2004;12(6):392–395. (In Russ).]
3. Gonzalez E, de la Cruz C, de Nicolais R, et al. Long-term effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the production of cytokines and other inflammatory mediators by blood cells of patients with osteoarthritis. *Agents Actions*. 1994;41(3-4):171–178.
4. Abbas SS, Schaalán MF, Bahgat AK, et al. Possible potentiation by certain antioxidants of the anti-inflammatory effects of diclofenac in rats. *ScientificWorldJournal*. 2014 Mar 12;2014:731462. DOI: 10.1155/2014/731462
5. Матюшкин А.И., Иванова Е.А., Золотов Н.Н., Воронина Т.А. *Влияние гимантана и диклофенака натрия на уровень продуктов перекисного окисления липидов в воспалительном выпоте у мышей с экспериментальным перитонитом*. Материалы XXIII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова, 18–22 сентября 2017; – Воронеж: Издательство «ИСТОКИ»; 2017. [Matyushkin AI, Ivanova EA, Zolotov NN, Voronina TA. *Vliyanie gimantana i diklofenaka natriya na uroven' produktov perekisnogo okisleniya lipidov v vospalitel'nom vypote u myshey s ehksperimental'ny'm peritonitom*. Materialy XXIII s'ezda fiziologicheskogo obshchestva im. I.P. Pavlova, 18–22 September 2017; Voronezh: Izdatel'stvo «ISTOKI»; 2017. (In Russ).]
6. Martinez LL, Aparecida De Oliveira M, Fortes ZB. Influence of verapamil and diclofenac on leukocyte migration in rats. *Hypertension*. 1999 Oct;34(4 Pt 2):997–1001.
7. Пари́йская Е.Н., Ерофеев Н.П. *Физиология эндокринной системы*. – СПб.: СпецЛит; 2013. [Parijskaya EN, Erofeev NP. *Fiziologiya ehndokrinnoj sistemy*. Saint-Petersburg: SpecLit; 2013. (In Russ).]
8. Сологуб Т.В., Романцова М.Г., Кремень Н.В., и др. *Свободнорадикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты)*. Учебное пособие для врачей. – М.: Академия Естествознания; 2008. [Sologub TV, Romancova MG, Kremen' NV, et al. *Svobodnoradikal'nye processy i vospalenie (patogeneticheskie, klinicheskie i terapevticheskie aspekty)*. Uchebnoe posobie dlya vrachej. Moscow: Akademiya Estestvoznaniya; 2008. (In Russ).]
9. Duerschmied D, Suidan GL, Demers M, et al. Platelet serotonin promotes the recruitment of neutrophils to sites of acute inflammation in mice. *Blood*. 2013 Feb 7;121(6):1008–15. DOI: 10.1182/blood-2012-06-437392
10. Arya S, Kumar VL. Antiinflammatory efficacy of extracts of latex of *Calotropis procera* against different mediators of inflammation. *Mediators Inflamm*. 2005 Aug 31;2005(4):228–32.
11. Gupta M, Mazumder UK, Gomathi P, et al. Antiinflammatory evaluation of leaves of *Plumeria acuminata*. *BMC Complement Altern Med*. 2006 Nov 2;6:36. DOI: 10.1186/1472-6882-6-36
12. Yong YK, Sulaiman N, Hakim MN, et al. Suppressions of serotonin-induced increased vascular permeability and leukocyte infiltration by *Bixa orellana* leaf extract. *Biomed Res Int*. 2013;2013:463145. DOI: 10.1155/2013/463145
13. Никитченко Е.А., Федоров В.Н., Красников С.В., Обухова Т.А. Изучение фармакологических свойств производных адамантилбензоиламинокислоты // *Фармация*. – 2007. – №8. – С.37–38. [Nikitchenko EA, Fedorov VN, Krasnikov SV, Obukhova TA. Investigation of the pharmacological properties of adamantylbenzoylamino acid derivatives. *Pharmacy*. 2007;8:37–38. (In Russ).]
14. Шварц Г.Я., Сюбаев Р.Д. Методические рекомендации по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Гриф и К; 2012. – С.746–758. [Schwartz GYa, Syubaev RD. *Metodicheskie rekomendacii po doklinicheskomu izucheniyu nesteroidnykh protivovospalitel'nykh lekarstvennykh sredstv*. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Part one. / Ed by AN Mironova. Moscow: Grif i K; 2012. p. 746–758. (In Russ).]
15. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина; 1987. [Laboratornye metody issledovaniya v klinike: Spravochnik / Ed by V.V. Menshikov. Moscow: Medicina; 1987. (In Russ).]
16. Мешерякова С.А., Герасимова Ц.И. Определение серотонина и гистамина в одной пробе // *Лабораторное дело*. – 1974. – Т.11. – С.670–672. [Meshcheryakova SA, Gerasimova CI. *Opredelenie serotoninina i gistamina v odnoj probe*. *Laboratornoe delo*. 1974;11:670–672. (In Russ).]
17. Бакаева З.В., Самонина Г.Е., Умарова Б.А., и др. Исследование противовоспалительных свойств глипролинов на экспериментальной модели острого перитонита у крыс // *Цитокины и воспаление*. – 2008. – Т.7, №2. – С.28–32. [Bakaeva ZV, Samonina GE, Umarova BA, et al. A study of anti-inflammatory properties of glyprolines using experimental model of the acute peritonitis in rats. *Cytokines and inflammation*. 2008;7(2):28–32. (In Russ).]