

© Коллектив авторов, 2020

УДК 57.084.1.615.015

Иванова Е.А., Матюшкин А.И., Воронина Т.А.

Влияние гимантана в наружной лекарственной форме на вызванную полным адьювантом Фрейнда неспецифическую воспалительную реакцию у крыс при разных схемах применения

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,
125315, Россия, Москва, ул. Балтийская, д. 8

Цель исследования – оценка способности гимантана (N-(2-адамантил)-гексаметиленмина гидрохлорида) в наружной гелевой лекарственной форме ослаблять у крыс неспецифическую воспалительную реакцию, вызванную полным адьювантом Фрейнда (ПАФ).

Методика. Воспалительный процесс моделировали субплантарным введением ПАФ в левую заднюю лапу аутбредных крыс. Оценивали степень отёчности лапы животных по изменению диаметра стопы и голеностопного сустава до и после введения ПАФ. Гимантан в виде 5% гелевой лекарственной формы и препарат сравнения диклофенак в виде 1% гелевой лекарственной формы наносили ежедневно на повреждённую конечность крыс в течение 14 сут. Эксперимент проводили в 2 этапа. На 1-м этапе исследования препараты начинали наносить за 1 сут до индукции воспаления; на 2-м этапе препарат наносили ежедневно спустя 2 нед после индукции воспаления. Во время 1-го этапа работы на 4-е сут после введения ПАФ у животных регистрировали «Orto-Varimex» (Columbus Instruments, США).

Результаты. Установлено, что на 1-м этапе (на 3-и и 7-е сут после индукции воспаления) гель гимантана значительно снижает отёчность стопы и голеностопного сустава поврежденной лапы животных, по эффективности не уступая гелю диклофенака; на 14-е сут после введения ПАФ значимого влияния на выраженность отёка поврежденной конечности не зафиксировано. На 4-е сут после введения ПАФ у животных с моделью воспаления наблюдается снижение на 34,03% числа горизонтальных перемещений в актометре «Orto-Varimex»; 5% гель гимантана и 1% гель диклофенака улучшают координацию движений крыс соответственно на 52,35% и 45,72%. На 2-м этапе исследования установлено, что 5% гель гимантана уменьшает отёчность стопы животных с экспериментальным воспалением через 7 и 14 сут применения препарата, 1% гель диклофенака значимого влияния не оказывает.

Заключение. Курсовое ежедневное применение гимантана в наружной гелевой лекарственной форме снижает выраженность отёчного синдрома у аутбредных крыс с неспецифической воспалительной реакцией, вызванной субплантарным введением в левую заднюю лапу животных флогогенного агента. Эффективность лечения гимантаном, начатого как за 1 сут до введения ПАФ, так и через 2 нед после индукции воспаления, не уступает диклофенаку, применяемому в наружной лекарственной форме.

Ключевые слова: полный адьювант Фрейнда; воспаление; гимантан; диклофенак; крысы.

Для цитирования: Иванова Е.А., Матюшкин А.И., Воронина Т.А. Влияние гимантана в наружной лекарственной форме на вызванную полным адьювантом Фрейнда неспецифическую воспалительную реакцию у крыс при разных схемах применения. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020;64(3): 93-101.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.93-101

Для корреспонденции: Иванова Елена Анатольевна, e-mail: iwanowaea@yandex.ru

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Иванова Е.А., Воронина Т.А.; сбор и обработка материала – Иванова Е.А., Матюшкин А.И.; статистическая обработка – Матюшкин А.И.; написания текста – Иванова Е.А.; редактирование – Воронина Т.А. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

Финансирование: Работа выполнена в рамках Гос. задания по теме № 0521-2019-0007.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.11.2019

Принята к печати 24.06.2020

Опубликована 21.08.2020

Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Voronina T.A.

Effect of different dosage regimens of a topical formulation of Hemantane on complete Freund's adjuvant-induced nonspecific inflammation in rats

Laboratory of Psychopharmacology, V.V. Zakusov Institute of Pharmacology, Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russia

The aim of the study was to evaluate the ability of different once-daily treatment regimens with N-(2-adamantyl) hexamethylenimine hydrochloride (hemantane) topical gel vs. diclofenac topical gel to reduce nonspecific inflammation in rats induced with complete Freund's adjuvant. **Methods.** Inflammation was induced by a subplantar injection of complete Freund's adjuvant into the left hind paw of outbred rats. Edema of the left hind paw was measured. 5% hemantane gel (provided by the Laboratory of Finished Dosage Forms, V.V. Zakusov Institute of Pharmacology) and 1% diclofenac gel (produced by Hemofarm) were applied daily to the affected rat limb for 14 days. The experiment was performed in two stages. At the first stage, the drugs in the form of topical gels were applied to the left hind paw daily starting one day before the induction of inflammation. At the second stage, the topical gel formulations were applied daily starting two weeks after the induction of inflammation. At the first stage of the investigation, on day 4 after the injection of complete Freund's adjuvant, coordination disorder of rats induced by the experimental pathology was evaluated using an Opto-Varimex actometer (Columbus Instruments, USA). **Results.** At the first stage of the study, hemantane gel significantly reduced edema of the foot and ankle joint of the left hind paw on days 3 and 7 after the induction of inflammation and was non-inferior to diclofenac gel. On day 14 after the injection of complete Freund's adjuvant into the rat hind paw, the drugs had no significant effect on edema of the paw. On day 4 after the injection, the number of horizontal movements decreased by 34.03% as indicated by the Opto-Varimex actometer; 5% hemantane gel and 1% diclofenac gel improved coordination in rats by 52.35% and 45.72%, respectively. At the second stage of the study, 5% hemantane gel reduced foot edema in the model of inflammation after 7 and 14 days of treatment, whereas 1% diclofenac gel exerted no significant effect. **Conclusion.** Hemantane as a topical formulation reduces edema in outbred rats with nonspecific inflammation induced by the subplantar injection of complete Freund's adjuvant into the left hind paw when applied daily, starting either one day before the induction of inflammation or two weeks after the complete Freund's adjuvant administration, and its efficacy was not inferior to diclofenac as a topical formulation.

Key words: complete Freund's adjuvant; inflammation; hemantane; diclofenac; rats.

For citation: Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Voronina T.A. Effect of different dosage regimens of a topical formulation of Hemantane on complete Freund's adjuvant-induced nonspecific inflammation in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya I Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(3): 93-101. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.03.93-101

For correspondence: *Elena A. Ivanova*, Senior Researcher, Laboratory of Psychopharmacology, FSBSI "Zakusov Institute of Pharmacology", Baltiyskaya Str. 8, 125215, Moscow, Russia, e-mail: iwanowaea@yandex.ru

Contribution: research concept and design – Ivanova E.A., Voronina T.A.; material collecting and processing – Ivanova E.A., Matyushkin A.I.; statistical processing of results – Matyushkin A.I.; writing text – Ivanova E.A.; text editing – Voronina T.A. Approval of the final version of the article – all co-authors

Acknowledgments. The work was performed according to The State order № 0521-2019-0007.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Information about the authors:Ivanova E.A., <http://orcid.org/0000-0003-4961-2051>Matyushkin A.I., <https://orcid.org/0000-0001-7640-0551>Voronina T.A., <https://orcid.org/0000-0001-7065-469X>

Received 25.11.2019

Accepted 24.06.2020

Published 21.08.2020

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) широко используются для терапии боли и воспаления, однако их применение ограничено побочными эффектами в первую очередь в отношении желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы. НПВП в лекарственных формах для наружного применения эффективны для лечения острой и хронической боли у людей с болезнями костно-мышечной системы и практически не вызывают класс-

специфических осложнений, что обеспечивает возможность их назначения пациентам с серьезной коморбидной патологией [1-4].

В качестве действующих веществ для создания новых противовоспалительных и противоболевых препаратов в наружных лекарственных формах могут рассматриваться обладающие высокой липофильностью соединения, содержащие в своей структуре адамантовый фрагмент [5]. В частности, одно из произво-

дных адамантана — N-(2-адамантил)-гексаметиленим инагидрохлорид(гимантан) в опытах на животных оказывает противоболевое и противовоспалительное действие как при внутривенном и пероральном введении, так и при наружном нанесении в виде 5% геля [6-8]. Ранее нами было установлено, что гимантан в 5% гелевой лекарственной форме (серия 130317) снижает выраженность отёчности у крыс с воспалительным процессом, вызванным полным адьювантом Фрейнда (ПАФ). При ежедневном нанесении на повреждённую заднюю лапу, начиная за 1 сут до индукции воспаления, гимантан не уступает препарату сравнения 1% гелю диклофенака [9].

Цель исследования — оценка способности 5% геля гимантана серии 190219 снижать неспецифическую воспалительную реакцию у крыс, вызванную полным адьювантом Фрейнда (ПАФ), при разных схемах ежедневного наружного применения.

Методика

В работе использованы половозрелые аутбредные белые крысы-самцы массой 230–280 г в начале эксперимента. Животных получали из питомника лабораторных животных «Столбовая» (Московская область). Организация и проведение работ осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России №199 от 1 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Содержание животных осуществлялось в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденными постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 29 августа 2014 г. № 51. Опыты проводили в соответствии с международными правилами (Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях). Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» (протокол №1 от 18 февраля 2019 г.).

Воспалительный процесс моделировали субплантарным введением крысам в левую заднюю стопу 0,1 мл ПАФ (взвесь БЦЖ в вазелиновом масле, Sigma-Aldrich, США) [10]. Экспериментальная работа выполнена в 2 этапа. На 1-м этапе исследования оценивали влияние 5% геля гимантана серии 190219 (предоставлен лабораторией готовых лекарственных форм ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова») в

сравнении с 1% гелем диклофенака (производства фирмы Немофарм, Сербия) на неспецифическую воспалительную реакцию у крыс, вызванную ПАФ, при ежедневном нанесении гелей гимантана и диклофенака на повреждённую лапу животных начиная за 1 сут до инъекции ПАФ. На 2-м этапе работы изучали влияние наружных лекарственных форм на отёчность повреждённых задних лап крыс с 2-недельным воспалительным процессом. Препараты в виде гелей применяли ежедневно в течение 14 сут начиная лечение через 2 нед после инъекции ПАФ. В проводимом исследовании в качестве препарата сравнения был выбран 1% гель диклофенака, так как ранее было установлено, что противовоспалительный эффект изучаемого 5% геля гимантана в острых опытах на крысах (в методиках каррагенанового и формалинового отёков) был сопоставим с эффектом 1% геля диклофенака производства фирмы Немофарм [11].

Животные были распределены на группы: 1-я группа «Пассивный контроль» — крысы без экспериментальной патологии; 2-я — «Адьювантный артрит» (АА) — крысы, в левую заднюю конечность которых вводили ПАФ; 3-я — крысы с АА, которым наружно наносили 5% гель гимантана; 4-я — крысы с АА, которым наружно наносили 1% гель диклофенака. О выраженности воспаления судили по увеличению диаметра стоп и диаметра голеностопных суставов левой задней конечности животных по сравнению с фоновыми значениями (до введения ПАФ). Диаметр стопы и голеностопного сустава измеряли с помощью инженерного штангенциркуля (в мм).

На первом этапе исследования регистрацию отёчности повреждённой конечности проводили на 3-й, 7-й и 14-й сут после введения воспалительного агента. Кроме того, оценивали степень нарушения функции суставов крыс, регистрируя двигательную активность животных на 4-й сут после введения ПАФ в актометре «Opto-Varimex» (Columbus Instruments, США). Актометр представлял собой квадратную арену со стороной 39 см и высотой 20 см, с располагающимися по периметру фиксирующими передвижения животных фотоэлементами. Двигательную активность оценивали в условных единицах по показателю «горизонтальная активность», который фиксировали у каждого животного в течение 2 мин. Массу тела (в г) крыс регистрировали за 1 сут и через 1, 3, 5, 7, 9, 11 и 13 сут после введения ПАФ.

На втором этапе исследования отёчность повреждённой конечности оценивали на 14-й, 21-й и 28-й сут после введения ПАФ. В те же сроки после введения ПАФ регистрировали массу тела крыс (в г).

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 10.0. Нормальность распределения данных проверяли с помощью критерия Шапиро–Уилка с последующей оценкой равенства дисперсий по критерию Левена. В случае нормального распределения в экспериментальных группах и соблюдения межгруппового равенства дисперсий дальнейшую обработку проводили с помощью метода параметрической статистики критерия Даннета. При отсутствии нормального распределения в экспериментальных группах либо при несоблюдении межгруппового равенства дисперсий дальнейшую обработку проводили с помощью метода непараметрической статистики критерия Манна–Уитни. В зависимости от использования параметрических или непараметрических методов анализа результаты в таблицах представлены: в случае применения параметрической статистики как среднее \pm ошибка среднего (стандартное отклонение) – Mean \pm SEM (SD); в случае анализа непараметрическими методами как медиана, первый и третий квартили – Mediana (Q1; Q3); на рисунке данные представлены как медианы. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Модель адьювантного артрита (АА) у крыс, вызванного субплантарным введением ПАФ, рассматривают в качестве модели артрита, при которой к первоначально развивающейся неспецифической воспалительной реакции присоединяется аутоиммунный процесс.

На первом этапе исследования неспецифическая воспалительная реакция у крыс с АА была максимальной на 3-и сут после введения ПАФ и характеризовалась в группе «Адьювантный артрит» увеличением диаметра стопы (табл. 1) и голеностопного сустава (табл. 2) по сравнению с фоновыми показателями до моделирова-

ния патологического процесса. К 7-м сут отёчность лап этих крыс снижалась и оставалась стабильной до 14-х сут после индукции воспаления (табл. 1); наблюдаемое увеличение диаметра голеностопного сустава к 14-м сут уменьшалось (табл. 2).

5% гель гимантана снижал выраженность неспецифического воспаления у крыс с АА, что проявлялось значимым уменьшением отёка подушечки и голеностопного сустава левой задней лапы на 3-и и 7-е сут после введения животным ПАФ. По сравнению с группой «Адьювантный артрит» на фоне 5% геля гимантана на 3-и сут отёчность подушечки левой задней лапы крыс снижалась на 38,21%, голеностопного сустава левой задней лапы – на 41,25%. На 7-е сут в группе животных, которым на повреждённую лапу наносили 5% гель гимантана, отёк подушечки уменьшился на 30,49%, голеностопного сустава на – 56,42% (табл. 1, 2). На 14-е сут после введения индуктора воспаления в группе крыс, которым наружно наносили 5% гель гимантана, уменьшение отёчности подушечки и голеностопного сустава левой задней лапы было не значимым по сравнению с «нелеченой» группой. (табл. 1, 2). Статистически значимых различий показателей при использовании 5% геля гимантана и 1% геля диклофенака не выявлено (табл. 1, 2).

Развитие воспалительного процесса после инъекции ПАФ в заднюю лапу крыс сопровождалось сниженной динамикой прироста массы тела животных по сравнению с группой крыс без экспериментальной патологии. Уже начиная с 1-х сут после индукции воспаления у животных с АА наблюдалось замедление набора массы тела. Статистической значимости ($p < 0,05$) разница массы тела между группой крыс с АА, которые не получали препаратов и группой «Пассивный контроль») достигала на 7-е сут после введения ПАФ. В последующие дни регистрации значимые ($p < 0,05$) отличия массы тела крыс группы «Адьювантный ар-

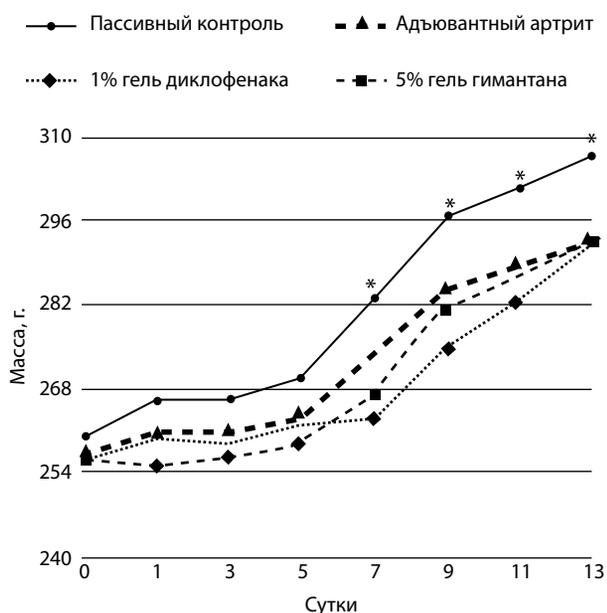
Таблица 1

Изменение диаметра стопы левой задней конечности крыс с моделью адьювантного артрита на фоне ежедневного нанесения гелей гимантана и диклофенака на повреждённую лапу животных начиная за 1 сут до индукции воспаления

Группа	Изменение диаметра стопы левой задней конечности в области подушечки лапы крысы (мм) относительно фоновых значений после введения полного адьюванта Фрейнда		
	3-и сут	7-е сут	14-е сут
Пассивный контроль	-0,05 (-0,22; 0,08)*	-0,06 \pm 0,07 (0,23)*	0,00 (-0,10; 0,10)*
Адьювантный артрит	2,80 (2,40; 3,10)	1,64 \pm 0,15 (0,44)	1,56 (0,86; 2,00)
Гимантан, 5% гель	1,73 (0,86; 2,16)*	1,14 \pm 0,10 (0,30)*	1,22 (0,50; 1,40)
Диклофенак, 1% гель	1,18 (0,76; 1,48)*	1,19 \pm 0,15 (0,40)*	0,91 (0,50; 1,08)

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с группой «Адьювантный артрит», критерий Манна–Уитни/критерий Даннета.

триг» от соответствующих значений группы «Пассивный контроль» сохранялись: на 9-е и 11-е сут уменьшение составило – 12,5 г; на 13-е сут – 14,5 г. На массу тела животных с АА 5% гель гимантана, как и препарат сравнения 1% гель диклофенака влияния не оказывал (рисунк).



Влияние 5% геля гимантана и 1% геля диклофенака на массу тела крыс с экспериментальным адьювантным артритом на фоне ежедневного нанесения гелей гимантана и диклофенака на повреждённую лапу животных начиная за 1 сут до индукции воспаления.

По оси абсцисс обозначены: 0-е сутки – день взвешивания крыс за 1 сут до введения им полного адьюванта Фрейнда (ПАФ); 1, 3, 5, 7, 9, 11 и 13-е сутки после введения животным ПАФ. Представлены медианы массы тела крыс.

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой «Адьювантный артрит», критерий Манна–Уитни.

Необходимо отметить, что на фоне 2-недельного ежедневного нанесения на повреждённую лапу крысам с АА 1% геля диклофенака с 5-х по 9-е сут зафиксирована гибель 4 животных из 10. В других группах ($n=10$) смертности крыс не наблюдалось. В проводимом ранее эксперименте была зарегистрирована подобная картина: на фоне 2-недельного наружного нанесения на лапу 1% геля диклофенака крысам с АА, погибли 4 из 11 животных, причём 3 из них в период с 6-х по 9-е сут после введения ПАФ [9].

На 4-е сут после индукции воспаления у крыс с АА регистрировали двигательную активность в актометре «Opto-Varimex». У животных группы «Адьювантный артрит» наблюдалось значимое снижение (34,03%) числа горизонтальных перемещений по сравнению с крысами без экспериментальной патологии (табл. 3). 5% гель гимантана улучшал координацию движения у крыс с АА, повышая число горизонтальных перемещений на 52,35% ($p=0,026$) по сравнению с группой «Адьювантный артрит», не уступая 1% гелю диклофенака. Увеличение числа горизонтальных перемещений животных на фоне диклофенака составило 45,72% ($p=0,058$) (табл. 3).

Таким образом, результаты проведённого эксперимента подтвердили полученные ранее данные об эффективности 5% геля гимантана [9]. В описанном выше эксперименте установлено, что 5% гель гимантана серии 190219 снижает выраженность неспецифической воспалительной реакции у крыс с АА и улучшает координацию движений, по эффекту не уступая препарату сравнения НПВП 1% гелю диклофенака. Значимых отличий от препарата сравнения не зафиксировано.

На втором этапе исследования оценивали влияние наружной гелевой формы гимантана в сравнении с гелем диклофенака на развивавшийся в течение 14 сут неспецифический воспалительный процесс у

Таблица 2

Изменение диаметра голеностопного сустава в динамике на фоне ежедневного нанесения гелей гимантана и диклофенака на повреждённую лапу животных, начиная за 1 сут до индукции воспаления

Группа	Изменение диаметра голеностопного сустава (мм) относительно фоновых значений после введения полного адьюванта Фрейнда		
	3 сутки	7 сутки	14 сутки
Пассивный контроль	0,17±0,15 (0,48)*	0,20±0,16 (0,50)*	-0,16±0,07 (0,22)*
Адьювантный артрит	4,00±0,50 (1,50)	2,18±0,27 (0,82)	1,25±0,27 (0,85)
Гимантан, 5% гель	2,35±0,34 (1,02)*	0,95±0,12 (0,38)*	1,03±0,23 (0,60)
Диклофенак, 1% гель	2,22±0,35 (1,10)*	1,30±0,31 (0,81)*	0,79±0,23 (0,57)

Примечание. * $p < 0,05$ по сравнению с группой «Адьювантный артрит», критерий Даннета.

крыс. Показатели отёчности левой задней лапы на 14-е сут после инъекции ПАФ в группах с АА не различались между собой (табл. 4, 5). После 7 сут ежедневного нанесения гелей гимантана и диклофенака на повреждённую конечность (21-е сут опыта) отёчность левых задних лап у животных снижалась по сравнению с группой «Адьювантный артрит». Однако значимые различия с группой «Адьювантный артрит» при использовании 5% геля гимантана, составившие 33,3% зафиксированы только по показателю

«изменение диаметра стопы левой задней конечности» (табл. 4, 5). При этом через 7 сут ежедневного нанесения крысам 1% геля диклофенака в группе погибли 5 животных из 20, в остальных группах крыс с АА ($n=20$) гибели крыс не наблюдалось. Через 14 сут нанесения гелей (28-е сут опыта) при использовании 5% геля гимантана также зарегистрировано значимое снижение отёка стопы крыс в области плюсны на 45,0% по сравнению с группой «Адьювантный артрит». На фоне 1% геля диклофенака диаметр левой

Таблица 3

Влияние наружных лекарственных форм на горизонтальную двигательную активность крыс с моделью адьювантного артрита на фоне ежедневного нанесения гелей гимантана и диклофенака на повреждённую лапу животных начиная за 1 сут до индукции воспаления

Группа	Число горизонтальных перемещений за 2 мин, ед.	Уровень значимости p по сравнению с группой «Активный контроль», критерий Даннета
Пассивный контроль	1169,71±108,44 (286,90)	0,042
Активный контроль	771,63±87,43 (247,28)	-
Гимантан, 5% гель	1175,56±116,52 (349,57)	0,026
Диклофенак, 1% гель	1124,44±100,96 (302,87)	0,058

Таблица 4

Изменение диаметра стопы левой задней конечности крыс с моделью адьювантного артрита на фоне ежедневного нанесения гелей гимантана и диклофенака на повреждённую лапу животных с 2-недельным воспалительным процессом

Группа	Изменение диаметра стопы левой задней конечности в плюсовой области (мм) относительно фоновых значений после введения полного адьюванта Фрейнда		
	14-е сут	21-е сут	28-е сут
Пассивный контроль	0,10 (-0,05; 0,35)*	0,00 (-0,15; 0,30)*	0,00 (-0,15; 0,40)*
Адьювантный артрит	2,90 (2,50; 3,50)	2,35 (2,00; 3,03)	2,00 (1,38; 2,58)
Гимантан, 5% гель	3,00 (2,50; 3,70)	1,55 (1,30; 1,80)*	1,10 (0,90; 1,43)*
Диклофенак, 1% гель	3,00 (2,25; 3,55)	1,70 (1,35; 2,60)	2,00 (1,45; 2,40)

Примечание. * $p<0,05$ по сравнению с группой «Адьювантный артрит», критерий Манна–Уитни.

Таблица 5

Изменение диаметра голеностопного сустава в динамике на фоне ежедневного нанесения гелей гимантана и диклофенака на повреждённую лапу животных с 2-недельным воспалительным процессом

Группа	Изменение диаметра голеностопного сустава (мм) относительно фоновых значений после введения полного адьюванта Фрейнда		
	14-е сут	21-е сут	28-е сут
Пассивный контроль	-0,20 (-0,35; 0,00)*	0,00 (-0,45; 0,25)*	0,00 (-0,15; 0,20)*
Адьювантный артрит	1,25 (0,85; 1,60)	0,90 (0,68; 1,13)	0,40 (0,10; 0,63)
Гимантан, 5% гель	1,10 (0,80; 1,65)	0,55 (0,03; 1,30)	0,30 (-0,40; 0,80)
Диклофенак, 1% гель	1,05 (0,50; 1,90)	0,50 (0,00; 1,00)	0,00 (-0,10; 0,50)

Примечание. * $p<0,05$ по сравнению с группой «Адьювантный артрит», критерий Манна–Уитни.

стопы животных не отличался от показателя группы крыс с «нелеченым» АА (табл. 4).

Отёк голеностопного сустава левой задней лапы крыс с АА (группа «Адьювантный артрит») с 14-х по 28-е сут опыта постепенно снижался: степень отёчности голеностопного сустава на 28-е сут снизилась в 3,1 раза по сравнению с 14-и сут после введения ПАФ (табл. 5). Изучаемые препараты в наружных лекарственных формах значимого влияния на диаметр голеностопного сустава не оказывали. При этом следует отметить, что за 14 сут нанесения на повреждённую конечность 1% геля диклофенака погибли 9 из 20 животных; в остальных группах гибели крыс не зафиксировано.

Масса тела животных с АА значимо не отличалась от массы тела крыс группы «Пассивный контроль». Изучаемые препараты не оказывали влияния на массу тела крыс. Ранее было показано, что на 21-е сут после введения ПАФ значимого ухудшения координации движений животных с АА по сравнению с крысами без экспериментальной патологии не наблюдалось [12], поэтому на 2-м этапе исследования не оценивали влияние гимантана и диклофенака в наружных лекарственных формах на двигательную активность животных с АА.

Таким образом, результаты 2-го этапа экспериментальной работы свидетельствуют об эффективности 5% геля гимантана в плане снижения отёчности лап у крыс с 2-недельным воспалительным процессом.

Обсуждение

Введение ПАФ в заднюю лапу крыс приводит к хроническому иммунному воспалению, при котором развивается повреждение суставов других конечностей, помимо той, в которую вводят ПАФ, что рассматривается в качестве модели ревматоидного артрита. Критическую роль в патогенезе ревматоидного артрита играют В-, Т-лимфоциты и макрофаги [13]. Известно, что на лимфоцитах человека находятся ионотропные глутаматные рецепторы [14] и иммунные клетки выделяют глутамат, который модулирует их активность [15–16]. Установлено, что антагонисты NMDA-рецепторов (МК-801, мемантин, ифенпродил) оказывают иммуносупрессивное действие, угнетая антигенспецифическую Т-клеточную пролиферацию, снижая цитотоксичность и способность контролируемой хемокинами миграции Т-клеток [17].

Гимантан является антагонистом ионного канала глутаматных рецепторов NMDA-подтипа [18], что наряду с зарегистрированной эффективностью препара-

та при ежедневном 2-недельном использовании в отношении неспецифической воспалительной реакции обуславливает перспективу изучения его действия на моделях аутоиммунных заболеваний и, в частности, на вторичную иммунологическую реакцию, индуцируемую ПАФ у крыс.

Заключение

Антагонист ионного канала глутаматных рецепторов NMDA-подтипа гимантан в наружной гелевой лекарственной форме снижает выраженность отёчного синдрома у аутобредных крыс с неспецифической воспалительной реакцией, вызванной субплантарным введением в левую заднюю лапу животных полного адьюванта Фрейнда. По эффективности препарат гимантан сопоставим с широко используемым НПВП диклофенаком в наружной лекарственной форме при курсовом ежедневном применении, начиная как за 1 сут до индукции воспаления, так и через 2 нед после введения полного адьюванта Фрейнда. Учитывая, что ионотропные глутаматные рецепторы находятся в том числе на лимфоцитах, и блокада NMDA-рецепторов может обуславливать иммуносупрессивное действие, представляет интерес дальнейшее исследование влияния антагонистов NMDA-рецепторов, в частности гимантана, на моделях аутоиммунных заболеваний.

Литература

1. Каратеев А.Е., Насонов Е.Л., Ивашкин В.Т., Мартынов А.И., Яхно Н.Н., Арутюнов Г.П. и др. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации. *Научно-практическая ревматология*. 2018; 56:1-29. <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2018-1-29>
2. Moore R.A., Tramer M.R., Carroll D., Wiffen P.J., McQuay H.J. Quantitative systematic review of topically applied non-steroidal anti-inflammatory drugs. *BMJ*. 1998; 316(7128): 333-8. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.316.7128.333>
3. Derry S., Moore R.A., Gaskell H., McIntyre M., Wiffen P.J. Topical NSAIDs for acute musculoskeletal pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015. 6:CD007402. DOI:10.1002/14651858.CD007402.pub3
4. Evans J.M., McMahan A.D., McGilchrist M.M., White G., Murray F.E., McDevitt D.G., MacDonald T.M. Topical non-steroidal antiinflammatory drugs and admission to hospital for upper gastrointestinal bleeding and perforation: a record linkage case-control study. *BMJ*. 1995; 311(6996): 22-6. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.311.6996.22>
5. Wanka L., Iqbal K., Schreiner P.R. The lipophilic bullet hits the targets: medicinal chemistry of adamantane derivatives. *Chemical Reviews*. 2013; 113(5): 3516–604. DOI: 10.1021/cr100264t
6. Иванова Е.А., Капица И.Г., Непоклонов А.В., Кокшенев И.И., Вальдман Е.А., Воронина Т.А. Противовоспалительная активность гимантана на моделях периферического воспаления и нейровоспаления, индуцированного липополисахаридом. *Xu-*

- мико-фармацевтических журнал.* 2013; 47(10): 12-5. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11094-014-0994-x>
- Ivanova E., Kapitsa I., Valdman E., Voronina T. (2016) Comparison of the analgesic activity of antiparkinsonian aminoadamantane derivatives amantadine and hemantane. *Advances in Parkinson's Disease*. 2016; 5: 50-60. <http://dx.doi.org/10.4236/apd.2016.53007>
 - Иванова Е.А., Матюшкин А.И., Блынская Е.В., Воронина Т.А. Оценка анальгетической активности гелевых форм гимантана для местного применения в формалиновом тесте у крыс. *Химико-фармацевтический журнал.* 2018; 52(8): 51-5. DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-8-51-55
 - Иванова Е.А., Матюшкин А.И., Воронина Т.А. Влияние гимантана в лекарственной форме для наружного применения на вызванный полным адьювантом Фрейнда воспалительный процесс у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2019; 82(4): 26-31. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-4-23-27>
 - Шварц Г.Я., Сюбаев Р.Д. Методические рекомендации по доклиническому изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств. В кн.: Миронова А.Н. и др., ред. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств.* Часть первая. М.: Гриф и К; 2012: 746–58.
 - Иванова Е.А., Матюшкин А.И., Воронина Т.А. Оценка противовоспалительного действия 5% гелевых форм гимантана. В сборнике: Актуальные вопросы разработки, изучения и обращения лекарственных средств. *Сборник научных работ, посвященный 35-летию фармацевтического факультета ЯГМУ.* 2017: 180-3.
 - Матюшкин А.И., Иванова Е.А., Алексеева С.В., Качалов К.С., Воронина Т.А. Комплексная оценка воспалительного процесса у крыс с первичной и вторичной иммунологической реакцией, вызванной инъекцией полного адьюванта Фрейнда. *Биомедицина.* 2019; 2:75-87. DOI: 10.33647/2074-5982-15-2-75-87
 - Yap H.Y., Tee S.Z., Wong M.M., Chow S.K., Peh S.C., Teow S.Y. Pathogenic role of immune cells in rheumatoid arthritis: implications in clinical treatment and biomarker development. *Cells.* 2018; 7(10): E161. DOI: 10.3390/cells7100161
 - Lombardi G., Dianzani C., Miglio G., Canonico P.L., Fantozzi R. Characterization of ionotropic glutamate receptors in human lymphocytes. *British Journal of Pharmacology.* 2001; 133: 936-44. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704134
 - Pacheco R., Oliva H., Martinez-Navio J.M., Climent N., Ciruela F., Gatell J.M., et al. Glutamate released by dendritic cells as a novel modulator of T cell activation. *Journal of Immunology.* 2006; 177(10): 6695–704. DOI: 10.4049/jimmunol.177.10.6695
 - Affaticati P., Mignen O., Jambou F., Potier M.C., Klingel-Schmitt I., Degrouard J., et al. Sustained calcium signalling and caspase-3 activation involve NMDA receptors in thymocytes in contact with dendritic cells. *Cell Death Differ.* 2011; 18(1): 99-108. DOI: 10.1038/cdd.2010.79
 - Kahlfuß S., Simma N., Mankiewicz J., Bose T., Lowinus T., Klein-Hessling S., et al. Immunosuppression by N-methyl-D-aspartate receptor antagonists is mediated through inhibition of K_v 1.3 and K_{Ca} 3.1 channels in T cells. *Molecular and Cellular Biology.* 2013; 34(5): 820-31. DOI: 10.1128/MCB.01273-13
 - Elshanskaya M.V., Sobolevskii A.I., Khodorov B.I., Val'dman E.A. Interaction of the new adamantane derivative a-7 – a potential antiparkinsonian drug – with NMDA receptor channels. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2001; 64(1): 18-21.
- ## References
- Karateev A.E., Nasonov E.L., Ivashkin V.T., Martynov A.I., Yakhno N.N., Arutyunov G.P., et al. Rational use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical guidelines. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya. Rheumatology Science and Practice.* 2018; 56(Suppl. 1): 1-29 DOI: 10.14412/1995-4484-2018-1-29 (In Russian)
 - Moore R.A., Tramer M.R., Carroll D., Wiffen P.J., McQuay H.J. Quantitative systematic review of topically applied non-steroidal anti-inflammatory drugs. *BMJ.* 1998; 316(7128): 333-8. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.316.7128.333>
 - Derry S., Moore R.A., Gaskell H., McIntyre M., Wiffen P.J. Topical NSAIDs for acute musculoskeletal pain in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2015; 6:CD007402. DOI:10.1002/14651858.CD007402.pub3
 - Evans J.M., McMahon A.D., McGilchrist M.M., White G., Murray F.E., McDevitt D.G., MacDonald T.M. Topical non-steroidal antiinflammatory drugs and admission to hospital for upper gastrointestinal bleeding and perforation: a record linkage case-control study. *BMJ.* 1995; 311(6996): 22-6. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.311.6996.22>
 - Wanka L., Iqbal K., Schreiner P.R. The lipophilic bullet hits the targets: medicinal chemistry of adamantane derivatives. *Chemical Reviews.* 2013; 113(5), 3516–604. DOI: 10.1021/cr100264t
 - Ivanova E.A., Kapitsa I.G., Nepoklonov A.V., Kokshenev I.I., Val'dman E.A., Voronina T.A. Anti-inflammatory activity of hemantane on peripheral inflammation and lipopolysaccharide-induced neuro-inflammation models. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2014. 47(10): 517-20. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11094-014-0994-x> (in Russian)
 - Ivanova E., Kapitsa I., Valdman E., Voronina T. (2016) Comparison of the analgesic activity of antiparkinsonian aminoadamantane derivatives amantadine and hemantane. *Advances in Parkinson's Disease*. 2016; 5: 50-60. <http://dx.doi.org/10.4236/apd.2016.53007>
 - Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Blynskaya E.V., Voronina T.A. Evaluation of the analgesic activity of topical gel dosage forms of hemantane in the formalin test in rats. *Pharmaceutical Chemistry Journal.* 2018; 52(8): 740-3. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11094-018-1890-6> (in Russian)
 - Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Voronina T.A. Effect of a topical formulation of hemantane on complete Freund's adjuvant-induced inflammation in rats. *Eksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya.* 2019. 82(4): 26-31. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-4-23-27> (in Russian)
 - Shvarts G.Ya., Syabaev R.D. Methodological instructions on the study of new nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In: Mironov A.N., et al., eds. *Guidance on preclinical study of new pharmacological substances. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv] Part 1.* Moscow: Grif and K; 2012: 746–58. (in Russian)
 - Ivanova E.A., Matyushkin A.I., Voronina T.A. *Evaluation of the anti-inflammatory effect of 5% topical formulation of hemantane. Collection of scientific papers dedicated to the 35th anniversary of the faculty of pharmacy of YAGMU [V sbornike: Aktual'nye voprosy razrabotki, izucheniya i obrashcheniya lekarstvennykh sredstv. Sbornik nauchnykh rabot, posvyashchenny 35-letiyu farmatsevticheskogo fakul'teta YaGMU].* 2017: 180-3. (in Russian)
 - Matyushkin A.I., Ivanova E.A., Alekseeva S.V., Kachalov K.S., Voronina T.A. Comparison of inflammation severity in rats with a primary reaction and secondary immunological reaction to an injection of Freund's complete adjuvant. *Biomeditsina.* 2019; 2. 75-87. DOI: 10.33647/2074-5982-15-2-75-87 (in Russian)

13. Yap H.Y., Tee S.Z., Wong M.M., Chow S.K., Peh S.C., Teow S.Y. Pathogenic role of immune cells in rheumatoid arthritis: implications in clinical treatment and biomarker development. *Cells*. 2018; 7(10): E161. DOI: 10.3390/cells7100161
14. Lombardi G., Dianzani C., Miglio G., Canonico P.L., Fantozzi R. Characterization of ionotropic glutamate receptors in human lymphocytes. *British Journal of Pharmacology*. 2001; 133: 936-44. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704134
15. Pacheco R., Oliva H., Martinez-Navio J.M., Climent N., Ciruela F., Gatell J.M. et al. Glutamate released by dendritic cells as a novel modulator of T cell activation. *Journal of Immunology*. 2006; 177(10): 6695–704. DOI: 10.4049/jimmunol.177.10.6695
16. Affaticati P., Mignen O., Jambou F., Potier M.C., Klingel-Schmitt I., Degrouard J., et al. Sustained calcium signalling and caspase-3 activation involve NMDA receptors in thymocytes in contact with dendritic cells. *Cell Death Differ*. 2011; 18(1): 99-108. DOI: 10.1038/cdd.2010.79
17. Kahlfuß S., Simma N., Mankiewicz J., Bose T., Lowinus T., Klein-Hessling S., et al. Immunosuppression by N-methyl-d-aspartate receptor antagonists is mediated through inhibition of K_v 1.3 and K_{Ca} 3.1 channels in T cells. *Molecular and Cellular Biology*. 2013; 34(5): 820-31. DOI: 10.1128/MCB.01273-13
18. Elshanskaya M.V., Sobolevskii A.I., Khodorov B.I., Val'dman E.A. Interaction of the new adamantane derivative a-7 - a potential antiparkinsonian drug - with NMDA receptor channels. *Экспериментальная и Клиническая Фармакология*. 2001; 64(1): 18-21.

Сведения об авторах:

Иванова Елена Анатольевна, канд. фарм. наук, ст. науч. сотр. лаб. психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», e-mail: iwapanowaea@yandex.ru;

Матюшкин А.И., аспирант лаб. психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»;

Воронина Т.А., доктор мед. наук, проф., руководитель лаб. психофармакологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова».