

# ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «АРТРО-АКТИВ»

*А.В. Рыдловская, М.Н. Макарова, В.Г. Макаров, С.В. Тесакова, В.А. Иванова,  
О.Н. Пожарицкая, В.П. Тихонов.*

Межрегиональный центр «Адаптоген», Санкт-Петербург,  
Завод экологической техники и экопитания «Диод», Москва.

**Н**аиболее эффективными препаратами при лечении воспаления суставов являются синтетические глюкокортикостероиды (преднизолон, дексаметазон, триамцинолон и др.). Механизм их действия направлен на ингибирование ядерного фактора  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) [4]. NF-293 фактор транскрипции генов большинства белков воспаления (фосфолипазы А<sub>2</sub>, циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), 5-липооксигеназы (5-ЛОГ), индуцибельной NO-синтазы, молекул клеточной адгезии и провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-8, TNF $\alpha$ ) [5]. Однако прием глюкокортикоидов строго ограничен из-за широкого спектра побочных эффектов. Они вызывают нервные и психические нарушения, эпилептиформные судороги, задержку натрия и воды в организме, дисфункцию коры надпочечников, язву желудка и кишечника, иммуносупрессорное действие,

связанное с инволюцией тимуса [2].

Цель нашего исследования — изучение противовоспалительного действия нового комбинированного препарата природного происхождения «Артро-Актив», а также поиск механизмов его действия. В состав препарата входят экстракт смолы ладанного дерева (*Boswellia cazerii* Bord.), масляный экстракт корневищ куркумы (*Curcuma longa* L.) и масляный экстракт семян сосны кедровой сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour.). Препараты на основе этих растений традиционно использовались для лечения воспалительных заболеваний. Однако сейчас на основе современных научных данных раскрываются механизмы их действия. Экстракты босвеллии, кедра и куркумы способны ингибировать 5-ЛОГ и ЦОГ-2 [8], снижать активность нейтрофильной эластазы [7], оказывать антиоксидантное действие

[3, 10], кроме того, компоненты экстрактов босвеллии и куркумы способны ингибировать работу ядерного фактора  $\kappa\text{B}$  [6, 11].

## Экспериментальная часть

Для оценки влияния препарата «Артро-Актив» на работу NF- $\kappa\text{B}$  использовалась методика репортерного гена. С помощью реагента для трансфекции (TransFast transfection reagent) в соответствии с протоколом фирмы-производителя (Promega, USA) клетки линии НЕК препаратом «Артро-Актив» (растворенным в 0,4% ДМСО) в концентрациях 0,0125; 0,125; 1,25; 12,5; 125 и 250 мкг/мл при температуре 37°C и в присутствии 5% CO<sub>2</sub>. Через 16 ч инкубации клетки обрабатывали TNF $\alpha$  (100 нг/мл; 4 ч при температуре 37°C и в присутствии 5% CO<sub>2</sub>). По окончании стимуляции TNF $\alpha$  клетки промывали фосфатно-солевым буфером

(pH=7.4; PBS), разрушали лизирующим буфером (Promega, USA) и центрифугировали при 12000g (1 мин, 4°C). В полученном лизате с использованием люминометра и реагентов (Promega, USA) определяли активность люциферазы.

Активность NF-κB вычисляли по отношению интенсивности люминесценции к эффективности проведенной трансфекции. Эффективность трансфекции определялась для трансфицированного в качестве контроля вектора pSV-β-галактозидазы. Критерием оценки являлась ферментативная активность β-галактозидазы. Для анализа активности β-галактозидазы клетки промывали PBS и инкубировали с субстратом o-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside при температуре 37°C до появления желтой окраски. Степень окраски оценивали на микропланшетном ридере (PeterkinElmer Wallac 1420 VICTOR2 Multilabel Counter) при длине волны 420 нм.

Оценку эффективности препарата «Артро-Актив» для коррекции воспаления суставов проводили на модели адъювантного артрита. Для исследования использовали крыс-самцов линии Вистар (180—200 г), полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях, включающих световой режим (12 ч — свет, 12 ч — темнота), температуру воздуха (19—25°C), относительную влажность (50—70%).

Адъювантный артрит моделировали субплантарным вве-

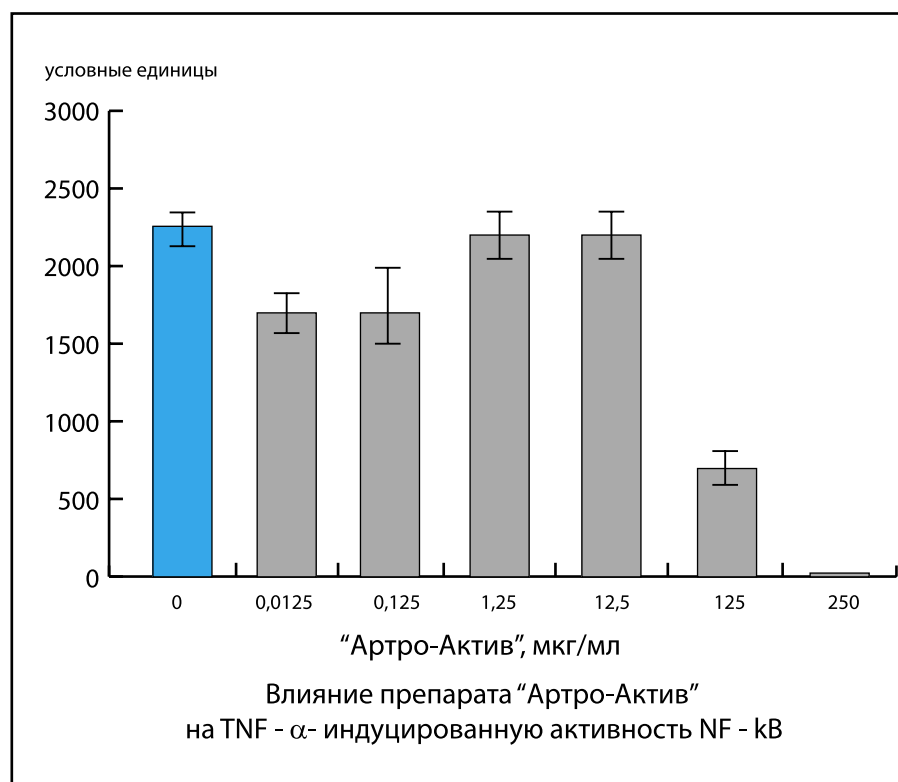
дением в правую заднюю лапу животного 0,1 мл полного адъюванта Фрейнда (Sigma, USA). Введение «Артро-Актива» per os (300 мг/кг) начиналось с 11-го дня после инъекции адъюванта, и продолжалось (ежедневно) до 24-го дня. Препарат сравнения (преднизолон) вводили по той же схеме в виде суспензии в крахмальной слизи в дозе 10 мг/кг.

Для определения патологических изменений костной ткани на 24-й день было сделано рентгенологическое исследование конечности крыс (на оборудовании Mammodiagnost Philips, тип трубки ROM 21, серия 902665). Коленный сустав пораженной конечности и тимус подвергались морфологическому исследованию. Материал для исследования фиксировали в течение 24 ч в 10% растворе формалина, нижние конечности декальцинировали в 5% растворе азотной кислоты, затем биоптаты обезжировали

и обезвоживали в спиртах нарастающей концентрации, заливали в парафин и изготавливали препараты. Для этих целей применяли стандартное оборудование и реактивы для парафиновой проводки, препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гистологическое и морфометрическое исследование проводили при помощи светооптического микроскопа «Leica DLMS2» при увеличении 200 в 10 полях зрения. Морфометрия осуществлялась при помощи окулярмикрометра «Reichert». В тимусе оценивалась толщина коркового слоя, в задних конечностях — толщина и состояние суставного (эпифизарного) хряща.

**Статистическую обработку результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента.**

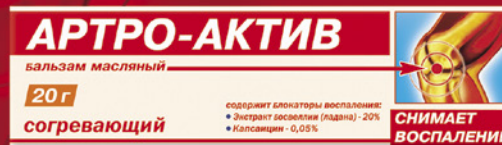
Проведенное исследование показало, что препарат природного происхождения «Артро-Актив», наряду с глюко-



# АРТРО-АКТИВ

современное решение проблем суставов

Средства линии АРТРО-АКТИВ содержат блокаторы воспаления, не влияющие на ЦОГ-фермент и потому не имеющие побочных эффектов, характерных для традиционных нестероидных противовоспалительных препаратов.



ОАО "Завод экологической техники и экопитания "ДИОД".  
115114, Москва, ул. Дербеневская, 11-А.  
Тел.: (495) 775-4426

кортикостероидами, способен ингибировать работу NF-κB (см. рисунок). При этом наиболее эффективно препарат действовал в дозах 125 и 250 мкг/мл, менее эффективно — в дозах 0,0125 и 0,125 мкг/мл и не действовал в дозах 1,25 и 12,5 мкг/мл. По-видимому, нелинейный характер зависимости «доза—эффект» говорит об отсутствии прямого ингибирующего действия препарата в отношении NF-κB. Возможно, «Артро-Актив» контролирует работу других регуляторных молекул, напрямую или косвенно влияющих на активность NF-κB. Мы предполагаем, что препарат одновременно действует на несколько мишеней и именно этим отличается от синтетических средств, как правило, действующих

на одну мишень. Данные, полученные в отношении NF-κB — лишь первый шаг в открытии механизмов действия природного средства «Артро-Актив», однако уже сейчас можно говорить о его высоком потенциале.

Ранее нами были опубликованы данные об эффективности препарата «Артро-Актив» в дозе 300 мг/кг на моделях каррагенинового отека и формалинового артрита у крыс, где было установлено противоотечное, гипотермическое и анальгезирующее действие, а также снижение показателей СОЭ, уровня сиаловых кислот и лейкоцитов в крови [10—11]. На модели хронического воспаления (адьювантный артрит) основное внимание было уделено влиянию препарата на морфометрические измене-

ния в различных тканях пораженных суставов.

На 24-е сутки развития патологии и 14-е сутки применения препарата был сделан рентген пораженной конечности животных и оценена степень патологических изменений, которые характеризовались утолщением и разволокнением кортикальных слоев плюсневых костей. Разволокнение, увеличивающее диаметр кости в 1,5—2 раза, классифицировали как сильновыраженное; не превышавшее толщины кортикального слоя — как слабовыраженное.

Применение препарата «Артро-Актив» на фоне адьювантного артрита существенно уменьшало выраженность патологических изменений костной ткани: 8 животных из 10 не имели патологических изме-

Таблица 1.

Состояние костной и хрящевой тканей пораженной конечности крыс на фоне адьювантного артрита и применения исследуемых препаратов ( $m \pm m$ )

Группа	Изменение костной ткани (n=10)			Толщина суставного хряща, мкм (n=6)
	сильновыраженные	слабовыраженные	отсутствуют	
Интактная	0	0	10	91,3 ± 7,4
Плацебо	3	4	3	37,4 ± 10,2 *
Преднизолон, 10 мг/кг	1	6	3	59,8 ± 6,2
Артро-Актив, 300 мг/кг	0	2	8	57,2 ± 3,6

Здесь и в табл. 2: \* – различия статистически значимы по сравнению с интактной группой ( $p < 0,05$ ).

нений и только 2 животных — слабовыраженные изменения.

Отметим, что эффективность применения преднизолона в отношении данного показателя оказалась существенно ниже (табл. 1). Кроме того, «Артро-Актив» и преднизолон эффективно предотвращали атрофические изменения суставного хряща, что оце-

нивалось путем сравнения у животных толщины суставного хряща на гистологических срезах.

Еще одним важным преимуществом препарата «Артро-Актив» перед преднизолоном оказалось отсутствие при его применении побочного действия на первичный орган лимфоидной системы — тимус. Ис-

пользование преднизолона в 2 раза уменьшало вес тимуса и более чем в 2 раза — толщину коркового слоя вилочковой железы. В сравнении с ним «Артро-Актив» в изученных дозах практически не влиял на морфометрические параметры тимуса и селезенки, что свидетельствует об отсутствии у него иммуносупрессорного действия (табл. 2).

Таблица 2.

Состояние первичных и вторичных лимфоидных органов у крыс на фоне адьювантного артрита и применения исследуемых препаратов

Группа	Изменение костной ткани (n=10)		
	относительный вес селезенки (мг/100 г крысы) (n=10)	относительный вес тимуса (мг/100 г крысы) (n=10)	толщина коркового слоя тимуса, мкм (n=6)
Интактная	402,5 ± 21,8	152,0 ± 11,4	386,0 ± 7,02
Плацебо	437,9 ± 29,8	130,9 ± 9,9	203,4 ± 11,9*
Преднизолон, 10 мг/кг	398,6 ± 18,8	69,8 ± 5,7*,**	74,7 ± 7,4*,**
Артро-Актив, 300 мг/кг	471,3 ± 30,0	126,9 ± 11,3	319,6 ± 7,3*,**

\*\* — различия статистически значимы по сравнению с группой плацебо ( $p < 0,05$ ).

## Выводы

1. Новый комбинированный препарат «Артро-Актив» оказывает выраженное терапевтическое действие при лечении воспаления суставов. Применение «Артро-Актива» на фоне адьювантного артрита существенно уменьшило выраженность патологических изменений костной ткани и атрофических изменений суставного хряща.
2. В отличие от преднизолона «Артро-Актив» не оказывает иммуносупрессорного действия.
3. Одним из механизмов действия препарата «Артро-Актив» является подавление активности ядерного фактора κВ.

**Литература:**

1. Александрова А.Е., Макаров В.Г., Рыженков В.Е. и др. Противовоспалительная активность и механизм действия нового комплексного растительного средства / В кн.: — Материалы VIII Международного съезда «Фитофарм». — СПб: НИИХ СПбГУ, 2004. — С. 346—352.
2. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Глюкокортикоидные препараты. — Смоленск: СГМА. 1997.
3. Biswas S.K., McClure D., Jimenez L.A., Megson I.L., Rahman I. Curcumin Induces glutathione biosynthesis and Inhibits NF-kappaB activation and Interleukin-8 release In alveolar epithelial cells: mechanism of free radical scavenging activity // Antioxid Redox Signal. — 2006. — Vol. 7. N° 1—2. — P. 32—41.
4. Caldenhoven E., Uden J., Willems S. et al. Negative cross-talk between RelA and the glucocorticoid receptor: a possible mechanism for the anti-inflammatory action of glucocorticoids // Mol Endocrinol. — 1995. — Vol. 9. — P. 401—412.
5. Rahl H.L. Activators and target genes of Rel/NF-kB transcription factors // Oncogene. — 1999. — Vol. 18. — P. 773, — P.68—53.
6. Roy S., Khanna S., Shah H. et al. Human genome screen to identify the genetic basis of the anti-inflammatory effects of Boswellia in microvascular endothelial cells // DNA Cell Biol — 2006 N° 4. — P. 244—255.
7. Safayhi H., Rall B., Sailer E.R., Ammon H.P. Inhibition by boswellic acids of human leukocyte elastase // J. Pharmacol. Exp Ther — 1997. — Vol. 281. — P. 460—463.
8. Sailer E., Schweizer S., Boden S. et al. Characterization of an acefyt-11-keto-(-boswellic acid and arachidonate-binding regulatory site of 5-lipoxygenase using photoaffinity labeling // Eur. J. Biochem — 1998. — Vol. 256. — P. 364—368
9. Shikov A., Makarov V., Pozharitskaya O. et al. Investigation of antiinflammatory activity of complex herbal oily extract in vivo / In book 53rd Annual congress GA — Florence. — 2006; 206.
10. Strasser E. M., Wessner B., Manhart N., Roth E. The relationship between the anti-inflammatory effects of curcumin and cellular glutathione content in myelomonocytic cells // Biochem Pharmacol. — 2005. — Vol. 70. № 4. — P. 552-569.
11. Takada Y., Bhardwaj A., Potdar P., Aggarwal B. Nonsteroidal anti-inflammatory agents differ in their ability to suppress NF-kB activation of expression of cyclooxygenase-2 and cyclin D1, and abrogation of tumor cell proliferation // Oncogene. — 2004. — №1.23 — P 9247-9258.