

SECTION 3. PHARMACEUTICAL SCIENCE: THE PRESENT AND THE FUTURE

DOI <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-486-3-13>

PHARMACOLOGICAL STUDY OF LIPOFLAVON IN ACUTE RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME

ФАРМАКОЛОГІЧНА ОЦІНКА ПРЕПАРАТУ ЛІПОФЛАВОН ПРИ ГОСТРОМУ РЕСПІРАТОРНОМУ ДИСТРЕС-СИНДРОМІ

Polunin A. O.

*Leading Engineer at the Department
of Medical Chemistry
SI «Institute of pharmacology
and toxicology of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine»
Kyiv, Ukraine*

Полунін А. О.

*провідний інженер відділу
Медичної хімії
ДУ «Інститут фармакології
та токсикології Національної
академії медичних наук України»
м. Київ, Україна*

Suvorova Z. S.

*Acting Chief of the Department
of Medical Chemistry,
SI «Institute of pharmacology
and toxicology of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine»
Kyiv, Ukraine*

Суворова З. С.

*в.о. завідувача відділу Медичної хімії
ДУ «Інститут фармакології
та токсикології Національної
академії медичних наук України»
м. Київ, Україна*

Запальні захворювання зазвичай супроводжуються цілим каскадом імунно-біохімічних перетворень у організмі. Запалення провокують реакцію організму, унаслідок чого відбувається синтез великої кількості спеціальних білків – цитокінів, які по-різному забезпечують імунну відповідь. Це стає можливим завдяки взаємодії про- та протизапальних цитокінів. Однак варто враховувати й той факт, що вже досить давно було повідомлено про те, що відношення цитокіну до тої чи іншої групи часто залежить від різних параметрів (кількості цитокіну, природи клітин-мішеней та активуючого сигналу, тривалості впливу тощо) та використовуваних експериментальних моделей [1]. Однак спираючись на переважаючі принципи дії, цитокіни класично розподіляють саме на дві такі групи.

Серед цитокінів, які виявляють протизапальну активність відомим прикладом є інтерлейкін-10 (IL-10). Він характеризується широкою

протизапальною активністю, що передусім описується його здатністю інгібувати перехресну презентацію антигену у таких АПК як макрофаги та моноцити, що перешкоджає появі ефективної Т-клітинної відповіді. Крім того, це може відбуватись й за безпосередньої дії як на ефекторні Т-клітини, так і на Т-клітини пам'яті. Також були охарактеризовані його антифібротичні властивості, що проявляються у протидії цим цитокінам та сприяють інгібіції розвитку легеневого фіброзу [2, 3].

На сьогоднішній день, за результатами досліджень IL-10 запропонований як один із компонентів терапії при ГРДС, який був досить розповсюдженим ускладненням за пандемії COVID-19. Також була доведена роль IL-10, як одного з ключових регуляторів перебігу ГРДС у дорослих, що дозволяв знизити смертність та важкість перебігу синдрому. Однак, обговорюється гіпотеза про те, що значне збільшення концентрації IL-10 у важких пацієнтів може також сприяти «цитокіновому шторму», виступаючи вже не як регулятор, що інгібує запальну реакцію, а як прозапальний агент, що провокує вивільнення інших прозапальних цитокінів [3–6].

Кверцетин, рослинний флавоноїд, що володіє широким спектром корисних властивостей, серед яких такі як антиоксидантна та протизапальна, що дозволяє розглядати його як потенційний лікарський засіб при терапії ГРДС. Очікується, що препарати на основі кверцетину можуть мати протизапальну та імуностимулюючу дію, що полягає у підвищенні концентрації IL-10, що сприятиме меншій смертності та легшому перебігу при ГРДС [7, 8].

Мета роботи – встановити ефективність препарату Ліпофлавіон при ГРДС у дослідженнях *in vivo* з подальшим підтвердженням його протизапальної активності в ІФА-тесті з визначенням вмісту IL-10.

Матеріали та методи. Усі експериментальні процедури відповідають вимогам Методичних рекомендаціям Державного фармакологічного центру МОЗ України та біоетичних стандартів [9, 10]. Дослідження проводили на білі миші лінії Balb/c віком (8 – 10) тижнів та вагою (25 – 30) г, розділених на дві групи по 5 тварин в кожній, які були отримані з Експериментально-біологічної клініки ДУ «ІФТ НАМНУ». У дослідженнях використовували ліцензійний препарат Ліпофлавіон (серія 11301321, АТ «Фармстандарт-Біолік»). Доза препарату становила 3,75 мг/кг за кверцетином.

Моделювання ГРДС, викликаного кислотною аспірацією (HCl-модель) відтворювали інтрахеальною інстиляцією соляної кислоти (0,1 N HCl, pH 1,5) у легені. Попередньо мишам внутрішньовенно вводили анестетик (пропофол, 0,1 мл/мишу, 1-% емульсію). Фармакологічну активність Ліпофлавіону при лікуванні ГРДС

в HCl-моделі оцінено за використання способу парентерального введення, використовуючи наступну схему: перша внутрішньовенна ін'єкція через 2 години після відтворення моделі, далі по одній ін'єкції кожні 24 години протягом наступних 5 днів [11].

Через 24 години після останнього введення препарату кров збирали під загальним наркозом, отримані зразки центрифугували 30 хв при 1500 об/хв. Біохімічні дослідження з визначення концентрації IL-10 проводили у день отримання з використанням набору реактивів для ІФА від компанії arigoPLEX®. Аналіз проведено згідно з інструкцією виробника.

Статистичну обробку експериментальних результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Загибель тварин спостерігалась вже протягом перших двох діб після постановки моделі (1/5 на 3 добу). Станом на 6 день дослідження, виживаність становила 80 % популяції. Патологічний стан піддослідних тварин характеризувався зниженням загальної активності, птозом. Тварини перебували у неприродній позі, крім того глибина та цикл дихання не відповідали нормі. Вага тварин суттєво зменшилась, що пояснюється зменшенням зацікавленості тварин до їжі та води. Починаючи з 5 доби після постановки моделі – відбувалось деяке покращення самопочуття у мишей, проте відновлення клінічного стану тварин не спостерігали. Внутрішньовенне застосування Ліпофлаону повністю запобігало загибелі тварин. Протягом двох діб після моделювання патології покращувалась рухова активність, тонус мускулатури та дихання тварин.

Після проведення розрахунків, отриманих з імуноферментного аналізу, вдалось розрахувати та порівняти концентрації IL-10 у контрольній групі та групі, яку лікували Ліпофлаоном. Концентрація IL-10 у групі, якій вводили Ліпофлаон становила у середньому по групі близько 110 пг/мл на мишу, тоді як у контрольній групі концентрація була суттєво меншою і становила 94,9 пг/мл. Концентрація IL-10 у здорових мишей є низькою і становить, у нормі менше ніж 20 пг/мл. Таке різке підвищення концентрації IL-10 у контролі – пов'язане із тим, що на момент забору крові у організмі мишей продовжувала тривати запальна реакція. Незначне підвищення концентрації IL-10 у групі, яку лікували Ліпофлаоном, може ефективно стимулювати імунну систему, що допомагатиме організму краще витримувати перебіг захворювання [3, 4]. Саме те, що підвищення концентрації є незначним можна вважати ключовим, якщо врахувати гіпотезу, що зависока концентрація даного інтерлейкіну може мати зворотній вплив [1, 6].

Висновки. Таким чином, було встановлено ефективність препарату Ліпофлавон у дослідженнях *in vivo*, що проявляє 100 % виживаність тварин у експерименті. Подальшим підтвердження його протизапальної активності у ІФА-тесті є підвищена концентрація ІЛ-10 у мишей під час такого патологічного стану як гострий респіраторний дистрес-синдром. Ефективне підвищення рівня ІЛ-10 після використання препарату на основі кверцетину Ліпофлавон – може мати позитивний вплив на загальний стан їх організму та важкість перебігу захворювання. Введення відомого лікарського засобу в схеми терапії ГРДС допоможе вирішити актуальну задачу по розширенню клінічних показів до застосування у безпечних лікарських засобів з протизапальною активністю.

Література:

1. Cavaillon J. M. Pro- versus anti-inflammatory cytokines: myth or reality. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2001. 47(4): 695-702.
2. Saraiva M., Vieira P., O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J of Exper Med*. 2020. 217 (1). DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.20190418>.
3. Shih L. J., Yang C. C., Liao, M. T. et al. An important call: Suggestion of using IL-10 as therapeutic agent for COVID-19 with ARDS and other complications. 2023. *Virulence*. 14(1). DOI: <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2190650>.
4. Armstrong L., Millar A . B. Relative production of tumor necrosis factor alpha and interleukin 10 in adult severe acute distress syndrome. *BMJ Journal*. 1997. V. 52: 442-446.
5. Gong M. N., Thompson B. T., Williams P. L., et al. Interleukin-10 polymorphism in position -1082 and acute respiratory distress syndrome. *European Respiratory Journal*. 2006. 27 (4) 674–681. DOI: 10.1183/09031936.06.00046405.
6. Lu L., et al. A Potential Role of Interleukin 10 in COVID-19 Pathogenesis. *Trends in Immunology*. 2021. Volume 42, Issue 1, 3 – 5.
7. Saeedi-Boroujeni A., Mahmoudian-Sani MR. Anti-inflammatory potential of Quercetin in COVID-19 treatment. *Journal of Inflammation*. 2021. 18, 3. <https://doi.org/10.1186/s12950-021-00268-6>.
8. Rizky, Wahyu & Jihwaprani, Muhammad & Mushtaq, Mazhar. Protective Mechanisms of Quercetin in Various Lung-induced Injuries. *SCIREA Journal of Clinical Medicine*. 2022. V. 7, Is. 3. DOI: <https://doi.org/10.54647/cm32844>
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [методичні рекомендації] / За ред. О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. 528.

10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS No. 123). Strasbourg 18/03/1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>.

11. Extracellular histones play an inflammatory role in acid aspiration-induced acute respiratory distress syndrome [Text] / Y. Zhang, Z. Wen, L. Guan [et al.] *Anesthesiology*. 2015. V. 122, Is. 1. P. 127–139. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000429.