ISSN 0206-5657. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2016. Випуск 73. С. 325–328
Visnyk of the Lviv University. Series Biology. 2016. Issue 73. P. 325–328

УДК 615.212.3.035.1:615.276:615.451.16:577.127.4:591.111:616.36]-092.4/.9

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ ЗА УМОВ ОДНОРАЗОВОГО ВВЕДЕННЯ НА СТАН АНТИ-ПРООКСИДАНТНОГО СТАТУСУ В ГЕПАТОЦИТАХ ЩУРІВ

О. Хаврона, Л. Білецька

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
вул. Пекарська, 69, Львів 79010, Україна
e-mail: o.khavrona@gmail.com

У гепатоцитах щурів визначали вміст проміжних і кінцевих продуктів ліпопероксидації, ступінь ендогенної інтоксикації й активності ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази та каталази. Показано, що за умов одноразового введення різні дози диклофенаку натрію по-різному впливають на прооксидантно-антиоксидантний баланс і ступінь ендогенної інтоксикації в гепатоцитах щурів. Виявлено, що диклофенак натрію у дозі 10 мг/кг найкраще впливає на стан печінки дослідних тварин, оскільки суттєво знижує рівень гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів, таким чином пригнічуючи оксидативний стрес, а також найменше пригнічує активність антиоксидантних ферментів. З'ясовано, що доза 40 мг/кг є найменш ефективною, оскільки призводить до зростання оксидативних процесів і пригнічення антиоксидантного захисту в гепатоцитах щурів. Показано, що ступінь ендогенної інтоксикації у гепатоцитах щурів при застосуванні всіх досліджуваних доз диклофенаку натрію суттєво знижувався, що підтверджує потужні протизапальні властивості цього лікарського засобу.

Ключові слова: диклофенак натрію, антиоксидантні ферменти, прооксидантні процеси.

Нестероїдні протизапальні препарати по праву можна вважати найбільш уживаними в усьому світі лікарськими засобами для симптоматичної терапії болю та запалення [5].

Диклофенак натрію належить до групи нестероїдних протизапальних засобів і вважається одним із найбільш використовуваних аналогів о-аміноацтової кислоти для симптоматичної терапії запальних процесів різної етіології [4,10]. Популярність диклофенаку натрію в багатьох країнах світу пов'язана з тим, що препарат чинить виражену протизапальну, анальгезуючу та помірну жарознижувальну дію шляхом пригнічення синтезу простагландинів (основних модуляторів запалення) і, таким чином, зменшує усі прояви запалення.

Диклофенак використовується в хірургії, травматології (при ураженнях опорно-рухового апарату), в неврології (для лікування тунельних синдромів, мігрені), в гінекології (при дисменореї, аднекситах), в онкології як засоби першого ступеня знеболювання і т. д. [9]. У зв'язку з широким застосуванням диклофенаку натрію актуальним залишається питання переносимості препарату, його знешкодження та виведення з організму. Оскільки печінка виконує одну з центральних ролей у процесі утилізації ксенобіотиків, у тому числі і лікарських засобів, значний інтерес становило дослідження впливу різних доз диклофенаку натрію при одноразовому введенні на її про- й антиоксидантний статус.

Виходячи з вищесказаного, метою нашої роботи було дослідити зміни антиоксидантного статусу та прооксидантних процесів за умов одноразового введення різних доз диклофенаку, а також визначити, яка з досліджуваних доз диклофенаку проявляє найменший токсичний і найкращий терапевтичний ефект.

© Хаврона О., Білецька Л., 2016

Матеріали та методи

Дослідження проводили на статевозрілих білих безпородних щурах-самцях середньою масою 180–220 г згідно з міжнародними умовами проведення експериментів з лабораторними тваринами.

Щурів утримували на стандартному раціоні віварію, під час проведення досліду тварин брали натще, забезпечуючи безперешкодний доступ до води. Експериментальні тварини були розділені на чотири групи: I група – інтактні щурі (5 тварин, контрольна група); II група – тварини, яким вводили диклофенак у дозі 10 мг/кг (10 щурів); III група – тварини, яким вводили диклофенак у дозі 40 мг/кг (10 щурів); IV група – тварини, яким вводили диклофенак у дозі 60 мг/кг (10 щурів). Диклофенак натрію вводили інтраперитонеально. Декапітацію тварин проводили під уретановим знечуленням (1,1 мг/кг). Об'єктом дослідження були гомогенати печінки. Стан антиоксидантної системи оцінювали, визначаючи активність супероксиддисмутази (СОД) (1.15.1.11) за методом С. Чеварі [7] та каталази (1.11.1.6) за методом М.А. Королюка [3]. Прооксидантний статус оцінювали за рівнем ТБК-активних продуктів за методом Р.А. Тимірбулатова, Є.І. Селезньова [6] та гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) за методом В.Б. Гаврилова, М.І. Мишкорудної [1]. Ступінь ендогенної інтоксикації визначали за вмістом молекул середньої маси (МСМ) за методом В.С. Камишнікова [2]. Статистичну обробку результатів проводили методом варіаційної статистики з використанням програмного забезпечення ANOVA з визначенням *t*-критерію Стьюдента.

Результати і їхнє обговорення

Отримані результати довели, що одноразове введення різних доз диклофенаку натрію по-різному впливає на прооксидантний статус гепатоцитів щурів (табл. 1).

Найкращий ефект спостерігали за одноразового введення дози 10 мг/кг. При застосуванні такої дози вміст ГПЛ порівняно з контрольною групою майже не змінювався, а вміст ТБК-активних продуктів навіть знижувався в 1,2 разу ($p<0,05$). Виявлене зниження продукції вільних радикалів, яке спостерігається під впливом диклофенаку, може сприяти пригніченню активності запального процесу і зменшенню його пошкоджувальної дії на тканини та органи [8].

Таблиця 1

Дослідження прооксидантних процесів і ступеня ендогенної інтоксикації за умов одноразового введення різних доз диклофенаку натрію у гепатоцитах щурів (M ± m; n=10)

Досліджувані показники	I група (контроль)	II група (доза 10мг/кг)	III група (доза 40 мг/кг)	IV група (доза 60 мг/кг)
ГПЛ, нмоль/мг	2,4±0,4	2,6±0,3	5,1±0,3*	4,2±0,5*
ТБК-активні продукти, мкмоль/мг	138,4±4,2	116,3±2,9*	176,8±5,6*	142,4±2,7
МСМ, мкмоль/мг	4,9±0,4	1,2±0,4*	2,3±0,3*	1,5±0,4*

Примітка: * – $P<0,05$ щодо контрольної групи.

За одноразового введення доз 40 та 60 мг/кг вміст ГПЛ зростав, відповідно, в 2,1 і 1,8 разу, вміст ТБК-активних продуктів також виявляв стійку тенденцію до зростання порівняно з контролем ($P<0,05$) (табл. 1). Отримані дані вказують на те, що навіть одноразове ведення високих доз диклофенаку призводить до посилення прооксидантних процесіву гепатоцитах щурів і може проявляти токсичний вплив на організм тварин.

Проте ступінь ендогенної інтоксикації у гепатоцитах щурів при застосуванні всіх досліджуваних доз диклофенаку натрію суттєво знижувався, що підтверджує потужні протизапальні властивості цього лікарського засобу.

Дослідження активностей ключових ферментів антиоксидантного захисту – СОД і каталази за умов одноразового введення різних доз диклофенаку натрію представлені у табл. 2.

Таблиця 2

Дослідження антиоксидантного статусу за умов одноразового введення різних доз диклофенаку натрію у гепатоцитах щурів (M ± m, n=10)

Досліджувані показники	I група (контроль)	II група (доза 10мг/кг)	III група (доза 40 мг/кг)	IV група (доза 60 мг/кг)
СОД, мкмоль/хв× мг	44,8±5,2	38,4±3,3	22,4±4,3*	24,5±2,8*
Каталаза, мкмоль/год× мг	12,6±3,2	8,9±2,0*	7,6±1,5*	7,8±1,7*

Примітка: * – P<0,05 щодо контрольної групи.

Як видно з табл. 2, застосування всіх досліджуваних доз призводило до пригнічення активності антиоксидантних ферментів, однак за введення доз 40 мг/кг і 60 мг/кг зниження активності було майже однакове, тоді як застосування дози 10 мг/кг менше пригнічувало активність обох досліджуваних ферментів, що може бути пов'язане з пригніченням синтезу білків і посиленням детоксикаційних процесів у печінці, особливо за введення високих доз диклофенаку.

Таким чином, у результаті проведених досліджень було виявлено, що диклофенак натрію в дозі 10 мг/кг проявляє найкращий вплив на організм дослідних тварин, знижуючи вміст проміжних і кінцевих продуктів ліпопероксидації, та найменше пригнічує активність антиоксидантних ферментів. А також з'ясовано, що доза 40 мг/кг є найменш ефективною, оскільки призводить до активації оксидативних процесів і пригнічення антиоксидантного захисту в гепатоцитах дослідних тварин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца. К.: Здоровье, 1989. С. 170-171.
2. *Камышников В.С.* Справочник по клинико-химической лабораторной диагностике. Минск: Беларусь, 2000. Т. 2. 206 с.
3. *Королюк Г. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г.* Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16-19.
4. *Насонова В.А.* Рациональное применение НПВП в ревматологии // Русский мед. журнал. 2002 .Т. 10. № 6. С. 302–306.
5. *Сирова Г.О., Бачинський Р.О., Вакуленко Н.В., Бойко Є.П.* Експериментальне вивчення впливу кофеїну на протибольову дію відомих нестероїдних протизапальних засобів різної хімічної будови // Запорож. мед. журнал. 2011. Т.13. № 5. С.60-62.
6. *Тимирбулатов Г. А., Селезнев Е. И.* Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение // Лаб. дело. 1981. № 4. С. 209-211.
7. *Чевари С., Андял Т., Штренгер Я.* Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело. 1991. № 10. С. 15-19.
8. *Manocha S., Lal D., Venkataraman S.* Administration of H2 blockers innsaid induced gastropathy in rats: effect on histopathological changes in gastric, hepatic and renal tissues // Arq. Gastroenterol. 2016. Vol. 53. № 1. P. 36-43.
9. *Phillips A.C., Polisson R.P., Simon L.S.* NSAIDs and the elderly. Toxicity and economic implications // Drugs Aging. 1997. Vol.10. P. 119-130.
10. *Vohra F., Raut A.* Comparative efficacy, safety, and tolerability of diclofenac and aceclofenacin musculoskeletal pain management: A systematic review// Indian J. Pain [serial online]. 2016. Vol. 30. P. 3-6.

Стаття: надійшла до редакції 21.07.16
доопрацьована 26.08.16
прийнята до друку 29.08.16

EFFECTS OF A SINGLE INJECTION OF DICLOFENAC SODIUM AT DIFFERENT DOSESON ANTI-OXIDATIVE STATUS OF RAT HEPATOCYTES

O. Khavrona, L. Biletska

Danylo Halytski National Medical University of Lviv
69, Pekarska St., Lviv 79010, Ukraine

In the hepatocytes of rats the content of intermediate and end products of lipid peroxidation, degree of endogenous intoxication and the activity of antioxidant enzymes - superoxide dismutase and catalase have been determined. It has been shown that single administration of different doses of diclofenac of natrium caused the differing changes on prooxidant-antioxidant balance and degree of endogenous intoxication in hepatocytes of rats. It was established, thatthe introductionof diclofenac of natrium in dose 10 mg/kg shows the best impact on the liver of experimental animals, decreases high levels of lipid hidroperoxides and TBA-reactive products, thus inhibiting oxidative stress and least inhibits the activity of antioxidant enzymes. It has been studied outthat the dose 40mg/kg is the least effective, as it results in the increase of oxidative processes and oppression of antioxidant defence in hepatocytes of rats. It is shown that the degree of endogenous intoxication in rat hepatocytes in the application of all studied doses of diclofenac sodium significantly decreased, confirming the strong anti-inflammatory properties of this drug.

Keywords: diclofenac sodium, antioxidant enzymes,prooxidative processes.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ В УСЛОВИЯХ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ АНТИ-ПРООКСИДАНТНОГО СТАТУСА ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС

О. Хаврона, Л. Билецкая

Львовский национальный медицинский университет
имени Даниила Галицкого
ул. Пекарская, 69, Львов 79010,Украина

В гепатоцитах крыс определяли содержание промежуточных и конечных продуктов липопероксидации, степень эндогенной интоксикации и активности ферментов антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы. Показано, что однократное введение различных доз диклофенака натрия по-разному влияет на прооксидантно-антиоксидантный баланс и степень эндогенной интоксикации в гепатоцитах крыс. Было выявлено, что диклофенак натрия в дозе 10 мг / кг лучше влияет на состояние печени экспериментальных животных, поскольку снижает уровень гидропероксидов липидов и ТБК-активных продуктов, таким образом подавляя оксидативный стресс, а также мало угнетает активность антиоксидантных ферментов. Установлено, что доза 40 мг/кг является наименее эффективной, так как приводит к росту оксидативных процессов и угнетению антиоксидантной защиты в гепатоцитах крыс. Показано, что степень эндогенной интоксикации в гепатоцитах крыс при применении всех исследуемых доз диклофенака натрия существенно снижалась, что подтверждает мощные противовоспалительные свойства этого лекарственного средства.

Ключевые слова: диклофенак натрия, антиоксидантные ферменты, прооксидантные процессы.