

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ДИКЛОФЕНАКУ ТА АМІЗОНУ  
НА TRPV1 ВОРИТНОЇ ВЕНИ**

У досліджах *in vitro*, у модельному експерименті на ворітній вені, вивчено вплив амізону та диклофенаку на ванілоїдний рецептор TRPV1. У дозі 1 мкмоль/л на фоні капсаїцину та капсазепіну відзначено ефект диклофенаку, який полягав у зміні амплітуд, але не частот гармонік скорочень, що не виключає його впливу на TRPV1. Не виявлено змін, що свідчать про вплив амізону на TRPV1.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: амізон, диклофенак, TRPV1, капсаїцин, капсазепін.

ВСТУП. Проблема знеболювання є однією з актуальних у сучасній медицині. На жаль, на сьогодні немає анальгетика, який би оптимально відповідав вимогам клініки. Застосування наркотичних анальгетиків обмежене та регламентоване через їх здатність викликати фізичну та психічну залежність, наркоманію. Ненаркотичні анальгетики ефективні, як правило, при помірному болю, і їм також притаманний широкий спектр побічних ефектів (ульцерогенна дія, гепатотоксичність, нефротоксичність та ін.). Одним із шляхів вирішення даної проблеми є оптимізація застосування вже існуючих анальгетичних засобів з урахуванням особливостей їх фармакодинаміки та фармакокінетики. У цьому напрямку проводять активні дослідження. Так, наприклад, в останні роки встановлено, що диклофенаку, крім головного ЦОГ-залежного механізму дії, властивий ряд неЦОГ-залежних механізмів – вплив на альтернативний (ліпооксигеназний) шлях метаболізму арахідонової кислоти, інгібіція фосфоліпази A2, блок кислотозалежних іонних каналів (ASICs) та ін. [5, 7]. Протягом останніх років було виявлено ряд специфічних рецепторів, що містяться на ноцицептивних нейронах та відіграють значну роль у проведенні та сприйнятті ноцицептивних стимулів, серед яких слід виділити ванілоїдний рецептор (TRPV1) [1, 11]. Відомо про наявність ванілоїдного компонента знеболювальної дії у деяких ненаркотичних анальгетиків (парацетамол) [11].

Метою даної роботи було вивчити у порівняльному аспекті вплив диклофенаку та від-

© І. Л. Мончак, О. Є. Ядловський, Т. А. Бухтіарова, 2012.

носно нового препарату зі знеболювальною активністю “Амізон” на TRPV1 ворітної вени щурів у досліджах *in vitro*.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконано на 48 щурах-самцях віком 16–18 тижнів і масою 180–200 г розведення віварію Інституту фармакології та токсикології НАМН України. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію [2]. В експерименті використовували субстанції диклофенаку та амізону. Як аналізатори застосовували агоніст ванілоїдного рецептора капсаїцин (Sigma, США) та його антагоніст капсазепін (Sigma, США). Щурів піддавали мортифікації. В експерименті використовували препарати ворітної вени тварин довжиною від 4 до 6 мм та масою 2–3,5 мг. Препарати судин перфузували розчином Кребса такого складу (в ммоль/л): NaCl – 133; KCl – 4,7; NaHCO<sub>3</sub> – 16,3; NaHPO<sub>4</sub> – 1,38; CaCl<sub>2</sub> – 2,5; MgCl<sub>2</sub> – 1,2; глюкоза – 7,8; pH – 7,4; температура – 37 °С. Досліджувані препарати застосовували у дозі 1 мкмоль/л. Концентрацію для капсаїцину та капсазепіну, що впливає на TRPV1, визначали експериментально, і вона складала 0,1 і 0,5 мкмоль/л відповідно [10]. Реєстрацію ізометричної сили препаратів проводили за допомогою тензометричного датчика, приєднаного до попереднього підсилювача та фільтра/підсилювача сигналу. Аналоговий сигнал перетворювався у цифровий вигляд за допомогою пристрою LabTrax (WPI, Inc). Цифрові дані реєстрували та записували у програмі “DataTrax2” (WPI, Inc). На оригінальних кривих скорочень ворітної вени виділялись ділянки тривалістю від 5 до

10 хв до та після введення досліджуваного препарату. В програмі "AutoSignal" (Seasolve Inc.) ці ділянки оцінювали якісно та кількісно. Дані для кількісної обробки вибирали за 5–10 с до початку введення препарату, дію якого досліджували, та в кінці виділених ділянок, що відповідало 5–10 с до відміни перфузії розчином з препаратом досліду. Отримані дані виражали у величині амплітуди скорочень (фактична потужність основної гармоніки скорочення), dB, та частоті скорочень (Герц, Hz). Дані наводили у відсотках до нормальних (у розчині Кребса).

Статистичну обробку результатів проводили методом вейвлет-аналізу [3].

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Отримані дані наведено у таблицях 1–4. Показано, що агоніст ванілоїдних рецепторів (TRPV1) капсаїцин чинить вплив на скорочення ворітної вени, який є дозозалежним, що відображається як на амплітудах, так і на частотах основних гармонік. У використаних концентраціях капсаїцин зменшував частоту скорочень та збільшував

їх амплітуду (табл. 1). Ефекти капсаїцину на ворітну вену нівелювались та попереджувались антагоністом TRPV1 капсазепіном. Диклофенак чинив помітний дозозалежний вплив на скоротливу активність ворітної вени у вигляді пригнічення амплітуд основних гармонік скорочення та незначного збільшення частот (табл. 2). На відміну від диклофенаку, амізон фактично не змінював як амплітуди, так і частоти основних гармонік скорочень ворітної вени (табл. 2). При сумісному застосуванні диклофенаку та капсаїцину вплив диклофенаку на ворітну вену значно нівелювався за амплітудою скорочень, тоді як частоти основних гармонік залишалися рівними таким, що відслідковувались при дії капсаїцину. Базальна дія капсаїцину не змінювала впливу диклофенаку натрію за амплітудою та частотами скорочень (табл. 3, 4).

Ряд авторів в останні десятиріччя продемонстрував можливість змін спонтанних скорочень ворітної вени щурів речовинами, що пов'язані з ізоферментами циклооксигенази. Серед інших, наприклад, потенціювання

Таблиця 1 – Вплив диклофенаку натрію та амізону на спонтанну активність ворітної вени

Показник	Диклофенак (n=6)	Амізон (n=6)
Амплітуда, %	-27,3±5	+7,1±3,2
Частота	–	–
1-ша гармоніка, %	+7,1±3,3	-8,6±3,1
2-га гармоніка, %	+4,3±1,3	-9,3±4
3-тя гармоніка, %	+6,4±1,1	+7,2±2,7

Примітка. Для всіх досліджень вірогідність 95 %.

Таблиця 2 – Вплив агоністів та антагоністів TRPV1 на спонтанну активність ворітної вени

Показник	Капсаїцин (n=16)	Капсазепін (n=8)
Амплітуда, %	+30,3±5,3	-3,2±2,7
Частота	–	–
1-ша гармоніка, %	-13,2±3,7	+4,2±4,1
2-га гармоніка, %	-11,1±4,4	+5,7±4,3
3-тя гармоніка, %	-11,4±6	+2±3,4

Таблиця 3 – Дія диклофенаку натрію та амізону на фоні аплікації агоніста TRPV1

Показник	Диклофенак (n=6)	Амізон (n=8)
Амплітуда, %	+3,4±2	+20,1±1,3
Частота	–	–
1-ша гармоніка, %	-2,4±3,2	-7,4±2,6
2-га гармоніка, %	-3,3±4,4	-8,5±1,4
3-тя гармоніка, %	-3,3±2	-7,8±1,7

Таблиця 4 – Зміна амплітуди та частоти скорочень ворітної вени під впливом диклофенаку натрію та амізону на фоні дії антагоніста TRPV1 капсазепіну

Показник	Диклофенак (n=6)	Амізон (n=8)
Амплітуда, %	-25,3±2,2	-3±1,4
Частота	–	–
1-ша гармоніка, %	+3,1±1,3	+5±3,3
2-га гармоніка, %	+5,4±2,1	+2,3±1,2
3-тя гармоніка, %	+6,3±4,2	+3,2±2,3

простагландином E2, арахідоною кислотою та інгібування блокаторами ЦОГ [6, 8, 9]. Вплив на циклооксигеназний ланцюжок може суттєво позначитись на автоматичній та скоротливій активності ворітної вени. Інгібування ізоферментів ЦОГ перш за все відбивається на амплітуді скорочень (зменшення), тоді як інгібітори TRPV1 зменшують частоти основних скорочень. Логічно припустити, що при поєднанні препаратів цих різних груп вони могли б потенціювати дію один одного. Але ми отримали абсолютно протилежний результат, що може свідчити про існування різних шляхів впливу як ЦОГ, так і TRPV1 на спонтанну активність ворітної вени. Так, наприклад, вторинні месенджери агентів можуть відрізнятися у нормальних умовах та не

пересікатися, але значно взаємовпливати при патологічних порушеннях.

Щодо амізону, то у наших дослідах підтвердились перш за все його центральна дія та дія на рівні тканини. Ті мембранні механізми, з якими пов'язаний амізон, не проявили свого впливу на авторитмічну та спонтанну активність ворітної вени.

**ВИСНОВКИ.** 1. У вивчених концентраціях, у модельному експерименті на ворітній вені, на фоні агоніста й антагоніста TRPV1 виявлено ефект диклофенаку, що не виключає його впливу на TRPV1.

2. У вивчених концентраціях на фоні агоніста й антагоніста TRPV1 не виявлено ефекту амізону, який можна трактувати як вплив на ванілоїдний рецептор.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Миронов Н. Ю. Ванілоїдні рецептори: структура, участь в регулюванні функцій організму, терапевтичний потенціал / Н. Ю. Миронов, В. В. Чурюканов // Экспер. и клин. фармакол. – 2006. – 69, № 5. – С. 55–69.
2. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств : методические рекомендации / А. В. Стефанов. – К. : Авицена, 2002. – 568 с.
3. Теория и практика вейвлет-преобразования, ЗАО АВТЭКС Санкт-Петербург [Электронный ресурс]. – доступ к файлу – [www.autex.spb.ru/wavelet](http://www.autex.spb.ru/wavelet)
4. Annual (12) symposium in the cannabinoids asilomor conference center pacific grove C.A. USA 10.07.2002 – 14.07/ 2002. [Электронный ресурс]. – доступ к файлу – <http://cannabinoidsociety.org/HTML/ICRS.2002.symposium.pdf>
5. DrugBank database, DrugBank Version: 3.0- [Электронный ресурс]. – доступ к файлу – <http://www.drugbank.ca/>
6. Enero M. A. Effect of drugs on the force of spontaneous mechanical activity in rat portal vein / M. A. Enero // Acta Physiol. Latinoam. – 1979. – 29. – P. 101–106.
7. Masubuchi Y. Diclofenac-induced inactivation of CYP3A4 and its stimulation by quinidine / Y. Masubuchi, A. Ose, T. Horie // Drug metab. And Disp. – 2002. – 30, № 10 – P. 1143–1187.
8. Messenger molecules of the phospholipase signaling system have dual effects on vascular smooth muscle contraction / C. Vidulescu, J. Mironneau, C. Mironneau, L. M. Popescu // J. Cell Mol. Med. – 2000. – 4. – P. 196–206.
9. Miwa T. Prostaglandin E 1 potentiation of the spontaneous phasic contraction of rat isolated portal vein by a cyclopiazonic acid-sensitive mechanism / T. Miwa, M. Endou, F. Okumura // Br. J. Pharmacol. – 1997. – 120. – P. 1419–1426.
10. Pegram B. L. The portal vein is a model for resistance vassels / B. L. Pegram // Vascular neuroeffector mechanisms. – New-York : Raven Press, 1980. – 81. – P. 42–44.
11. TRPV1 receptors in the CNS play a key role in broad-spectrum analgesia of TRPV1 antagonists / M. Cui, P. Honore, C. Zhong [et al.] // J. Neurosci. – 2006. – 26, № 37. – P. 9385–9393.

**И. Л. Мончак, О. Е. Ядловский, Т. А. Бухтиарова**  
ИНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГИИ И ТОКСИКОЛОГИИ НАМН УКРАИНЫ, КИЕВ

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ДИКЛОФЕНАКА И АМИЗОНА НА TRPV1 ВОРОТНОЙ ВЕНЫ

### Резюме

*В исследованиях in vitro, в модельном эксперименте на воротной вене, изучено влияние амизона и диклофенака на ванілоїдний рецептор TRPV1. В дозе 1 мкмоль/л на фоне капсаицина и капсазепина*

отмечен эффект диклофенака, который проявлялся в изменении амплитуд, но не частот гармоник сокращений, что не исключает его влияния на TRPV1. Не выявлены изменения, что свидетельствуют о влиянии амизона на TRPV1.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: **амизон, диклофенак, TRPV1, капсаицин, капсазепин.**

**I. L. Monchak, O. Ye. Yadlovskiy, T. A. Buhtiarova**  
INSTITUTE OF PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY OF NAMS OF UKRAINE, KYIV

## THE EFFECT OF AMIZON AND DICLOFENAC ON TRPV1 OF PORTAL VEIN

### Summary

*In the experiments in vitro, in a model experiment on the portal vein, there was studied the effect of amizone and diclofenac on vailoid receptor TRPV 1. In the doses of 1 mmol/L on the background of capsazepin and capsaicin there was revealed the effect of diclofenac that expressed in the change of amplitudes but not the frequency of garmonic reductions that does not include its influence on TRPV 1. There were not revealed the changes, that indicate on the influence on TRPV1.*

KEY WORDS: **amizon, diclofenac, TRPV1, capsaicin, capsazepin.**

Отримано 02.07.12

Адреса для листування: О. Є. Ядловський, Інститут фармакології та токсикології НАМН України, вул. Ежена Потье, 14, Київ, 03680, Україна.