

Оксиметазолин ингибирует и купирует воспалительные реакции в нейтрофилах человека

Введение

Инфекционные заболевания верхних дыхательных путей (ВДП), которые вызываются преимущественно риновирусами, ассоциируются со значительными экономическими расходами, обусловленными медицинскими тратами и потерей трудоспособности. К осложнениям риновирусиндуцированных заболеваний ВДП относят: средний отит, синусит, а также обострение сопутствующей патологии нижних дыхательных путей (бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких); они оказывают значительное влияние на систему здравоохранения.

Симптоматическая терапия инфекционных заболеваний ВДП, известных под названием «простуда», уже на протяжении 50 лет эффективно проводится при помощи назального деконгестанта оксиметазолина. Последний является производным имидазолина, который обладает симпатомиметической и прямой α -адренергической активностью, направленной на гладкомышечные клетки сосудов слизистой носа и обуславливающей возникновение вазоконстрикции. Действие препарата развивается через несколько секунд и длится на протяжении 12 часов. Кроме симпатомиметической активности, в недавно опубликованных исследованиях описаны антиоксидантные и противовоспалительные свойства оксиметазолина.

Tuttenberg и коллеги показали, что противовоспалительное действие оксиметазолина частично объясняется ингибированием провоспалительных цитокинов (интерлейкина 1β , 6, 8, фактора некроза опухоли), а также снижением стимулирующей способности Т-клеток и подавлением процессов их стимуляции. Westerveld и соавт. установили, что оксиметазолин является мощным ингибитором микросомального перекисного окисления липидов и акцептором гидроксильных радикалов. Мы также недавно сообщили об обнаружении у оксиметазолина антиокислительных и противовоспалительных свойств как в бесклеточной, так и в клеточной системах, представленных альвеолярными макрофагами собак.

Учитывая иммуномодулирующие и противовоспалительные свойства оксиметазолина, мы предположили, что этот препарат может индуцировать синтез липоксинов, которые, в свою очередь, способствуют разрешению воспаления. Фазе разрешения воспаления придается большое значение в процессе возвращения воспаленной ткани к состоянию гомеостаза, полному разрешению воспаления без сохранения молекулярных признаков и других следов антимикробной активности лейкоцитов. Поскольку риновирусные инфекции индуцируют воспалительный процесс и приток полиморфноядерных нейтрофилов (ПМН) в ткани носа, то в качестве модели в рамках данного исследования использовали именно эти клетки. Мы предположили, что

оксиметазолин способен индуцировать синтез простагландина E_2 (PGE_2) и 15(S)-гидроксиэйкозатетраеновой кислоты (15(S)-ГЭК), обладающих иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами соответственно, а также ингибировать провоспалительную активность лейкотриена B_4 (LTB_4). Благодаря активации и ингибированию перечисленных липидных медиаторов и соответствующих ферментов может происходить т. н. переключение с эйкозаноидов на оксиметазолин, что сопровождается ингибированием активности 5-липоксигеназы (5-ЛО) и LTB_4 , а также активацией синтеза PGE_2 , 15(S)-ГЭК, содействуя тем самым усилению выработки способствующего разрешению липоксина- A_4 (LPA_4).

Материалы и методы

Материалы

В работе использовали фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБР) с/без Ca^{2+}/Mg^{2+} производства фирмы Biochrome (Берлин, Германия), люминол и зимозан – производства Sigma (Дейзенхофен, Германия).

Растворы оксиметазолина, суспензии ультрамельких частиц элементарного углерода (УЧЭУ) и опсонизированного зимозана (ОЗ, фирма-производитель Merck, Дармштадт, Германия) растворяли и разбавляли в ФСБР с Ca^{2+}/Mg^{2+} , pH 7, содержащем 0,1% раствор глюкозы. УЧЭУ получали при помощи искрового разряда, затем переводили их во взвешенное состояние, растворяя в дистиллированной воде при помощи вортекс-миксера и ультразвука.

Изоляция ПМН

ПМН получали из венозной крови здоровых добровольцев, обработанной цитратом, при помощи набора Polymorphprep (фирма-производитель Axis-Shield, Осло, Норвегия) согласно методике Beck-Speier.

Жизнеспособность ПМН в присутствии оксиметазолина

Для изучения влияния оксиметазолина на жизнеспособность клеток ПМН инкубировали с различными концентрациями указанного препарата (0,1; 0,4 и 1 мМ) в ФСБР (pH 7,4) с Ca^{2+}/Mg^{2+} и 0,1% глюкозой в случае отсутствия других стимуляторов на протяжении 80 мин при температуре 37 °C. После центрифугирования (400 об./мин в течение 10 мин при комнатной температуре) и сбора клеток их ресуспендировали в буфере HEPES, pH 7,4, содержащем 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА); аликвоты клеточных суспензий использовали для определения жизнеспособности при помощи теста вытеснения трипанового синего.

Инкубация ПМН с оксиметазолином

Влияние оксиметазолина на ПМН определяли при отсутствии/наличии костимулирующих агентов: УЧЭУ или ОЗ. Оба стимулятора являются крупнодисперсными частицами и поглощаются фагоцитирующими клетками,

при этом УЧЭУ подвергается нерцепторно-опосредованному фагоцитозу, тогда как ОЗ – рецепторно-опосредованному фагоцитозу. Последующую обработку проводили аналогично с таковой, использовавшейся ранее в наших исследованиях:

- с целью изучения влияния оксиметазолина на нестимулированные клетки ПМН ($0,5 \times 10^6$ клеток/0,5 мл) инкубировали с различными концентрациями препарата (0,1; 0,4 и 1 мМ, что составляло 29,68, 118,72 и 296,8 мкг/мл соответственно) в ФСБР (pH 7,4) с Ca^{2+}/Mg^{2+} и 0,1% глюкозой на протяжении 80 мин при температуре 37 °C;

- с целью изучения влияния оксиметазолина на стимулированные клетки ПМН ($0,5 \times 10^6$ клеток/0,5 мл) параллельно инкубировали с различными концентрациями оксиметазолина (0,1; 0,4 и 1 мМ) в ФСБР (pH 7,4) с Ca^{2+}/Mg^{2+} и 0,1% глюкозой на протяжении 20 мин при температуре 37 °C; затем подвергали воздействию УЧЭУ (32 мкг/мл) или ОЗ (50 мкг/мл) в течение дополнительных 60 мин.

После инкубации клетки подвергали центрифугированию (400 об./мин) на протяжении 10 мин при комнатной температуре. Клетки ресуспендировали в холодном буфере HEPES (pH 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА; гомогенизировали посредством сонификации (3-кратно, каждый раз по 15 с) во льду; центрифугировали при 10 000 об./мин в течение 15 мин при температуре 4 °C. Необходимо отметить, что клетки выдерживали во льду во время подготовки, чтобы предупредить

процессы активации или дегградации. Надосадочную жидкость использовали для анализа белковых и липидных медиаторов. Анализ лизата является надежным инструментом для количественного определения уровня синтеза эйкозаноидов. Чувствительность этой внутриклеточной методики подтверждается нормализацией уровня эйкозаноидов по отношению к содержанию белка в лизате. Определение клеточного содержания эйкозаноидов необходимо для понимания аутокринных механизмов PGE_2 , способного вызывать функциональные и метаболические изменения в ПМН.

Статистический анализ

Статистическую значимость определяли при помощи двухвыборочного t-критерия Стьюдента (STATSAK, версия 2.12, Молден, США). Отличия при значениях $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Обсуждение

В ранее проведенном исследовании в условиях *in vitro* мы показали, что оксиметазолин ингибирует активность 5-ЛО, обладающей провоспалительными свойствами. Активность 15-ЛО, имеющей противовоспалительные характеристики, не уменьшается. Используя альвеолярные макрофаги собак в качестве клеточных моделей, мы продемонстрировали, что оксиметазолин ингибирует 5-ЛО путь, вызывая снижение продукции LTB_4 , а также активирует 15-ЛО путь, способствуя повышению

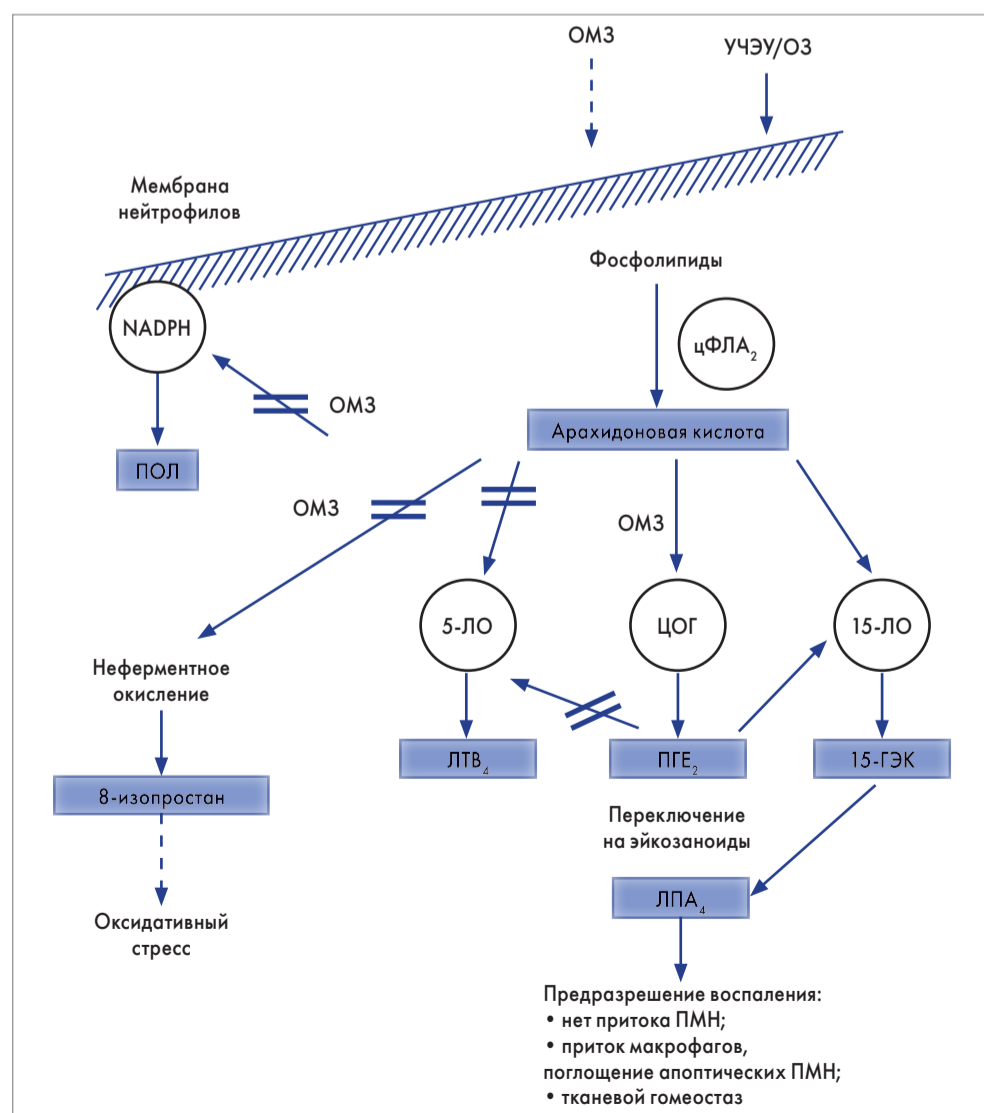


Рис. Оксиметазолинстимулированный сигнальный каскад в человеческих нейтрофилах: эйкозаноиды
Примечания: cPLA₂ – цитоплазматическая фосфолипаза A₂; ЦОГ – циклооксигеназа; ПОЛ – перекисное окисление липидов.

генерації 15(S)-ГЭК. В настоящем исследовании изучалось влияние оксиметазолина на метаболизм эйкозаноидов в человеческих ПМН, представляющих собой основную популяцию воспалительных клеток в тканях носа, инфицированных вирусом. Основываясь на полученных нами данных (оксиметазолин активует 15-ЛО путь), мы предполагаем, что оксиметазолин также индуцирует образование способствующих разрешению липоксинов, которые являются конечными метаболитами этого пути. Исследования проводились как с нестимулированными, так и с УЧЭУ- и ОЗ-стимулированными ПМН для имитации воспалительного ответа и оксидативного стресса. Результаты подтверждают, что оксиметазолин весьма эффективно ингибирует активность респираторного взрыва, тогда как исходные уровни ЛТВ₄ и 8-изопростана, используемого в качестве маркера оксидативного стресса, не влияли на нестимулированные ПМН. Однако иммуномодулирующие и противовоспалительные ответы, включая ПГЕ₂, 15(S)-ГЭК и синтез способствующего разрешению медиатора ЛПА₄, достоверно возросли. В УЧЭУ- и ОЗ-стимулированных клетках оксиметазолин значительно ингибировал синтез ЛТВ₄, 8-изопростана, а также активность респираторного взрыва. Увеличение уровня ПГЕ₂, 15(S)-ГЭК и ЛПА₄, зафиксированное после стимуляции, сохранялось в присутствии оксиметазолина. Мы предположили, что УЧЭУ- и ОЗ-стимулированные клетки являются верхней границей для выработки ПГЕ₂, 15(S)-ГЭК, ЛПА₄, что не приводит к дальнейшему увеличению оксиметазолина в условиях *in vitro*. Ранее подобные результаты описывали для ПГЕ₂, 15(S)-ГЭК, ЛТВ₄, активности респираторного взрыва и 8-изопростана в альвеолярных макрофагах собак, которые очень похожи на человеческие альвеолярные макрофаги. Эффективные концентрации оксиметазолина для ингибирования провоспалительных реакций и торможения оксидативного стресса в ПМН варьировались от 0,1 до 1 мМ. Ранее установлено, что эти концентрации оксиметазолина также являются релевантными для альвеолярных макрофагов.

Вирусная инфекция вызывает сильный воспалительный процесс в тканях носа, провоцируя возникновение острого ринита. Воспалительные медиаторы играют важную роль в его патогенезе. Назальный секрет обогащается провоспалительными медиаторами, цитокинами и эйкозаноидами (лейкотриенами и простагландинами), что сопровождается инфильтрацией ПМН. ЛТВ₄ являются наиболее мощными хемоаттрактантами для ПМН, поэтому они ответственны за нейтрофильную инфильтрацию в вирусинфицированных тканях.

Результаты, полученные в нашем исследовании *in vitro*, свидетельствуют о том, что оксиметазолин ингибирует 5-ЛО-стимулированную продукцию ЛТВ₄ и высвобождение активных форм кислорода одновременно с существенным увеличением ПГЕ₂. Кроме некоторых специфических провоспалительных свойств, в течение последних 10 лет у ПГЕ₂ обнаружены регуляторные эффекты по контролю иммунного ответа, например посредством ослабления провоспалительных реакций.

Активность респираторного взрыва и оксидативного стресса, индуцированных УЧЭУ и ОЗ, ингибируется оксиметазолином. Ингибирование этих параметров может быть обусловлено способностью последнего поглощать свободные радикалы, как это показано Westerveld. Оксиметазолин содержит гидроксильную группу на его фенольном кольце, которое легко предоставляет атом водорода для реакции с радикалами, связанными липидпероксидазой и другими активными формами кислорода. Мы полагаем, что благодаря своей способности поглощать радикалы оксиметазолин также нейтрализует радикалы, образующиеся при высокой активности респираторного взрыва, и отменяет УЧЭУ- и ОЗ-индуцированное образование 8-изопростана. Это своего рода защитный механизм, предотвращающий избыточное высвобождение активных форм кислорода (основного вещества, повреждающего ткани).

Повышение уровня ЛПА₄, вызванное оксиметазолином, может способствовать сокращению продолжительности заболевания. В проспективном многоцентровом рандомизированном плацебо-контролируемом двойном слепом сравнительном исследовании (в котором эффективность оксиметазолина сопоставлялась с таковой физиологического раствора) в качестве первичной конечной точки использовали длительность ринита у больных простудой (288 пациентов, 24 центра). Вторичными конечными точками являлось значительное уменьшение заложенности носа, насморка, чихания, нарушения обоняния и вкуса, чувства недомогания. Максимальная длительность лечения составляла 10 дней (1 инстилляция (45 мкл 1,6 мМ/0,05% раствора оксиметазолина) в каждый носовой ход 3 р/сут). На фоне приема оксиметазолина симптомы значительно уменьшились уже на 2-й день по сравнению с контрольной группой, получавшей физиологический раствор; эта динамика сохранялась на протяжении всего исследования. Длительность ринита достоверно сократилась на 1/3 (4 vs 6 дней) при применении оксиметазолина.

Таким образом, мы разработали оксиметазолин-стимулируемый каскад изменений в ПМН (рис.). Оксиметазолин, вероятно, является ведущим сигналом, активирующим продукцию ПГЕ₂, который, в свою очередь, подавляет образование ЛТВ₄ и активует 15-ЛО путь. В скоординированном действии с ПГЕ₂ липидный медиатор ЛПА₄ останавливает дальнейший приток ПМН, способствуя разрешению воспаления. Кроме того, ЛПА₄ стимулирует моноциты для поглощения апоптозных ПМН макрофагами. ЛПА₄ наиболее важен для его способности возвращать воспаленную ткань в состояние гомеостаза. В этом отношении увеличение и поддержание уровня ЛПА₄ при помощи оксиметазолина может улучшить разрешение ринитассоциированного воспаления и, таким образом, значительно сократить длительность заболевания.

Статья печатается в сокращении.

Beck-Speier I. et al. Oxymetazoline Inhibits and Resolves Inflammatory Reactions in Human Neutrophils. 2009. doi: 10.1254/ijph.09012FP.

Перевела с англ. Лада Матвеева



НАДАЄ ЇЙ ВІДЧУТТЯ СВОБОДИ

Називін®



- Оригінальний оксиметазолін¹
- Зберігає мукоциліарний кліренс²
- Скорочує лікування нежитю на 2 дні³

>6р.
та дорослі

12
год

25
сек

ВІК ТРИВАЛІСТЬ ПОЧАТОК ДІЇ



1. Ревизи доступа, 03.2017; <https://de.wikipedia.org/wiki/Oxymetazolin>. 2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21364225>. 3. Adapted from Reinecke S et al. 2005. 4. Reinecke S and Tschakin M. Investigation of the Effect of Oxymetazoline on the Duration of Rhinitis. Results of a placebo-controlled double-blind study in patients with acute rhinitis. MMW Fortsch Med 2005; 147 Suppl 3: 113-118. Називін®, краплі назальні 0,01 % по 5 мл у флаконах № 1. Реєстраційне посвідчення МОЗ UA/7928/01/01, №53 від 01.02.2016; Називін®, краплі назальні 0,025 % по 10 мл у флаконах № 1. Реєстраційне посвідчення МОЗ UA/7928/01/02, №53 від 01.02.2016; Називін®, краплі назальні 0,05 % по 10 мл у флаконах № 1. Реєстраційне посвідчення МОЗ UA/7928/01/03, №53 від 01.02.2016; Називін®, краплі назальні 0,05 % по 10 мл у флаконах № 1. Реєстраційне посвідчення МОЗ UA/7928/02/01, №14 від 13.01.2016; Називін® Сенситив, Краплі назальні 0,01 % по 5 мл у флаконах № 1. Реєстраційне посвідчення МОЗ UA/1162/01/01, №203 від 02.03.2017; Називін® Сенситив, Краплі назальні 0,025 % по 15 мл або по 10 мл у флаконах № 1. Реєстраційне посвідчення МОЗ UA/1162/01/02, №836 від 15.08.2016; Називін® Сенситив, Краплі назальні 0,05 % по 15 мл або по 10 мл у флаконах № 1. Реєстраційне посвідчення МОЗ UA/1162/01/02, №836 від 15.08.2016; Діагностика риніту: оксиметазолин. Умови відпуску: без рецепта. За додатковою інформацією звертайтеся за адресою: ТОВ «Др.Редді»/С. Лабораторія, Столине шосе, 103, оф. 11-А, м. Київ, Україна, 03131, тел. +380444923173.

Реклама лікарського засобу, що розміщується у спеціальних виданнях, призначених для медичних закладів та лікарів чи матеріалів, що роз'яснюють на спеціальних заходах на медичну тематику. Перед призначенням ознайомтеся з повним текстом інструкції для медичного застосування. Називін-12/07/2017-01С.

Dr.Reddy's