

Влияние основного метаболита афобазола М-11 на острое экссудативное воспаление и висцеральную боль у мышей

Иванова Е.А., Воронина Т.А.

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

Резюме. На модели перитонита у мышей, вызванного внутрибрюшинным введением раствора уксусной кислоты, установлено, что основной метаболит афобазола М-11 при введении внутрь в дозах 1, 5 и 10 мг/кг снижает выраженность экссудативной стадии воспаления, однако в дозах 20 и 40 мг/кг М-11 не оказывает противовоспалительного действия. По противовоспалительному эффекту М-11 в дозах 1, 5 и 10 мг/кг уступает диклофенаку натрия в дозе 10 мг/кг. При оценке влияния М-11 на сопровождающую развитие воспалительной реакции висцеральную боль обнаружено, что основным метаболит афобазола М-11 не проявляет противоболевого действия.

Ключевые слова: основной метаболит афобазола М-11, острое экссудативное воспаление, острая висцеральная боль, мыши

Effect of the main metabolite of afobazole M-11 on acute exudative inflammation and visceral pain in mice

Ivanova E.A., Voronina T.A.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. In the model of peritonitis in mice induced by intraperitoneal injection of acetic acid the main metabolite of afobazole M-11 at doses of 1, 5 and 10 mg/kg per os reduces the intensity of the exudative stage of inflammation, but at doses of 20 and 40 mg/kg it exhibits no anti-inflammatory activity. The anti-inflammatory activity of M-11 at doses of 1, 5 and 10 mg/kg is less pronounced compared with diclofenac sodium 10 mg/kg. Evaluation of the influence of M-11 on visceral pain induced by inflammation demonstrated that the main metabolite of afobazole does not exhibit analgesic activity.

Keywords: the main metabolite of afobazole M-11, the acute exudative inflammation, the acute visceral pain, mice

Автор, ответственный за переписку:

Иванова Елена Анатольевна — старший научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, 8; тел. +7 (495) 601-24-14; e-mail: iwanowaea@yandex.ru

Введение

М-11 — окисленный по морфолиновому кольцу основной метаболит афобазола [1], является лигандом МТ-3 подтипа мелатониновых рецепторов [2]. Экспериментально показано, что М-11, как и афобазол, проявляет цитопротекторные свойства на модели зависимых от хинон-редуктазы клеточных повреждений костного мозга [3]. Эффективность М-11 и афобазола на данной модели обусловлена их влиянием на МТ3-рецепторы, которые идентичны регуляторному участку фермента хинон-редуктазы-2, участвующего в процессах детоксикации высокорективных хинонов и предохраняющего клетки от воздействия свободных радикалов [4]. Известно, что образование повреждающих клеточные мембраны реактивных форм кислорода усиливается при воспалительных процессах [5], а некоторые соединения, обладающие антиоксидантными цитопротекторными свойствами, способны проявлять также и противовоспалительное действие [6, 7].

Целью данного исследования является оценка влияния основного метаболита афобазола М-11 на острое экссудативное воспаление и сопровождающую его развитие висцеральную боль в эксперименте на мышах.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на половозрелых аутобредных мышах-самцах массой 28–31 г, полученных из питомника «Столбовая», в весенне-летний период. В течение двух недель до начала эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к корму и воде при 12-часовом световом режиме. Содержание животных осуществлялось в соответствии с нормативным документом «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев» от 06.04.1973 г., № 1045–73. Организация и проведение работы выполнялись в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами: Приказом Минздравсоцразвития РФ № 708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях от 18 марта 1986 г. (Страсбург).

Влияние основного метаболита афобазола М-11 на периферическое воспаление изучалось в сравнении с диклофенаком натрия на модели острой экссудативной реакции у мышей — перитоните, который вызывали внутрибрюшинным введением 1% раствора

уксусной кислоты из расчёта 1 мл на 100 г массы тела животного [8]. Через 3 часа мышей подвергали эктаназии методом цервикальной дислокации, вскрывали брюшную полость, собирали экссудат и измеряли его массу. О наличии у изучаемых соединений противовоспалительного действия судили по снижению средней массы экссудата относительно контрольной группы.

Висцеральная боль также оценивалась после внутрибрюшинного введения мышам 1% раствора уксусной кислоты, который вызывает химическое болевое раздражение, проявляющееся специфическими болевыми движениями животных — корчами [8]. В течение 15 мин после введения раствора уксусной кислоты для каждого животного подсчитывалось количество корчей. О наличии у изучаемых соединений противоболевого действия судили по снижению количества корчей относительно контрольной группы. В качестве дополнительного критерия, позволяющего оценить болевую чувствительность у животных, регистрировался латентный период наступления корчей после введения им раствора уксусной кислоты.

Исследуемые вещества вводили внутрь за час до инъекции раствора уксусной кислоты: мышам контрольной группы вводили физиологический раствор, мышам группы препарата сравнения — диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг, животным опытных групп — основной метаболит афобазола М-11 в дозах 1, 5, 10, 20 и 40 мг/кг.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 8.0. В каждой экспериментальной группе было от 6 до 16 животных. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро—Уилка, гомогенность дисперсий групп — с помощью критерия Левена. При нормальном распределении и выполнении теста на гомогенность дисперсий Левена для дальнейшей обработки использовали

параметрический критерий Ньюмана—Кейлса, при ненормальном распределении или невыполнении теста на гомогенность дисперсий дальнейшую статистическую обработку проводили с помощью метода непараметрической статистики — критерия Манна—Уитни. Результаты в диаграмме на рисунке представлены как среднее \pm ошибка среднего — Mean \pm SEM, в таблицах — как среднее \pm ошибка среднего (стандартное отклонение) — Mean \pm SEM (SD) и медиана, 25% \div 75% процентили — Mediana, 25% \div 75%. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Введение 1% раствора уксусной кислоты (внутрибрюшинно) вызывало у мышей контрольной группы развитие выраженного экссудативного воспаления в брюшной полости, что выражалось в образовании в среднем 879,6 мг экссудата (рис. 1).

Основной метаболит афобазола М-11 в дозах 1 и 5 мг/кг уменьшал образование перитонеального экссудата у мышей соответственно на 18,9 и 16,1% относительно значения контрольной группы, однако это снижение имело характер тенденции ($p \leq 0,1$). В дозе 10 мг/кг М-11 проявлял достоверное противовоспалительное действие, уменьшая среднюю массу экссудата по сравнению с показателем контрольных животных на 20,3%. Однако дальнейшее повышение дозы М-11 до 20 и 40 мг/кг не приводило к увеличению антиэкссудативной активности соединения: в этих дозах М-11 не влиял на образование экссудата в брюшной полости мышей с уксуснокислым перитонитом (рис. 1).

Препарат сравнения диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг проявил выраженное противовоспалительное действие, достоверно снизив массу перитонеального экссудата на 58,4% по сравнению с контрольной

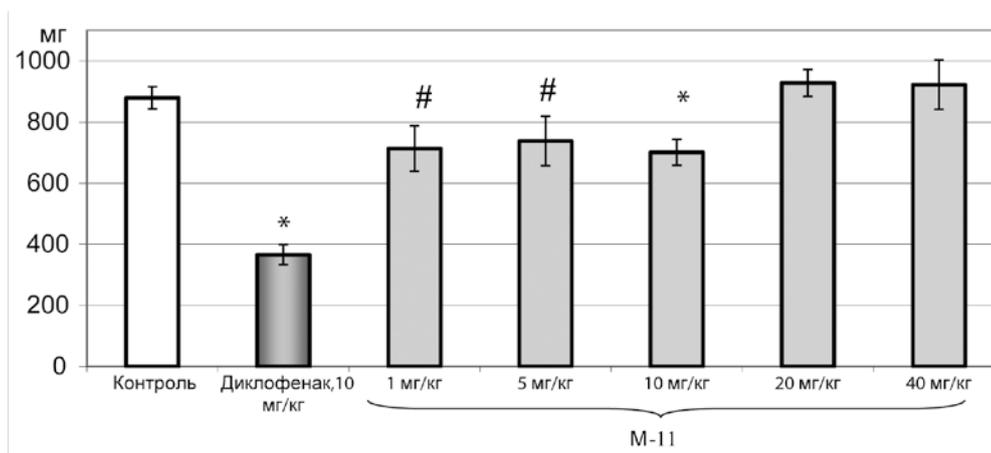


Рис. 1. Влияние основного метаболита афобазола М-11 и диклофенака натрия при введении внутрь на выраженность экссудативной стадии воспаления у мышей с перитонитом, вызванным внутрибрюшинным введением раствора уксусной кислоты. **Примечание:** по оси абсцисс — группы животных, получавшие М-11, диклофенак натрия, физиологический раствор (контроль); по оси ординат — масса собранного из брюшной полости экссудата, * — $p \leq 0,02$ по сравнению с контрольной группой, критерий Ньюмана—Кейлса; # — $p \leq 0,1$ по сравнению с контрольной группой, критерий Ньюмана—Кейлса, в группах нормальное распределение, тест на гомогенность дисперсий Левена выполняется; данные представлены как Mean \pm SEM

Таблица 1

Влияние основного метаболита афобазола М-11 и диклофенака натрия на выраженность висцеральной боли у мышей**

Группа	Количество корчей, ед.		Латентный период, с.	
	Mean±SEM (SD)	Mediana, 25%÷75%	Mean±SEM (SD)	Mediana, 25%÷75%
Контроль	74,62±3,2 (16,5)	72,50 65,0÷81,0	216,00±10,6 (54,3)	200,00 184,0÷244,0
Диклофенак, 10 мг/кг, внутрь	31,36±4,6* (17,4)	30,50* 17,0÷44,0	284,17±35,0* (85,7)	259,00* 227,0÷290,0
М-11, 1 мг/кг, внутрь	78,40±10,1 (31,95)	87,50 48,0÷95,0	221,25±13,6 (27,2)	212,50 202,5÷240,0
М-11, 5 мг/кг, внутрь	95,30±7,1* (22,4)	90,00* 80,0÷110,0	202,5±12,5 (39,7)	195,00 170,0÷235,0
М-11, 10 мг/кг, внутрь	85,33±5,2* (18,0)	89,00* 79,5÷99,0	208,5±10,9 (37,7)	205,50 193,0÷224,5
М-11, 20 мг/кг, внутрь	66,38±6,4 (18,1)	68,50 58,5÷80,5	245,89±17,7 (50,0)	232,50 212,5÷263,5
М-11, 40 мг/кг, внутрь	77,00±11,5 (28,2)	74,00 51,00÷96,00	198,67±6,3 (15,38)	197,50 187,0÷210,0

Примечание: * — $p \leq 0,05$ по сравнению с контролем, критерий Манна-Уитни; ** — в таблице данные представлены как среднее ± ошибка среднего (стандартное отклонение) — Mean±SEM (SD) и медиана, 25%÷75% процентиля — Mediana, 25%÷75%.

группой (см. рис. 1). При этом масса экссудата у мышей, получавших диклофенак натрия, была также достоверно ниже массы экссудата у животных, получавших основной метаболит афобазола М-11 во всех изучаемых дозах.

Внутрибрюшинное введение животным раствора уксусной кислоты приводило к появлению у них выраженной боли, проявлявшейся в специфических реакциях — корчах, количество которых в контрольной группе в среднем составляло 74,6 за 15 мин наблюдения (табл. 1). Основной метаболит афобазола М-11 во всех изучаемых дозах не обнаружил противоболевого действия. Более того, в дозах 5 и 10 мг/кг он достоверно усиливал выраженность висцерального болевого раздражения животных, увеличивая среднее количество корчей соответственно на 27,7 и 14,4% относительно контрольной группы. Вместе с тем, М-11 достоверно не изменял латентный период начала корчей. Полученные результаты согласуются с ранее полученными

данными о способности афобазола в дозах 1 и 10 мг/кг ослаблять анальгетическое действие морфина [9].

Препарат сравнения диклофенак натрия вызывал достоверное снижение выраженности висцеральной болевой реакции (количества корчей) на 58,0% и повышал латентный период начала корчей на 31,6% ($p \leq 0,05$) относительно контрольной группы (табл. 1).

Выводы

1. Основным метаболит афобазола М-11 в дозах 1, 5 и 10 мг/кг при введении внутрь мышам снижает выраженность экссудативной стадии воспаления, оказывая в дозе 10 мг/кг достоверный эффект по сравнению с контролем. По эффективности М-11 в дозе 10 мг/кг уступает препарату сравнения диклофенаку натрия в дозе 10 мг/кг.

2. М-11 в дозах от 1 до 40 мг/кг (при введении внутрь) не проявляет противоболевого действия на модели острой висцеральной боли у мышей.

Литература

1. Бастрыгин Д.В. Экспериментальное изучение биотрансформации и фармакокинетики основного метаболита афобазола — соединения М-11 [диссертация], М.: 2012.
2. Середенин С.Б., Воронин М.В. Нейрорецепторные механизмы действия Афобазола. Эксперимент и клин. фармакология. 2009; 72 (1): 3–11.
3. Кадников И.А., Воронин М.В., Середенин С.Б. Цитопротекторное действие афобазола и его основного метаболита М-11. Бюл. Экспер. биол. 2015; 1: 52–55.
4. Nosjean O., Ferro M., Coge F., Beauverger P., Henlin J.M. Lefoulon F. et al. Identification of the melatonin-binding site MT3 as the quinone reductase 2. J. Biol. Chem. 2000; 275 (40): 31311–7.
5. Steele M., Stuchbury G., Münch G. The molecular basis of the prevention of Alzheimer's disease through healthy nutrition. Exp. Gerontol. 2007; 42: 28–36.

6. Jiang Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant and anti-inflammatory activities and the role in disease prevention and therapy. Free Radic. Biol. Med. 2014; 72: 76–90.
7. Miljković D., Blaževski J., Petković F., Djedović N., Momčilović M., Stanislavljević S. et al. A comparative analysis of multiple sclerosis-relevant anti-inflammatory properties of ethyl pyruvate and dimethyl fumarate. J. Immunol. 2015; 194 (6): 2493–503.
8. Шварц Г.Я., Субаев Р.Д. Методические рекомендации по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств. В книге: «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Часть 1. М.: Гриф и К, 2012; 746–58.
9. Колик Л.Г., Жуков В.Н., Середенин С.Б. Влияние афобазола на антиноцицептивные свойства морфина. Эксперим. и клин. фармакол. 2009; 72 (1): 22–3.