View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk

brought to you by CORE

УДК 616-002.3:615.276:615.015.16:616-001.18 https://doi.org/10.24959/nphj.20.37

І. Г. Капелька, С. Ю. Штриголь

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

Характеристика протизапальної дії диклофенаку натрію за низької та нормальної температури

Мета роботи. Визначити вплив низької температури довкілля та викликаної нею гіпотермії на протизапальну активність класичного НПЗП диклофенаку натрію на моделі карагенінового набряку у мишей.

Матеріали та методи. Використано модель ексудативного запалення – карагеніновий набряк. Мишам субплантарно у ліву задню лапу вводили 0,05 мл 1 % розчину карагеніну, права лапа служила контролем. Диклофенак натрію вводили у вигляді суспензії внутрішньошлунково за 30 хв до введення карагеніну в ефективній фригопротекторній дозі 14 мг/кг. Дослідження проводили в трьох температурних режимах: 1) за постійної температури довкілля +22 °С; 2) при холодовій експозиції тварин (+10 °С) впродовж 3 год після введення карагеніну; 3) при холодовій експозиції (+10 °С) впродовж 3 год до та 3 год після введення карагеніну. Виразність запальної реакції оцінювали за приростом маси лапи тварин. Протизапальну активність диклофенаку натрію визначали за здатністю зменшувати масу набряклої лапи у порівнянні з нелікованим контролем. Для оцінки тяжкості гіпотермії вимірювали температуру тіла тварин інфрачервоним термометром.

Результати та їх обговорення. За температури 22 °С карагенін збільшував медіанне значення маси лапи на 84 мг (73 %), диклофенак натрію зменшував її приріст на 22,5 мг (16,5 %), що свідчить про притаманну цьому препарату протизапальну дію. У режимі 2 флогогенний ефект карагеніну зберігався, але його виразність була значно менше ($p \leq 0,01$) – приріст маси лапи становив лише 54,5 мг (44 %). Протизапальний ефект диклофенаку за цих умов був відсутній – маса набряклої лапи збільшилась на 51,5 мг (42 %). У режимі 3 прозапальний ефект карагеніну був ще слабший: маса набряклої лапи зросла лише на 47,0 мг (36 %), диклофенак натрію за цих умов також не виявив протизапальної дії, збільшуючи медіанне значення маси лапи на 42,5 мг (32 %). Диклофенак натрію достовірно зменшував ступінь гіпотермії у 2 та 3 режимах, що підтверджує наявність фригопротекторних властивостей. Проаналізовано зв'язок між ступенем гіпотермії та виразністю запальної реакції.

Висновки. Прозапальна дія карагеніну за гіпотермії знижується. Диклофенак натрію демонструє фригопротекторні властивості, зменшуючи тяжкість гіпотермії. Протизапальна дія препарату на моделі карагенінового набряку зникає за низьких температур навколишнього середовища.

Ключові слова: *запалення; модель; карагенін; протизапальна дія; диклофенак натрію; гіпотермія*

I. G. Kapelka, S. Yu. Strygol'

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

The characteristics of the anti-inflammatory action of sodium diclofenac in cold and normal environment

Aim. To determine the effect of low temperature and the resulting hypothermia on the anti-inflammatory activity of classical NSAID – sodium diclofenac on the model of carrageenan-induced paw edema in mice.

Materials and methods. The model of exudative inflammation – carragenin-induced paw edema was used. Mice were given an injection into the plantar aponeurosis of the left hind paw with 0.05 ml of a 1 % carrageenan solution. Sodium diclofenac was administered as a suspension intragastrically for 30 minutes before carrageenan in an effective frigoprotective dose of 14 mg/kg. The study was performed in three temperature regimes: 1) at a constant temperature +22 °C; 2) during cold exposure of animals (+10 °C) for 3 hours after the carrageenan injection; 3) during cold exposure of animals (+10 °C) for 3 hours before and 3 hours after carrageenan injection. The severity of the inflammatory reaction was evaluated by the increase in the mass of the paws of animals. The anti-inflammatory activity of sodium diclofenac was determined by the ability to reduce the mass of the edematous limb compared to the untreated control. To assess the severity of hypothermia, the body temperature of animals was measured using an infrared thermometer.

Results and discussion. At a temperature of 22 °C, carrageenan increased the median paw mass by 84 mg (73 %), sodium diclofenac decreased its growth by 22.5 mg (16.5 %). It indicates the inherent anti-inflammatory effect of this drug. In regime 2 the phlogogenic effect of carrageenan persisted, but its severity was significantly less ($p \leq 0.01$) – the increase in paw mass was only 54.5 mg (44 %). Under these conditions, the anti-inflammatory effect of diclofenac was absent – the mass of the edematous paw increased by 51.5 mg (42 %). In regime 3 the pro-inflammatory effect of carrageenan was even weaker: the mass of the edematous paw increased by only 47.0 mg (36 %), sodium diclofenac also did not show the anti-inflammatory effect under these conditions, increasing the median paw mass by 42.5 mg (32 %). Sodium diclofenac significantly reduced the degree of hypothermia in regimes 2 and 3, confirming the presence of frigoprotective properties. The relationship between the degree of hypothermia and the severity of the inflammatory reaction was analyzed.

Conclusions. The pro-inflammatory effect of carrageenan decreases with hypothermia. Sodium diclofenac exhibits frigoprotective properties, reducing the severity of hypothermia. The anti-inflammatory effect of the drug on the model of carrageenan-induced paw edema disappears at low temperatures.

Key words**:** *inflammation; model; carrageenan; anti-inflammatory action; sodium diclofenac; hypothermia*

И. Г. Капелька, С. Ю. Штриголь
Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины

Характеристика противовоспалительного действия диклофенака натрия при низкой и нормальной температуре

Цель. Определить влияние низкой температуры окружающей среды и вызванной ею гипотермии на противовоспалительную активность классического НПВП диклофенака натрия на модели каррагенинового отёка у мишей.

Материалы и методы. Использована модель экссудативного воспаления – каррагениновый отёк. Мышам субплантарно в левую заднюю лапу вводили 0,05 мл 1 % раствора каррагенина, правая лапа служила контролем. Диклофенак натрия вводили в виде суспензии внутрижелудочно за 30 мин до введения каррагенина в эффективной фригопротекторной дозе 14 мг/кг. Исследование проводили в трёх температурных режимах: 1) при постоянной температуре окружающей среды +22 °С; 2) при холодовой экспозиции животных (+10 °С) на протяжении 3 ч после введения каррагенина; 3) при холодовой экспозиции животных (+10 °С) на протяжении 3 ч до и 3 ч после введения каррагенина. Выраженность воспалительной реакции оценивали по приросту массы лапы животных. Противовоспалительную активность диклофенака натрия определяли по способности уменьшать массу отёчной конечности в сравнении с нелеченым контролем. Для оценки тяжести гипотермии измеряли температуру тела животных инфракрасным термометром.

Результаты и их обсуждение. При температуре 22 °С каррагенин увеличивал медианное значение массы лапы на 84 мг (73 %), диклофенак натрия уменьшал ее прирост на 22,5 мг (16,5 %), что свидетельствует о присущем этому препарату противовоспалительном действии. В режиме 2 флогогенный эффект каррагенина сохранялся, но его выраженность была значительно меньше ($p \le 0,01$) – прирост массы лапы составил всего 54,5 мг (44 %). Противовоспалительный эффект диклофенака в этих условиях отсутствовал – масса отёчной лапы увеличилась на 51,5 мг (42 %). В режиме 3 провоспалительный эффект каррагенина был ещё слабее: масса отёчной лапы возросла всего на 47,0 мг (36 %), диклофенак натрия в этих условиях также не проявил противовоспалительного действия, увеличивая медианное значение массы лапы на 42,5 мг (32 %). Диклофенак натрия достоверно снижал степень гипотермии во 2 и 3 режимах, что подтверждает наличие фригопротекторных свойств. Проанализирована связь между степенью гипотермии и выраженностью воспалительной реакции.

Выводы. Провоспалительное действие каррагенина при гипотермии снижается. Диклофенак натрия демонстрирует фригопротекторные свойства, уменьшая тяжесть гипотермии. Противовоспалительное действие препарата на модели каррагенинового отёка исчезает при низких температурах окружающей среды.

Ключевые слова: *воспаление; модель; каррагенин; противовоспалительное действие; диклофенак натрия; гипотермия*

Вступ. Вплив холоду на організм людини пов'язаний з ризиком тяжких холодових травм (ХТ), таких як гіпотермія та відмороження. За період з 12 грудня 2018 р. по 8 січня 2019 р. до закладів охорони здоров'я звернулись 1037 людей, які постраждали від переохолоджень та відморожень, 955 осіб було госпіталізовано [1]. Особливу небезпеку ХТ становлять для військових, спортсменів та безхатченків. Частота ХТ серед американських військових у 2019 році склала 36,5 випадків на 100 000 осіб [2]. На 1000 альпіністів реєструється 366 випадків відмороження, а для лижників частота уражень складає 20 % [3].

Розуміння патогенезу ХТ залишається недостатньо повним. Однак відомо, що значну роль у механізмі холодового ураження відіграють медіатори запалення, такі як простагландини, брадикінін та гістамін. Серед простагландинів особливе значення мають простагландин $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) та тромбоксан A_2 (TXA_2). Ці медіатори посилюють агрегацію тромбоцитів та вазоконстрикцію, що призводить до утворення тромбів у судинному руслі та розвитку ішемії. Це особливо небезпечно на фоні судинного спазму, характерного для ХТ, що може призвести до тяжких ускладнень аж до ампутацій уражених кінцівок [4].

Зазначена роль простагландинів у патогенезі ХТ спонукає до дослідження нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) на наявність фригопротекторних властивостей. Зокрема, доведено фригопротекторну активність ацетилсаліцилової кислоти (АСК), мелоксикаму, целекоксибу, диклофенаку натрію, дарбуфелону [5, 6]. На моделі гострого загального охолодження ці препарати значно подовжують час життя тварин, а для АСК верифіковано зменшення ступеня гіпотермії [6].

Проте наявні дані про порушення утворення та виділення простагландинів за умов гіпотермії [7]. До того ж у механізмі запалення беруть участь судинні реакції, а вазоспазм, що закономірно виникає при охолодженні, особливо в дистальних сегментах кінцівок, очевидно, віддзеркалюється на перебігу запального процесу [4]. Це ускладнює розуміння механізму фригопротекторної дії НПЗП. Досліджувана проблема в літературі висвітлюється недостатньо, публікації останніх років відсутні. Існують поодинокі ранні повідомлення про зменшення флогогенного ефекту карагеніну при гіпотермії [8]. Тому важливо уточнити виразність карагенінового набряку та порівняти інтенсивність протизапальної дії НПЗП в умовах нормотермії та гіпотермії, яку викликано ХТ.

Мета роботи. Визначити вплив низької температури довкілля та викликаної нею гіпотермії на протизапальну активність класичного НПЗП диклофенаку натрію на моделі карагенінового набряку в мишей.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 57 мишах самцях масою 22-24 г на базі Навчально-наукового тренінгового центру медико-біологічних досліджень Навчально-наукового інституту прикладної фармації. Дотримані норми та принципи,

затверджені Ґельсінською декларацією щодо гуманного поводження з тваринами (2000 р.) та Директивою Ради Європейського Союзу щодо захисту тварин, які використовуються з науковою метою (2010 р.). Використовували модель ексудативного запалення – карагеніновий набряк [6, 10]. У ліву задню лапу тварин субплантарно вводили 0,05 мл 1 % розчину карагеніну (Sigma Aldrich, США), права (інтактна) кінцівка служила контролем.

Холодовий вплив моделювали, вміщуючи мишей в індивідуальні прозорі пластикові контейнери об'ємом 500 см^3, які не обмежують доступ повітря та рухомість тварин, і розміщуючи контейнери у рефрижераторі за температури +10 °С. Дослідження проводили у трьох температурно-часових режимах: 1) за постійної температури довкілля +22 °С; 2) при холодовій експозиції тварин (+10 °С) впродовж 3 год після введення карагеніну, коли флогоген і НПЗП починали діяти одночасно з холодовим впливом; 3) при холодовій експозиції (+10 °С) впродовж 3 год до та 3 год після введення карагеніну, коли флогоген і НПЗП починали діяти на тлі вже наявної гіпотермії. Тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців через 3 год після ін'єкції карагеніну. Виконували екзартикуляцію стопи в скакальному (гомілковостопному) суглобі та зважували її на електронних вагах. Виразність запальної реакції оцінювали за приростом маси лапи тварин проти маси інтактної лапи [9-11]. Протизапальну активність диклофенаку натрію визначали за здатністю зменшувати масу набряклої лапи у порівнянні з неліkованим контролем.

Оскільки за гіпотермії виникає спазм судин [4] та, відповідно, погіршується резорбція рідини, а маса введеного розчину карагеніну складає приблизно 50 мг, тобто близько 40-45 % від середньої маси лапи миші [11], закономірно постає питання про внесок такої кількості рідини в кінцеву масу лапи. Для перевірки цього трьом окремим тваринам у кожному температурному режимі субплантарно вводили 0,9 % розчин NaCl у такому ж об'ємі, як і розчин карагеніну (0,05 мл).

У дослідженні використовували диклофенак натрію (Вольтарен, таблетки, «Novartis», Швейцарія) як найефективніший фригопротектор з-поміж НПЗП – неселективних інгібіторів ЦОГ у дозі 14 мг/кг, що чинить найбільший фригопротекторний ефект [5]. Таблетки подрібнювали в ступці та суспендували у воді з додаванням твіну-80. Суспензію вводили через зонд внутрішньошлунково (в/ш) в об'ємі 10 мл/кг маси тіла (по 0,20-0,24 мл на тварину) за 30 хв до флогогену. Тварин випадковим чином розділили на 9 груп. Для кожного з трьох температурно-часових режимів створено 3 відповідні групи:1) контрольної патології – мишам в/ш вводили 10 мл/кг води, субплантарно – розчин карагеніну (n=8); 2) диклофенаку натрію – препарат вводили в/ш за 30 хв до карагеніну (n=8); 3) контролю резорбції рідини – субплантарно вводили 0,05 мл 0,9 % розчину NaCl (n=3).

Впродовж дослідження вимірювали температуру тіла мишей за допомогою безконтактного інфрачервоного термометра ArhiMED Ecotherm ST 330 на передній черевній стінці у таких проміжках часу: для режиму 1 – на початку та наприкінці експерименту; для режиму 2 – до початку холодової експозиції, через 30 хв після початку холодової експозиції, наприкінці експерименту; для режиму 3 – до початку холодової експозиції, через 30 хв після початку холодової експозиції, на 3 та 6 год експерименту. Зв'язок між температурою тіла та виразністю запального набряку характеризували за коефіцієнтом кореляції Спірмена.

Результати обробляли статистично з використанням критерію Краскела-Волліса для множинного порівняння та U-критерію Манна-Вітні для попарного порівняння. Відмінності температури всередині окремих груп у динаміці оцінювали за парним критерієм Вілкоксона. Для описання градації сили кореляції використано шкалу Чертока. Аналіз проводили за допомогою програми Statistica 10.0. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$ (з урахуванням перерахунку на кількість досліджуваних груп).

Результати та їх обговорення. Результати вимірювань маси лап тварин наведено в табл. 1.

Як видно з табл. 1, медіанні та середні значення зміни маси лапи виявились близькими. За температури +22 °С карагенін чинить типовий флогогенний ефект, збільшуючи медіанне значення маси лапи за 3 год на 84 мг (73 %). Диклофенак натрію достовірно ($p \leq 0,05$) зменшує приріст маси лапи на 22,5 мг (16,5 %), що свідчить про притаманну цьому препарату протизапальну дію. Рідина, яка вводиться субплантарно, не бере участі у формуванні запального набряку, оскільки різниця маси лівої та правої лапи у тварин, яким вводили ізотонічний розчин NaCl, становить лише 3,7 %.

В умовах режиму 2, коли карагеніновий набряк починав розвиватися синхронно з початком холодового впливу, флогогенний ефект карагеніну зберігався, але його виразність була значно менше ($p \leq 0,01$), ніж за температури +22 °С – приріст маси лапи становив лише 54,5 мг (44 %). Певну, але не вирішальну роль у формуванні запального набряку відігравав фактор наповнення субапоневротичного простору введеною рідиною: маса лапи під впливом розчину NaCl збільшувалась на 15,6 %. Протизапальний ефект диклофенаку за цих умов був відсутній. На тлі препарату медіанне значення маси набряклої лапи збільшилось на 51,5 мг (42 %) – майже як у мишей відповідної групи контрольної патології.

Аналогічні результати спостерігались в умовах режиму 3, коли дія карагеніну та НПЗП починалась на тлі вже наявної холодової травми. Прозапальний ефект карагеніну був ще слабший, ніж у режимі 2: маса набряклої лапи зросла лише на 47,0 мг (36 %), внесок фактора навантаження рідиною у формування набряку був незначним (приріст маси в групі розчину NaCl становив 9,2 %). Диклофенак натрію за цих умов також не виявив протизапальної дії, збільшуючи медіанне значення маси лапи на 42,5 мг (32 %).

Динаміку температури тіла тварин наведено в табл. 2.

У тварин групи контрольної патології (1 режим) температура тіла наприкінці експерименту не зміню-

Таблиця 1

Вплив температурного режиму на зміну маси лапи мишей на моделі карагенінового набряку (Me[Q25;Q75]; M ± m)

Група, кількість тварин	Маса лапи, мг		Різниця маси правої та лівої лапи	
	правої (інтактна)	лівої (карагенін або 0,9 % розчин NaCl)	абсолютна, мг	відносна, %
Весь експеримент за температури +22 °С (режим 1)				
Контрольна патологія, n=8	117,5 [111; 121] 116,2 ± 4,4	199,0 [181; 214] 199,5 ± 9,9	84,0 [69; 93] 83,3 ± 6,1	73,0 [70; 77] 71,5 ± 3,4
Диклофенак натрію, n=8	110,5 [104; 118] 111,2 ± 3,9	174,5 [160; 182] 175,3 ± 7,3	61,5 [58; 63]* 64,2 ± 5,2*	56,5 [50; 60]* 57,8 ± 4,4*
NaCl, 0,9%, n=3	136 [110; 150] 132,0 ± 11,7	141 [115; 154] 136,7 ± 11,5	5 [4; 5]* 4,7 ± 0,3*	3,7 [3; 5]* 3,6 ± 0,5*
Холодова експозиція тварин (+10 °С) впродовж 3 год після введення карагеніну (режим 2)				
Контрольна патологія, n=8	133,5 [123; 142] 130,5 ± 5,6	182,5 [170; 199] 184,5 ± 6,9	54,5 [44; 63]** 54,0 ± 4,2**	44,0 [32; 49]** 42,0 ± 3,8**
Диклофенак натрію, n=8	114,5 [108; 126] 118,8 ± 5,1	173,0 [152; 179] 168,0 ± 6,1	51,5 [43; 56]**# 49,3 ± 3,1**#	42,0 [35; 50]**# 41,9 ± 3,0**#
NaCl, 0,9 %, n=3	149 [147; 149] 148,3 ± 0,7	170 [150; 181] 167,0 ± 9,1	23 [1; 32]* 18,7 ± 9,2*	15,6 [1; 21]* 12,6 ± 6,2*
Холодова експозиція тварин (+10 °С) впродовж 3 год до та 3 год після введення карагеніну (режим 3)				
Контрольна патологія, n=8	131,5 [122; 142] 133,3 ± 5,5	178,5 [164; 206] 183,6 ± 8,0	47,0 [41; 61]** 50,4 ± 4,3**	36,0 [31; 45]** 37,9 ± 3,0**
Диклофенак натрію, n=8	125,0 [115; 145] 129,6 ± 6,1	177,5 [168; 188] 172,4 ± 7,8	42,5 [37; 57]**# 42,8 ± 6,6**#	32,0 [24; 49]**# 33,9 ± 6,2**#
NaCl, 0,9 %, n=3	131 [129; 150] 136,7 ± 6,7	143 [142; 154] 146,3 ± 3,8	12 [4; 13]* 9,7 ± 2,9*	9,2 [3; 10]* 7,3 ± 2,3*

Примітка. Статистично значущі відмінності: 1. З контрольною патологією (у першому режимі): * – p ≤ 0,05, ** – p ≤ 0,01; 2. З показником на тлі диклофенаку натрію в першому режимі: #–p ≤ 0,05, ##– p ≤ 0,01.

валась. У мишей групи контрольної патології (2 режим) впродовж 3 год перебування при +10 °С мала місце виразна гіпотермія (температура тіла знизилась на 4,1 °С порівняно з вихідним значенням, p ≤ 0,05). На тлі дії диклофенаку натрію зниження температури тіла становило лише 1,4 °С (p ≤ 0,05). У режимі 3 через 3 год перебування при +10 °С температура тіла інтактних тварин зменшилась у середньому на 2,4-3,4 °С (p ≤0,05). Подальший перебіг холодової травми через 3 год перебування при +10 °С, коли тварини

Таблиця 2

Показники температури тіла тварин (Me[Q25;Q75]; M ± m)

Група, кількість тварин	Температура тіла, °С		
	вихідна	на 3 год експерименту	на 6 год експерименту
Весь експеримент за температури (+22 °С) (режим 1)			
Контрольна патологія, n=8	36,3[36,1; 36,3] 36,2 ± 0,07	36,1[36,0; 36,2] 36,1 ± 0,08	–
Диклофенак натрію, n=8	36,6[36,5; 37] 36,7 ± 0,13	36,5[36,4; 37,2]§ 36,7 ± 0,17§	–
Холодова експозиція тварин (+10 °С) впродовж 3 год після введення карагеніну (режим 2)			
Контрольна патологія, n=8	36,9[36,5; 37,0] 36,8 ± 0,1	34,3[30; 34,8]* 32,7 ± 1,4*	–
Диклофенак натрію, n=8	36,5[36,4; 37,1] 36,7 ± 0,14	35,5[35,1; 35,9]*§ 35,3 ± 0,3*§	–
Холодова експозиція тварин (+10 °С впродовж 3 год до та 3 год після введення карагеніну (режим 3)			
Контрольна патологія, n=8	36,4[36,3; 36,4] 36,3 ± 0,05	33,2[32,8; 33,9]* 32,9 ± 0,6*	35,4[34,7; 35,9]*# 35,3 ± 0,3*#
Диклофенак натрію, n=8	36,4[36,2; 36,4] 36,3 ± 0,05	34,1[33,4; 34,7]* 34,0 ± 0,3*	35,3[34,3; 36,2]*# 35,2 ± 0,4*#

Примітка. Статистично значущі відмінності: 1. У порівнянні з вихідною температурою: * – (p ≤ 0,05);
2. У порівнянні з попереднім показником: # – (p ≤ 0,05); 3. У порівнянні з відповідним контролем: § – (p ≤ 0,05).

Таблиця 3

Коефіцієнт кореляції між збільшенням маси лапи та температурою тіла мишей на моделі карагенінового набряку за перебування при різній температурі довкілля, ρ(Δm,%/t °C)

Група	Температура довкілля		
	+22 °C	+10 °C впродовж 3 год після введення карагеніну	+10 °C впродовж 3 год до та після введення карагеніну
Контрольна патологія	–0,7247	–0,4431	0,2619
Диклофенак натрію	0,1642	0,0607	0,5030

отримали карагенін (група контрольної патології) і диклофенак натрію перед карагеніном, характеризувався зростанням температури тіла в обох групах. Наприкінці експерименту температура тіла була нижче за вихідні значення на 1,0-1,1 °C ($p \leq 0,05$).

Результати кореляційного аналізу (табл. 3) свідчать, що за температури довкілля +22 °C у групі контрольної патології спостерігається сильний обернений зв'язок між ступенем збільшення маси лапи та температурою тіла. За умов холодової експозиції впродовж 3 год сила оберненого зв'язку зменшується до середньої та переходить до слабкої прямої при холодовій експозиції впродовж 6 год. Для групи диклофенаку натрію характерним є прямий зв'язок між ступенем збільшення маси лапи та температурою тіла, сила якого збільшується від слабкого до середнього при зростанні тривалості холодової експозиції.

Полісахарид карагенін є класичним флогогеном, який посилює утворення низки медіаторів запалення (у т. ч. простагландинів) і за субплантарного введення збільшує проникність судин, що провокує розвиток виразної запальної реакції з переважанням ексудативної фази [12]. Результати дослідження свідчать, що флогогенний ефект карагеніну в умовах низької температури довкілля та викликаної нею гіпотермії слабшає в залежності від тривалості холодової експозиції. Що більше тривалість холодової експозиції, то менший ефект карагеніну спостерігається. Ці результати збігаються з даними про зменшення карагенінового набряку лапи в щурів при гіпотермії незалежно від її причини (перебування тварин при низькій температурі довкілля або введення хлоропромазину) [8].

Субплантарне введення еквівалентної кількості ізотонічного розчину NaCl за температури +22 °C практично не впливає на кінцеву масу лапи тварин, що вказує на швидку та практично повну резорбцію рідини із субапоневротичного простору. Однак за холодової експозиції цей вплив починає виявлятися, хоча й не є вирішальним. Так, при експозиції впродовж 3 год медіанне значення маси лапи після введення розчину карагеніну зростає на 44 %, близько 15 % з цієї величини може бути зумовлено залишком рідини, яка за рахунок судинного спазму, очевидно, не всмоктується повною мірою. При тривалішому впливі холоду із 36 % приросту маси лапи близько 9 % може пояснюватись залишком введеної рідини. Отже, істинне збільшення маси лапи мишей, які тривалий час перебувають при +10 °C, на моделі карагенінового набряку може складати близько 27-28 % проти приблизно 70 % при комфортній температурі довкілля +22 °C.

Причина зменшення карагенінового набряку може бути пов'язана зі зменшенням ексудації за рахунок холодового спазму судин. Певною мірою такий ефект пояснюється впливом гіпотермії на утворення ендотеліну, простагландину I_2 та $ТХА_2$. Ці речовини відіграють важливу роль у регуляції місцевого кровообігу, а дисбаланс між ними сприяє вазоконстрикції та тромбоутворенню, що порушує кровообіг та призводить до ішемічного ураження [7]. Досить виразна гіпотермія, яка, очевидно, могла б спричинити такі порушення в системі простагландинів, спостерігалась у мишей у нашому дослідженні. Результати кореляційного аналізу підтверджують вплив опосередкованої низькою температурою довкілля гіпотермії на розвиток карагенінового набряку. Зміна напряму зв'язку цих показників за різних режимів дослідження свідчить, що гіпотермія перешкоджає розвитку набряку. Це означає, що тяжкість порушення функціонального стану судин безпосередньо залежить від температури тіла тварин, що, відповідно, впливає на ступінь флогогенного ефекту карагеніну.

Таким чином, викликане гіпотермією порушення стану судин та реологічних властивостей крові, і уповільнення кровообігу [13] можуть призводити як до погіршення всмоктування введеної у лапу рідини, так і до пригнічення розвитку набряку при введенні карагеніну. Тому можливості використання моделі карагенінового набряку для вивчення протизапальних (переважно антиексудативних, відповідно до патогенетичної суті моделі) властивостей НПЗП за умов гіпотермії обмежені.

Постає питання про причини зростання температури тіла мишей за експериментального режиму 3, коли через 3 год холодової експозиції ступінь гіпотермії почав зменшуватись як у групі контрольної патології, так і в групі диклофенаку натрію. Можливо, вони пояснюються стратегією екстренної адаптації організму до дії холоду шляхом посиленої мобілізації енергетичного обміну, зокрема резервних вуглеводів. Так, на моделі гострого загального охолодження у щурів після закінчення холодового впливу виявлено гіперглікемію (рівень глюкози достовірно зростав на 38-44 % проти показника інтактного контролю) на тлі зменшення на 34-48 % вмісту глікогену в печінці [14, 15]. Показово, що за даними [14] АСК

не заважала цій адаптивній реакції та навіть посилювала виснаження запасу глікогену.

Протизапальна (антиексудативна) дія НПЗП на карагеніновій моделі за низької температури довкілля практично відсутня. Про це свідчить майже однакове збільшення маси набряклої лапи в групах контрольної патології та диклофенаку натрію. Для вичерпного пояснення цього феномена потрібні окремі дослідження. З фармакокінетичним фактором (зокрема, зменшенням потрапляння НПЗП до вогнища майбутнього запалення внаслідок погіршення кровообігу) його навряд чи можна пов'язати. Дійсно, за експериментального режиму 2, коли диклофенак натрію вводили за 30 хв до початку дії низької температури, яка могла б уповільнити розподіл діючої речовини, та за режиму 3, коли його вводили на тлі виразної гіпотермії, виразність набряку була подібною. З огляду на вищенаведені дані щодо зменшення утворення простагландинів за низької температури тіла [7] можна припустити спричинене гіпотермією виснаження цього типового механізму дії НПЗП, що нівелює його протизапальний ефект.

Проте у НПЗП (принаймні в АСК у фригопротекторній дозі 25 мг/кг у профілактичному режимі) за умов гострого загального охолодження у щурів виявлені інші властивості, пов'язані з протизапальною дією. Це, зокрема, вплив на баланс цитокінів – статистично значуще зниження вмісту прозапального інтерлейкіну IL-1β на 34 % та збільшення рівня протизапального IL-10 на 184 % [16]. Отже, особливості механізму протизапальної дії НПЗП за умов гіпотермії потребують подальшого з'ясування.

Крім того, хоча протизапальна та фригопротекторна дія НПЗП пов'язані між собою, вони, очевидно, можуть дисоціювати. Про це свідчать результати вимірювання температури тіла мишей: під впливом диклофенаку натрію ступінь гіпотермії зменшується, особливо виразно за режиму 2, що доводить відомі фригопротекторні властивості цього препарату та низки інших НПЗП [5, 6].

Підсумовуючи комплекс отриманих даних, слід підкреслити як теоретичну, так і практичну значущість результатів. Їх доцільно враховувати при плануванні експериментальних досліджень запалення, НПЗП та фригопротекторів. Перспективним є дослідження тонких механізмів зниження флогогенного ефекту карагеніну та протизапальної дії НПЗП за низьких температур. У клінічній практиці слід враховувати можливу неефективність НПЗП в умовах гіпотермії.

Висновки та перспективи подальших досліджень

1. Флогогенна дія карагеніну за умов тригодинної експозиції мишей з моделлю карагенінового набряку при +10 °С значно зменшується.

2. Протизапальна дія диклофенаку натрію на моделі карагенінового набряку за умов гіпотермії зникає.

3. Диклофенак натрію зменшує тяжкість гіпотермії, демонструючи фригопротекторні властивості на моделі тривалого перебування мишей за температури +10 °С.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Як уникнути переохолодження: нагадуємо основні правила поведінки у холод. URL: https://moz.gov.ua/article/news/jak-uniknuti-pereoholodzhennja-nagaduemo-osnovni-pravila-povedinki-u-holod (дата звернення: 17.06.2020).
2. Cold Weather Injuries, Active and Reserve Components, U.S. Armed Forces, July 2014 – June 2019. URL: https://www.health.mil/News/Articles/2019/11/01/Cold-Weather-Injuries (Date of access: 18.05.2020).
3. Fudge J. Exercise in the Cold: Preventing and Managing Hypothermia and Frostbite Injury. *Sports Health*. 2016. № 8 (2). P. 133–139. DOI: 10.1177/1941738116630542 (Date of access: 18.05.2020).
4. Wilderness Medical Society Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Frostbite: 2019 Update / S. McIntosh et al. *Wilderness & Environmental Medicine*. 2019. № 30. С. 19–32. DOI: 10.1016/j.wem.2019.05.002 (Date of access: 12.05.2020).
5. Капелька І. Г., Штриголь С. В. Скринінгове дослідження фригопротекторних властивостей нестероїдних протизапальних препаратів за гострого загального охолодження. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2019. № 13 (5). С. 338-343. URL: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/21574 (дата звернення: 15.04.2020).
6. Бондарєв Є. В., Штриголь С. Ю. Вплив препаратів глюкозаміну та ацетилсаліцилової кислоти на артеріальний тиск і показники ЕКГ при експериментальній холодові травмі. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 6 (56). С. 31-36. URL: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/15803 (дата звернення: 12.04.2020).
7. Polderman K. H. Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Critical Care Medicine*. 2009. № 37. P. 186-202. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181aa5241 (Date of access: 12.05.2020).
8. Thomas G., Sousa P. S. Early inflammatory response to carrageenan in the pleural cavityand paw of rats with altered body temperature. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1986. № 38. P. 936-938. DOI: 10.1111/j.2042-7158.1986.tb03390.x (Date of access: 12.05.2020).
9. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. Київ : Авіцена, 2001. 528 с.
10. Синтез похідних бензенсульфонамідів і вивчення їхньої спорідненості до циклооксигенази-2 методом молекулярного докінгу / С. А. Демченко та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. № 1. С. 24–35. DOI: https://doi.org/10.33250/14.01.024 (дата звернення: 15.05.2020).
11. Перспективний антиконвульсант 1-(4-метоксифеніл)-5-{2[4-(4-метоксифеніл)піперазин-1-іл]-2-оксоетил}-1,5-дигідро4н-піразоло[3,4-d]піридин-4-он має протизапальну та знеболювальну активність та позбавлений адиктивного потенціалу / Д. П. Каврайський та ін. *Український журнал клінічної лабораторної медицини.* 2017. № 3. С. 52–62. URL: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/14277 (дата звернення: 15.05.2020).
12. Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals / K. R. Patil et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. № 20. P. 43-67. DOI: 10.3390/ijms20184367 (Date of access: 12.05.2020).

13. Wilderness Medical Society Clinical Practice Guidelines for the Out-of-Hospital Evaluation and Treatment of Accidental Hypothermia: 2019 Update / J. Dow et al. *Wilderness & environmental medicine*. 2019. № 30. P. 47-69. DOI: 10.1016/j.wem.2014.10.010 (Date of access: 12.05.2020).

14. Бондарев Е. В. Влияние глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты на показатели углеводного обмена при острой холодовой травме у крыс. *Республиканский научный журнал «Vestnik»*. 2015. № 1 (70). С. 22–27. URL: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/7275 (дата обращения: 15.04.2020).

15. Кудина О. В., Штрыголь С. Ю., Колобов А. А. Влияние олигопептидов – гомологов фрагмента АКТГ$_{15\text{-}18}$ на показатели углеводного обмена в условиях холодового стресса. *Вестник фармации.* 2019. № 1 (83). С. 64–70. URL: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/19664 (дата обращения: 15.04.2020).

16. Бондарєв Є. В., Штриголь С. Ю., Горбач Т. В. Вміст інтерлейкінів IL-1β та IL-10 у крові за гострої холодової травми у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2018. № 1 (57) С. 21–25. URL: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/15802 (дата звернення: 11.06.2020).

REFERENCES

1. *Yak uniknuti pereoholodzhennya: nagaduyemo osnovni pravila povedinki u holod [How to avoid hypothermia: recall the basic rules of behavior in the cold].* (2019). Available at: https://moz.gov.ua/article/news/jak-uniknuti-pereoholodzhennja-nagaduemo-osnovni-pravila-povedinki-u-holod.

2. *Cold Weather Injuries, Active and Reserve Components, U.S. Armed Forces, July 2014 – June 2019.* Available at: https://www.health.mil/News/Articles/2019/11/01/Cold-Weather-Injuries.

3. Fudge, J. (2016). Exercise in the Cold. Sports Health: Preventing and Managing Hypothermia and Frostbite Injury. *Sport Health*, *8 (2),* 133-139. doi: 10.1177/1941738116630542.

4. McIntosh, S., Freer, L., Grissom, C., Auerbach, P., Rodway, G., Cochran, A. et al. (2019). Wilderness Medical Society Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Treatment of Frostbite: 2019 Update. *Wilderness & Environmental Medicine*, *30 (4),* 19-32. doi: 10.1016/j.wem.2019.05.002.

5. Kapelka, I. G., Strygol', S. Yu. (2019). *Farmakolohiia ta likarska toksikolohiia - Pharmacology and Drug Toxicology, 13 (5),* 338-343. Available at: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/21574.

6. Bondariev, Ye. V., Strygol', S. Yu. (2017). *Farmakolohiia ta likarska toksikolohiia - Pharmacology and Drug Toxicology, 6,* 31-36. Available at: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/15803

7. Polderman, K. H. (2009). Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Critical Care Medicine, 37,* 186-202. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181aa5241.

8. Thomas, G., Sousa, P. S. (1986). Early inflammatory response to carrageenan in the pleural cavity and paw of rats with altered body temperature. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology, 38*, 936-938. doi: 10.1111/j.2042-7158.1986.tb03390.x.

9. Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskyh zasobiv [Preclinical study of drugs: guidelines].* Kyiv: Avitsena.

10. Demchenko, S. A., Bahlai, O. Yu., Seredinska, N. M., Yadlovskii,O. Ye., Zelinska, A. Ye., Bukhtiarova, T. A. et al. (2020). *Farmakolohiia ta likarska toksikolohiia – Pharmacology and Drug Toxicology, 1,* 24-35. doi: https://doi.org/10.33250/14.01.024.

11. Kavraiskyi, D. P., Shtrygol', S. Yu., Tsyvunin, V. V., Shtrygol', D. V., Severina, A. I., Heorhiiants, V. A. (2017). *Ukrainskyi zhurnal klinichnoi i laboratornoi medytsyny – Ukrainian journal of Clinical and Laboratory Medicine, 3(11),* 52-62. Available at: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/14277.

12. Patil, K. R., Mahajan, U. B., Unger, B. S., Goyal, S. N., Belemkar, S., Surana, S. J. et al. (2019). Animal Models of Inflammation for Screening of Anti-inflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals. *International Journal of Molecular Sciences, 20,* 43-67. doi: 10.3390/ijms20184367.

13. Dow, J., Giesbrecht, G. G., Danzi, D. F., Brugger, H., Sagalyn, E. B., Walpoth, B. et al. (2019). Wilderness Medical Society Clinical Practice Guidelines for the Out-of-Hospital Evaluation and Treatment of Accidental Hypothermia: 2019 Update. *Wilderness & environmental medicine, 30 (4s),* 47-69. doi: 10.1016/j.wem.2014.10.010.

14. Bondariev, Ye. V. (2015). *Respublikanskii nauchnyi zhurnal «Vestnik» – Republican Scientific Journal "Vestnik", 1 (70)*, 22–27. Available at: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/7275.

15. Kudina, O. V., Shtrygol', S. Yu., Kolobov, A. A. (2019). *Vestnik farmatsii – News of Pharmacy, 1 (83),* 64-70. Available at: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/19664.

16. Bondariev, Ye. V., Strygol', S. Yu., Horbach, T. V. (2018). *Farmakolohiia ta likarska toksikolohiia – Pharmacology and Drug Toxicology, 1 (57),* 21-25. Available at: http://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/15802.

Відомості про авторів:
Капелька І. Г., аспірант кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: kig1997@gmail.com. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2276-7507
Штриголь С. Ю., доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри фармакології, Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України. E-mail: shtrygol@ukr.net. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7257-9048
Information about authors:
Kapelka I. G., postgraduate student of the Pharmacology Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: kig1997@gmail.com. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2276-7507
Shtrygol' S. Yu., Doctor of Medicine (Dr. habil.), professor, head of the Pharmacology Department, National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine. E-mail: shtrygol@ukr.net. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7257-9048
Сведения об авторах:
Капелька И. Г., аспирант кафедры фармакологии, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: kig1997@gmail.com. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2276-7507
Штрыголь С. Ю., доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, Национальный фармацевтический университет Министерства здравоохранения Украины. E-mail: shtrygol@ukr.net. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7257-9048

Надійшла до редакції 24.06.2020 р.