

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОАЛЛЕРГИЧЕСКИХ ИНТРАНАЗАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ЧАСТОТУ КОЛЕБАНИЙ РЕСНИЧЕК МЕРЦАТЕЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ *IN VITRO*

J. Albery, W. Stoll

Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
Münster, Germany

E-mail: redvrach@rusvrach.ru

В опытах in vitro доказан эффект воздействия интраназальных противоаллергических лекарственных средств, содержащих динатрия кромогликат, диметидина малаат и азеластина гидрохлорид, на частоту колебаний ресничек мерцательного эпителия носовой полости, что необходимо учитывать в клинической практике.

Ключевые слова: азеластин; частота колебаний ресничек; диметидина малаат; динатрия кромогликат; интраназальные противоаллергические лекарственные средства.

Мукоцилиарный клиренс — важный защитный механизм мерцательного эпителия носовой полости [1]. Эта комплексная уравновешенная система, состоящая из слоя слизи, перемещаемой ресничками клеток мерцательного эпителия, может подвергаться воздействию не только патологических процессов, таких как, например, острый или хронический ринит [2, 3] или аллергия [4], но и большого количества лекарственных веществ [5, 6].

В последние десятилетия для местного применения при сезонном и хроническом аллергическом рините широко применяют ряд новых лекарственных препаратов [7, 8]. Высокая эффективность современных назальных спреев в облегчении местных симптомов аллергии обусловлена содержанием в них динатрия кромогликата (стабилизатор мембран тучных клеток) или антагониста H_1 -рецепторов — азеластина [9–11], о действии которых на активность мерцательного эпителия полости носа известно очень мало.

Нами оценено влияние 3 различных противоаллергических лекарственных средств (ЛС) для интраназального применения на частоту колебания ресничек (ЧКР) мерцательного эпителия полости носа *in vitro*. ЧКР является основной характеристикой мукоцилиарной активности мерцательного эпителия полости носа.

Исследование проведено на клетках мерцательного эпителия носовой полости человека *in vitro*. Схема проведения экспериментальной части исследования представлена на рис. 1.

При помощи малой ушной кюретки у 16 здоровых добровольцев с задней части нижней носовой раковины брали клетки мерцательного эпителия носовой полости. Местное обезболивание не проводилось. Клеточную суспензию получали путем перемешивания клеток с 700 мкл стерильной среды для клеточных культур (среда Игла, модифици-

рованная по Дюльбекко, Sigma Chemicals Co., Сент-Луис, Миссури, США). Клеточную суспензию и добавляемые позднее препараты выдерживали при постоянной температуре (37°C) на протяжении всего периода оценки.

После микроскопического изучения клеточного содержимого и жизнеспособности клеток суспензию делили на 6 порций (образцов) по 100 мкл в каждой. Два образца служили контролем и оценивались в начале (С-до) и конце (С-после) периода исследования. Остальные 4 образца (опытные) последовательно инкубировали в течение 20 мин с 10 мкл одного из исследуемых лекарственных веществ. Растворы помещали в прозрачные колбы, промаркировав их от А до D. Порядок обработки исследуемых растворов был рандомизирован; оценка была слепой — исследователь не знал точных условий эксперимента и не был осведомлен о содержимом исследуемого образца.

ЧКР измеряли в конце каждого периода инкубации ($t=20$ мин) с помощью фотоэлектрического метода [1, 12]. Для этого небольшое количество каждой клеточной суспензии помещали в камеру Фукса–Розенталя и изучали под микроскопом; в каждой суспензии в течение 10 с оценивали 10 активных клеток.

Были исследованы следующие противоаллергические ЛС: зарегистрированный 2% препарат динатрия кромогликата (ДНКГ); новый препарат, содержащий 0,1% антагониста H_1 -рецепторов диметидина малаата (ДММ), не назначаемый пока для местного интраназального лечения, а также зарегистрированный 0,1% препарат азеластина гидрохлорид (АЗЛ). Для количественной оценки влияния бензалкония хлорида (консерванта, который входит в состав всех исследованных препаратов), в таком же порядке были оценены образцы с плацебо (ПЛ), содержащим 0,022% бензалкония хлорида. С помощью цифрового рН-метра 646 (Fa. Krick, Germany) измеряли значения рН исследованных лекарственных препаратов при 37°C в чистом виде и в растворах, использовавшихся для исследования *in vitro*. Концентрации противоаллергических препаратов, бензалкония хлорида, а также значения рН чистых препаратов и их растворов представлены в таблице.

На материале, полученном от нескольких здоровых добровольцев, согласно рандомизированному блочному дизайну исследования, было проверено действие 4 веществ. Для проверки постоянства свойств клеточной суспензии ЧКР контрольных образцов суспензии клеток в питательной среде измеряли до (С-до) и после (С-после) инкубации 4 тестовых растворов. Корреляцию между С-до и С-после оценивали, определяя корреляционный коэффициент и сравнивая значения ЧКР по 2-стороннему t -критерию. Значения ЧКР в 4 опытных группах сравнивали между собой и с контролем (усредненное значение С-до и С-после). Применить параметрический метод для анализа результатов в указанных 4 группах не представилось возможным из-за большого количества нулевых значений в одной из групп, поэтому использовали непараметрический метод Фридмана. Уровни значимости представлялись с каждым результатом.

В контрольных образцах значение ЧКР ($M \pm \delta$) в С-до составило $11,2 \pm 1,2$ Гц, в С-после — $11,6 \pm 1,5$ Гц ($p \leq 0,05$). Коэффициент корреляции между С-до и С-после был $r=0,92$. Таким образом, среднее контрольное значение составило $11,4 \pm 1,3$ Гц.

Полученные средние значения ЧКР для 4 групп исследованных образцов представлены на рис. 2. Значение

ЧКР в ПЛ оказалось пониженным до $9,7 \pm 2,3$ Гц (статистически незначимо относительно контроля). Воздействие средства, содержащего ДНКГ, снижало ЧКР до $9,7 \pm 2$ Гц (статистически незначимо относительно контроля и ПЛ). Воздействие средства, содержащего ДММ, снижало ЧКР до $7,2 \pm 1,7$ Гц ($p \leq 0,05$ по сравнению с контролем и ПЛ; различия по сравнению с ДНКГ статистически незначимы). Воздействие средства, содержащего АЗЛ, снижало ЧКР до $0,9 \pm 1,8$ Гц ($p \leq 0,001$ по сравнению с контролем, группами ПЛ и ДНКГ, а по сравнению с ДММ различия статистически незначимы); в 9 из 16 случаев было выявлено полное прекращение движений ресничек.

Известно, что у пациентов, страдающих от аллергического ринита, ЧКР снижается, и, соответственно, время назального мукоцилиарного клиренса (ВНМК) увеличивается независимо от степени аллергенной нагрузки [4, 13]. Было установлено, что мерцательная активность ресничек снижается с увеличением срока заболевания [4]. После острой аллергенной нагрузки у пациентов, страдающих аллергическим ринитом, ВНМК увеличивается (в разной степени) в основном за счет значительного усиления носовой секреции [13].

Вследствие индивидуальных особенностей мукоцилиарного клиренса у пациентов, страдающих аллергическим ринитом, представлялось маловероятным получить статистически достоверные результаты в клиническом исследовании по сравнительному изучению влияния лекарственных препаратов, а учитывать их необходимо. Поэтому было принято решение об исследовании ЧКР как ключевого параметра мукоцилиарного клиренса *in vitro*.

Жизнеспособность и стабильность свойств ресниччатых клеток на протяжении всего времени эксперимента изучали путем сравнения результатов С-до и С-после; была продемонстрирована хорошая корреляция. Тестируемые растворы разводили в соотношении: 1 часть тестового раствора на 10 частей клеточной суспензии (в соответствии с предыдущими рекомендациями [5] по адаптации условий *in vitro* к таковым при разведении назальных спреев на слизистой оболочке носовой полости *in vivo*). Изменения ЧКР, вызванные воздействием ЛС, как правило, наблюдаются в течение 5–20 мин после инкубации *in vitro* [5, 14, 15]. С другой стороны, при условии нормального мукоцилиарного транспорта время контакта лекарственного вещества с эпителием носовой полости *in vivo* не превышает 20 мин. Поэтому мы измеряли ЧКР после 20 мин инкубации, что соответствует рекомендациям других авторов [5, 16], считающих это адекватному времени в условиях *in vivo*.

Значение pH изучаемых ЛС колебалось от 5,5 до 6,8. После разведения в питательной среде для клеточных культур с pH=7,6 значения pH растворов, тестируемых *in vitro*, оставались в пределах от 7,2 до 7,5. Известно, что колебания pH в указанных пределах не влияют на ЧКР мерцательного эпителия [17, 18], так как они соответствуют значению pH слизистой оболочки полости носа *in vivo* [19].

Установлено, что воздействие бензалкония хлорида (распространенного консерванта) вызывает снижение ЧКР [5, 20]. Бензалкония хлорид входит в состав всех рассмотренных в исследовании ЛС. Поэтому сопоставление эффектов плацебо, содержащего 0,022% бензалкония хлорида, и рассмотренных противоаллергических средств, содержащих такое же (ДММ)

либо меньшее (АЗЛ, ДНКГ) количество бензалкония хлорида, представляло особый интерес для количественного определения воздействия 3 рассмотренных противоаллергических лекарственных веществ на ЧКР мерцательного эпителия полости носа.

Воздействие ЛС, содержащего ДНКГ, не вызвало большего снижения ЧКР по сравнению с плацебо, что соответствует данным других исследователей [21]. Следовательно, полученные нами результаты подтверждают, что стабилизатор мембран тучных клеток ДНКГ не должен оказывать неже-

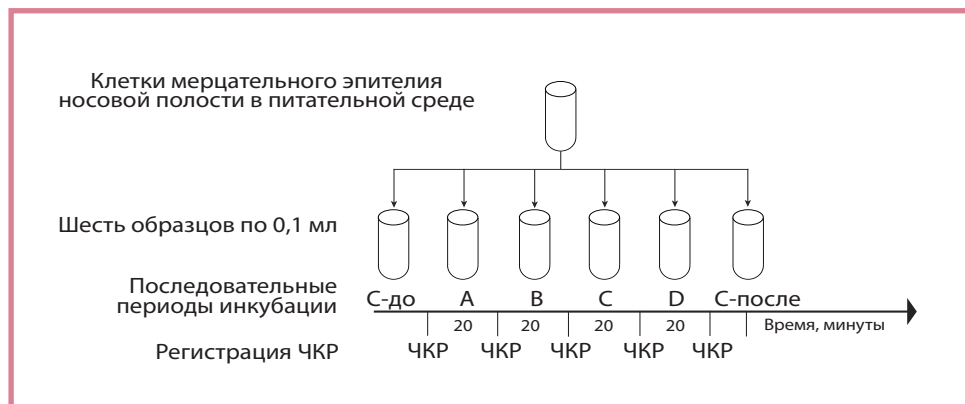


Рис. 1. Схема проведения экспериментальной части исследования. Последовательная инкубация 2 контрольных (С – до и после) и 4 тестовых (А–D) растворов

Концентрации и pH противоаллергических ЛС и бензалкония хлорида до и после их разведения в СИМД

Вещество	Противоаллергическое ЛС	Концентрация бензалкония хлорида, %	pH чистого ЛС для интраназального применения	pH в растворе 1:10 в СИМД при тестировании <i>in vitro</i>
ПЛ	Нет	0,022	6,2	7,2
ДММ	0,1% диметидина малеат	0,022	6,2	7,2
ДНКГ	2 % динатрия кромогликат	0,01	5,5	7,5
АЗЛ	0,1% азеластина гидрохлорид	0,0125	6,8	7,5

Примечание. СИМД – среда Игла, модифицированная по Дульбекко (pH 7,6).

Дышать, чтобы
чувствовать...



Рег. номер: П № 015192/02 от 31.07.2008, П № 015192/03 от 07.08.2008, П № 015192/01 от 10.10.2008 Реклама

Виброцил®

Уникальная двойная формула Виброцил* поможет вашему ребенку быстро избавиться от симптомов насморка: заложенности, отека, зуда и чихания.

Виброцил мягко и бережно воздействует на слизистую носа, его можно применять до 14 дней**

* На территории РФ

** См. реестр лекарственных средств в РФ



 **NOVARTIS**
Новartis Коньюмер Хелс

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ИНСТРУКЦИЕЙ

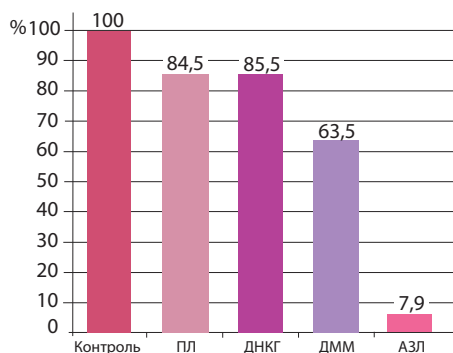


Рис. 2. Относительная ЧКР после воздействия исследованных лекарственных веществ и плацебо по сравнению с контролем

лательного воздействия на активность ресничек мерцательного эпителия *in vitro*.

Антагонист H_1 -рецепторов ДММ широко используется для перорального и местного (накожного) применения. Как уже сообщалось, при системном применении он значительно снижает симптомы проявления аллергического ринита [22, 23], однако ничего не было известно о его влиянии на мукоцилиарную систему. Нами установлено, что новый лекарственный препарат, содержащий ДММ, вызывает слабо выраженное снижение ЧКР — статистически значимое по сравнению с контролем и статистически незначимое по сравнению с плацебо. Таким образом, существенного влияния ДММ на активность ресничек мерцательного эпителия носовой полости *in vitro* не выявлено. Полученные результаты могут способствовать введению в клиническую практику нового ЛС для местного применения, содержащего ДММ.

АЗЛ является противоаллергическим средством для местного (интраназального) и системного (перорального) применения. Было продемонстрировано наличие у него эффекта антагонизма к H_1 -рецепторам, как и прочих противоаллергических воздействий на высвобождение антигениндуцированных медиаторов воспаления и воспалительную клеточную инфильтрацию [24, 25]. В данном исследовании мы оценивали ЛС, содержащее азеластин и предназначенное для интраназального применения. Однако оказалось, что оно значительно снижает активность ресничек мерцательного эпителия, вплоть до полного прекращения их движения в нескольких случаях.

Опубликованы данные о воздействии азеластина на активность ресничек мерцательного эпителия, однако они являются спорными. Так, Х. Су и А. По обнаружили снижение ЧКР в образцах эпителия трахеи крыс после инкубации с подобными концентрациями другого ЛС, содержащего азеластин [14], а J. Тамаоки и соавт. отметили увеличение ЧКР эпителия биоптатов трахеи человека после орошения их раствором азеластина в концентрации 10^{-4} моль/л [15].

В отличие от этого данные, полученные при изучении левокабастина — другого антагониста H_1 -рецепторов, предназначенного для местного лечения аллергических ринитов, который сейчас продвигается на рынке, — подтвердили наличие у него лишь незначительного эффекта снижения ЧКР мерцательного эпителия *in vitro* и отсутствие существенного влияния на ВНКМ *in vivo* [16].

Влияние изученных противоаллергических ЛС для интраназального применения на ЧКР мерцательного эпителия носовой полости в условиях *in vitro* существенно различалось: от отсутствия снижения ЧКР до ее значительного угнетения. В клинической практике необходимо учитывать возможное воздействие некоторых противоаллергических ЛС для интраназального применения (например, таких как азеластин) на активность ресничек мерцательного эпителия. Дальнейшие исследования влияния противоаллергических средств для интраназального применения на мукоцилиарную активность (*in vitro* и *in vivo*) должны внести ясность в этот вопрос. Поскольку указанные лекарственные вещества широко используются пациентами, страдающими сезонным и хроническим аллергическим ринитом, подобные исследования имеют большое значение для обеспечения безопасности при длительном приеме этих ЛС.

Выражаем искреннюю благодарность компании Novartis Consumer Health GmbH (Мюнхен, Германия) за вклад в поддержку данного исследования. Также благодарим д-ра Rudiger Köhling за рецензирование рукописи.

Литература

1. Deitmer T. Physiology and pathology of the mucociliary system//Adv Otorhinolaryngol. — 1989; 43: 1–143.
2. Sakakura Y., Mucociliary function during experimentally induced rhinovirus infection in man//Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. — 1974; 82: 203–211.
3. Sakakura Y., Ukai K., Majima Y. et al. Nasal mucociliary clearance under various conditions//Acta Otolaryngol. (Stockh). — 1983; 96: 167–173.
4. Ohashi Y., Nakai Y., Kihara S. et al. Ciliary activity in patients with nasal allergies//Eur. Arch. Otorhinolaryngol. — 1985; 242: 141–147.
5. Deitmer T., Scheffler R. The effect of different preparations of nasal decongestants on ciliary beat frequency in vitro//Rhinology. — 1993; 31: 151–153.
6. van de Donk H., van den Heuvel A., Zuidema J. et al. The effects of nasal drops and their additives on human nasal mucociliary clearance//Rhinology. — 1982; 20: 127–137.
7. Albecker K. Symptomatische Therapie der allergischen Rhinitis//Laryngol. Rhinol. Otol. (Stuttg). — 1990; 69: 613–620.
8. Lund V., Seasonal allergic rhinitis — a review of current therapy//Allergy. — 1996; 51: 5–7.
9. Meltzer E., Storms W., Pierson W. et al. Efficacy of azelastine in perennial allergic rhinitis; clinical and rhinomanometric evaluation//J. Allergy Clin. Immunol. — 1988; 82: 447–455.
10. Gatspar H., Nolte D., Aurich R. et al. Comparative efficacy of azelastine nasal spray and terfenadine in seasonal and perennial rhinitis//Allergy. — 1994; 49: 152–158.
11. Charpin D., Godard P., Garay R. et al. A multicenter clinical study of the efficacy and tolerability of azelastine nasal spray in the treatment of seasonal allergic rhinitis: a comparison with oral cetirizine//Eur. Arch. Otorhinolaryngol. — 1995; 252: 455–458.
12. Dalhamn T., Rylander R. Frequency of ciliary beat measured with a photosensitive cell//Nature. — 1962; 196: 592–593.
13. Riechelmann H., Hafner B., Mann W. Ziliare Aktivität und Sekrettransport bei der allergischen Reaktion der Nasenschleimhaut//Allergologie. — 1992; 15: 224–228.
14. Su X., Po A. The effect of some commercially available antihistamine and decongestant intranasal formulations on ciliary beat frequency//J. Clin. Pharm. Ther. — 1993; 18: 219–222.
15. Tamaoki J., Chiyotani A., Sakai N. et al. Effect of azelastine on sulphur dioxide induced impairment of ciliary motility in airway epithelium//Thorax. — 1993; 48: 542–546.
16. Merkus F., Schusler van Hees M. Influence of levocabastine suspension on ciliary beat frequency and mucociliary clearance//Allergy. — 1992; 47: 230–233.

17. van de Donk H., Zuidema J., Merkus F. The influence of the pH and osmotic pressure upon tracheal ciliary beat frequency as determined with a new photoelectric registration device//Rhinology. – 1980; 18: 93–104.

18. Ingels K., Kortmann M., Nijziel M. et al. Factors influencing ciliary beat measurements//Rhinology. – 1991; 29: 7–26.

19. Breuninger H. Über das physikalisch-chemische Verhalten des Nasenschleims//Arch. Klin. Exp. Ohren. Nasen Kehlkopfheilk. – 1964; 184: 133–138.

20. van de Donk H., Muller-Plantema I., Zuidema J. et al. The effects of preservatives on the ciliary beat frequency of chicken embryo tracheas//Rhinology. – 1980; 18: 119–133.

21. van de Donk H., Zuidema J., Merkus F. The effects of nasal drops on the ciliary beat frequency of chicken embryo tracheas//Rhinology. – 1981; 19: 215–230.

22. Horak F., Jager S., Nirnbergcr G. et al. Pharmacodynamic dose finding of dimethindene in a sustained release formulation//Arzneimittelforschung. – 1993; 43: 1193–1195.

23. Horak F., Jager S., Berger U. et al. Controlled exposure to mite allergen for a dose finding of dimethindene maleate (DMM)//Agents Actions. – 1994; 41: 124–126.

24. Ciprandi G., Pronzato C., Passalacqua G. et al. Topical azelastine reduces eosinophil activation and intercellular adhesion molecule-1 expression on nasal epithelial cells: an antiallergic activity//J. Allergy. Clin. Immunol. – 1996; 98: 1088–1096.

25. Shirasaki H., Asakura K., Sohma S. et al. Inhibitory effects of azelastine on nasal allergic responses in sensitized guinea pigs//Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 1992; 249: 279–282.

EFFECT OF ANTIALLERGIC INTRANASAL MEDICATIONS ON THE VIBRATION RATE FOR CILIATED EPITHELIAL CILIA IN VITRO

J. Albery, W. Stoll

*Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde
Münster, Germany*

In vitro experiments have provided evidence that intranasal antiallergic medications containing disodium cromoglycate, dimethindene maleate, and azelastine hydrochloride affect the vibration rate of nasal cilia, which should be taken into account in clinical practice.

Key words: azelastin, ciliary vibration rate, dimethindene maleate, disodium cromoglycate, intranasal antiallergic medications.

ОСТЕОНЕКРОЗЫ КОСТЕЙ ЛИЦЕВОГО СКЕЛЕТА У ЛИЦ С НАРКОТИЧЕСКОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ: КЛИНИКА, ДИАГНОСТИКА, ПРИНЦИПЫ ЛЕЧЕНИЯ

Ю. Медведев, доктор медицинских наук, профессор, **Е. Басин**
Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
E-mail: uamedvedev@gmail.com

Представлены результаты комплексного обследования и лечения 35 больных с остеонекрозами лицевого скелета, употреблявших синтетический наркотический препарат дезоморфин. Полученные данные свидетельствуют о необходимости использования элементов первичной реконструкции при проведении резекции челюстей для создания топографоанатомических ориентиров при проведении последующего восстановительного лечения.

Ключевые слова: дезоморфин, фосфорный некроз, никелид титана, остеонекроз челюстей.

На территории Российской Федерации наркомания приобретает характер эпидемии. Только в последнее время, по данным Федеральной службы РФ по контролю за оборотом наркотиков, число лиц, употребляющих наркотический препарат дезоморфин, приближается к 300 тыс. [8].

Дезоморфин изготавливается из свободно реализуемых через аптечную сеть кодеинсодержащих лекарственных средств: коделак, терпинкод, тетралгин, пенталгин, седал-м с добавлением органических растворителей, кислот, бензина, ацетона, кристаллического йода, красного фосфора и других препаратов. Данная смесь из кодеинсодержащих лекарственных веществ в высоких дозах и различных химических добавок, используемых при изготовлении дезоморфина, оказывает выраженное действие на органы и ткани человека.

По данным О. Маланчука (2010), на территории Украины до 60% больных с остеомиелитами челюстных костей приходится на лиц с наркотической зависимостью, среди которых наибольшее распространение получил другой синтетический наркотический препарат — первитин, при изготовлении которого также используется красный фосфор [4].

В последнее десятилетие отмечается тенденция к росту частоты атипично протекающих остеомиелитов костей лицевого скелета. Их регистрируют у лиц преимущественно молодого возраста с отягощенным наркологическим анамнезом, и они не поддаются общепринятым способам лечения из-за наличия у пациентов различных форм иммунодефицита, антибиотикорезистентности микроорганизмов, поддерживающих воспалительный процесс не только в челюстных костях, но и в окружающих мягких тканях.