

MOŻLIWE DZIAŁANIE IMMUNOMODULUJĄCE KETOPROFENU I SOLI LIZYNY KETOPROFENU NA MÓZG

Barbara Nieradko-Iwanicka¹⁾, Kinga Ruszel²⁾, Mariola Herbet³⁾, Kamil Pawłowski³⁾

¹⁾ Zakład Higieny i Epidemiologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²⁾ Szkoła Doktorska, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³⁾ Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

STRESZCZENIE

Sól lizynowa ketoprofenu (KL) jest nowym niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym (NLPZ) konkurującym na rynku z ketoprofenem (K). Uważa się, że ten pierwszy ma właściwości gastroprotecyjne, drugi uśmierza ostry ból. Wiele osób pije alkohol, a następnego dnia zażywa NLPZ. Celem badania było sprawdzenie, czy K i KL mają jakikolwiek wpływ immunomodulujący na mózg po zatruciu alkoholem etylowym na modelu szczurzym.

Doświadczenie przeprowadzono na 36 samicach szczurów rasy Wistar. Zwierzęta hodowano w Centrum Medycyny Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Etanol, NaCl, K i KL podawano przez zgłębnik. Zwierzęta podzielono losowo na grupy po 6 sztuk. W 7 dniu wszystkie zwierzęta uśmiercono. Pobrano im mózgi i krew do badań laboratoryjnych.

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu IL-10 w ośrodkowym układzie nerwowym pomiędzy grupami badanymi. Zaobserwowaliśmy dodatnią korelację między poziomem IL-10 w mózgu a masą ciała, a także korelację między IL-6 w mózgu a masą mózgu. Poziom IL-10 w mózgu korelował ze stężeniem IL-6 u wszystkich zwierząt.

Wnioski:

KL i K mają pewien wpływ immunomodulujący na mózg.

Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy poziomem IL-6 i IL-10 w mózgu szczurów.

Słowa kluczowe: immunomodulacja, ketoprofen, sól lizynowa ketoprofenu, interleukina 10, interleukina 6.

ARTICLE INFO

PolHypRes 2024 Vol. 88 Issue 3 pp. 87 – 98

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.2478/phr-2024-0018

Strony: 12, rysunki: 0, tabele: 1

page **www of the periodical:** www.phr.net.pl

Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

Typ artykułu: oryginalny

Termin nadesłania: 12.05.2024 r.

Termin zatwierdzenia do druku: 24.07.2024 r.



WSTĘP

Ketoprofen (K) jest niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym (NLPZ) szeroko stosowanym w leczeniu ostrego bólu [1]. Pojawił się na rynku nowy preparat sól lizynowa ketoprofenu (KL). KL charakteryzuje się większą rozpuszczalnością w wodzie porównaniu do K. Podkreśla się szybsze wchłanianie KL z przewodu pokarmowego w porównaniu z K [2]. Istnieją dane sugerujące, że KL ma zwiększoną tolerancję żołądkową *in vitro* [3,4]. W zwierzęcym modelu uszkodzenia błony śluzowej żołądka wywołanego alkoholem KL wykazywał zwiększoną tolerancję ze strony przewodu pokarmowego i nerek w porównaniu z K [2]. Nowa polimorficzna postać KL *in vivo* wykazywała znacząco wyższą absorpcję i inną farmakokinetykę niż KL [5].

W większości stanów zapalnych stężenie interleukiny 6 (IL-6) jest podwyższone. Cytokina bierze udział nie tylko w reakcjach zapalnych i infekcyjnych, ale także w regulacji procesów metabolicznych, regeneracyjnych i nerwowych [6]. Odgrywa rolę w aktywacji niektórych szlaków regulacyjnych i immunologicznych. Ostre zapalenie charakteryzuje się naciekiem neutrofilii. Z czasem zastępowane są przez monocyty i limfocyty T. W ten sposób zapobiega się uszkodzeniom tkanek przez reaktywne formy tlenu (ROS). Komórki śródbłonna i inne elementy naczyniowe są aktywowane przez produkty drobnoustrojów, interleukinę 1 β (IL-1) i czynnik martwicy nowotworu α (TNF α), wytwarzając różne chemokiny, takie jak IL-6. Prowadzi to do przyciągania neutrofilii. Proteolityczne przetwarzanie IL-6R z neutrofilii prowadzi następnie do przekazywania sygnału trans IL-6 w komórkach tkanek. Następuje rekrutacja neutrofilów do monocytów [7,8,9].

Istnieją dane sugerujące, że ani K, ani KL nie są w stanie zmniejszyć zwiększonej ekspresji IL-6 w przebiegu zapalenia neuropatycznego i bólu neuropatycznego [5].

Zaobserwowali to Matthews i wsp., że u myszy pod nieobecność IL-6 rozwija się nietolerancja glukozy i insulinooporność. Myszy IL-6 $^{-/-}$ wykazywały oznaki zapalenia wątroby [10]. Kiedy w hepatocytach usunięto gen IL-6R, u myszy wystąpiło zmniejszenie wrażliwości na insulinę i tolerancji glukozy [11]. U pacjentów otrzymujących lek neutralizujący IL-6R (tocilizumab) w okresie leczenia wystąpiła zwiększona masa ciała, rozwinęła się hipertriglicerydemia i hipercholesterolemia. Wskazuje to na związek pomiędzy blokadą IL-6 a zaburzoną homeostazą metaboliczną [12]. Transgeniczne myszy z nadekspresją IL-6 i sIL-6R wykazywały ogromną stymulację sygnalizacji gp130. Były mniejsze niż myszy typu dzikiego i nie rozwinęła się w nich tkanka tłuszczowa [13]. Biorąc pod uwagę przytoczone wyniki badań myszy pozbawionych wątrobowego IL-6R (ponieważ hepatocyty wyrażają IL-6R związaną z błoną), można podejrzewać, że wpływ IL-6 na wątrobową kontrolę wrażliwości na insulinę i tolerancję glukozy pośredniczy IL-6 [14].

W badaniu *in vivo* odnotowano, że IL-6 w połączeniu z sIL-6R uwrażliwia nocycyptory skóry szczura na ciepło. Naukowcy zaobserwowali, że aktywowany ciepłem prąd jonowy był modulowany przez IL-6 w neuronach czuciowych szczura [15]. Eksperymenty przeprowadzone na myszach pozbawionych IL-6 wykazały, że cytokina ta odgrywa kluczową rolę w odczuwaniu bólu. U myszy nie rozwinęła się hiperalgezia termiczna [16]. Murphy i wsp. badali, w jaki sposób uszkodzenie nerwów powoduje silny, przewlekły ból neuropatyczny, który nie ustępuje po zastosowaniu NLPZ lub opioidów. W eksperymencie przeprowadzonym na gryzoniach naukowcy wykazali, że ekspresja mRNA IL-6 na neuronach czuciowych determinuje odczuwanie bólu neuropatycznego. U zwierząt z mutacją uniemożliwiającą wytwarzanie IL-6, pomimo uszkodzenia nerwów, nie występowała nadwrażliwość skóry na bodźce termiczne lub uciskowe. W centralnych projekcjach czuciowych neuronów stwierdzono spadek poziomu substancji P i galaniny. Odwrotne zjawisko zaobserwowano u myszy typu dzikiego. Naukowcy odkryli, że dokanałowe wstrzyknięcie IL-6 indukowało przyspieszoną syntezę galaniny w neuronach, szczególnie w zwojach korzeni grzbietowych odcinka lędźwiowego kręgosłupa. W ten sposób potwierdzono, że IL-6 uczestniczy w patogenezie bólu neuropatycznego i istotnie wpływa na poziom neuropeptydów pośredniczących w przewodzeniu bodźców bólowych: galaniny i substancji P [16].

Sheppard i wsp. wykazali, że podanie leku neutralizującego IL-6, tocilizumabu, zmniejsza aktywność zapalenia stawów i poziom bólu odczuwanego w związku z chorobą [17].

Interleukina 10 (IL-10) jest cytokiną plejotropową. IL-10 jest cząsteczką o silnym działaniu przeciwzapalnym i immunosupresyjnym. IL-10 pełni funkcję regulatora komórek limfoidalnych. IL-10 hamuje aktywację syntezy wielu cytokin. Reguluje także funkcje makrofagów. W ten sposób IL-10 można uznać za czynnik supresorowy dla komórek NK, makrofagów, a także limfocytów T. Stwierdzono także, że IL-10 jest w stanie regulować proliferację limfocytów B i wpływać na ich różnicowanie [18]. W rozwoju wielu chorób odnotowano deregulację IL-10: bólu neuropatycznego, choroby Parkinsona, choroby Alzheimera, choroby zwyrodnieniowej stawów, reumatoidalnego zapalenia stawów, łuszczycy, tocznia rumieniowatego układu, cukrzycy typu 1, nieswoistego zapalenia jelit i alergii [19].

Alkohol jest neurotoksyną. Jego stosowanie, poza działaniem toksycznym, powoduje także zapalenie układu nerwowego [20]. Zarówno alkohol, jak i NLPZ zwiększają ryzyko zapalenia i owrzodzenia żołądka. K jako neselektywny inhibitor cyklooksygenazy, hamuje zarówno cyklooksygenazy konstytutywne, jak i te wywołane stanem zapalnym. K hamuje transfer leukocytów z łożyska naczyniowego do tkanek objętych stanem zapalnym oraz hamuje wydzielanie elastazy przez neutrofile w ognisku zapalnym. Wiadomo, że K zmniejsza podśluzówkowy przepływ krwi w żołądku i zmniejsza ilość wydzielanego soku żołądkowego, ale jednocześnie nie zmniejsza ilości jonów wodorowych wydzielanych do światła żołądka, co znacznie zwiększa ryzyko zapalenia, owrzodzenia, a nawet krwawienia z górnego odcinka przewodu pokarmowego [21]. Przewlekłe zapalenie błony śluzowej żołądka może prowadzić do zmniejszenia spożycia pokarmu i utraty masy ciała.

Spożycie alkoholu w Polsce i innych krajach Europy Środkowej utrzymuje się na wysokim poziomie. W 2021 r. średnie spożycie alkoholu na mieszkańca wyniosło 9,7 litra [22]. Dominującym stylem spożywania alkoholu w Europie Środkowo-Wschodniej jest upijanie się [23]. Dotyczy to zarówno mężczyzn, jak i kobiet. Wiele osób stosuje NLPZ w celu łagodzenia bólów głowy następnego dnia po przedawkowaniu alkoholu, zwiększając w ten sposób ryzyko uszkodzenia błony śluzowej żołądka.

Nadużywanie alkoholu i zakażenie *Helicobacter pylori* to dwa niezależne czynniki ryzyka rozwoju raka żołądka. Aziz i wsp. odkryli, że IL-10 hamuje wychwyt glukozy i glikolizę. Jeśli w komórkach CD8 $^{+}$ brakuje IL-10, gromadzą się uszkodzone mitochondria. Dlatego wzrasta produkcja interleukiny 1- β (IL1 β). W takich warunkach IL-1 β sprzyja zakażeniu *H. pylori*. IL-1

ułatwia podziały komórek nowotworowych. Jeśli pacjent przewlekłe nadużywa alkoholu i jest zakażony *H. pylori*, IL-10 ulega zahamowaniu. Wiąże się to z upośledzeniem funkcjonowania komórek CD8+ [24].

Podejmowane są próby stworzenia kolejnych nowych preparatów kombinowanych na bazie K. Przykładowo połączenie gabapentyny i KL. Lekarze leczący ból przewlekły, czyli ból utrzymujący się dłużej niż 3 miesiące, poszukują adiuwantów, które pomogą poprawić kontrolę bólu. Takim adiuwantem może być gabapentyna. Jest na to nadzieja, zwłaszcza w przypadku bólu neuropatycznego. Aramini i wsp. przeprowadził kokryształizację w celu otrzymania KL-gabapentyny. Ten nowy produkt testowano na szczurach w modelu neuropatycznego bólu zapalnego wywołanego karagenem. Po wstrzyknięciu karagenu zbadano poziom IL-6 w rdzeniu kręgowym. Ponieważ w ośrodkowym układzie nerwowym był wysoki poziom cytokin prozapalnych, musiała tam nastąpić ostra reakcja zapalna. U badanych zwierząt c-kryształ KL-GABA wykazywał skuteczne działanie przeciwbólowe i przeciwzapalne. Podanie leku nie wpłynęło jednak istotnie na poziom IL-6 [25].

CEL

Celem pracy było sprawdzenie, jaki jest wpływ K i KL na poziomy IL-6 i IL-10 w mózgu po zatruciu alkoholem etylowym w modelu szczurzym oraz czy mają one działanie immunomodulujące na mózg.

MATERIAŁY I METODY

Roztwór K (Ketonal) do wstrzykiwań firmy Sandoz GmbH, Wien, Austria zakupiono w ampułkach 50 mg/ml. Zastosowano KL (Ketonal Sprint) w postaci granulatu (Sandoz GmbH, Wien, Austria). Do przygotowania roztworu użyto 0,9% NaCl (B. Braun, Melsungen AG, Hessen, Niemcy). Etanol (95% v/v Spirytus) zakupiono od firmy Polmos (Lublin, Polska). 50% v/v roztwór alkoholu etylowego przygotowano z 0,9% NaCl. Dawka alkoholu miała na celu stworzenie modelu upijania się u dorosłego człowieka. Stosowane dawki K i KL odpowiadają zalecanym dawkom przeciwbólowym dla człowieka.

Doświadczenie przeprowadzono na 36 młodych, nieciążarnych samicach szczurów Wistar o masie ciała 190-205g na początku doświadczenia. Zwierzęta hodowano w Centrum Medycyny Doświadczalnej (EMC) Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (Lublin, Polska). Stado pochodziło z Charles River Laboratories (Kolonja, Niemcy). W pierwszym dniu doświadczenia szczury miały 7 tygodni. Procedury przeprowadzono zgodnie z prawem europejskim w Ośrodku Medycyny Doświadczalnej (OMD). W OMD panowały standardowe warunki laboratoryjne, wilgotność względna powietrza 55-60%, temperatura powietrza 21-22°C i 12-godzinny cykl światło/ciemność. Zwierzęta miały swobodny dostęp do wody (sterylizowanej promieniami ultrafioletowymi) i paszy dla gryzoni zakupionej od Altromin International (Lage, Niemcy). Etanol, NaCl, K i KL podawano przez zgłębnik żołądkowy. Zwierzęta podzielono losowo na grupy po 6 sztuk:

Grupie 1. w pierwszym dniu podano 50% etanol w dawce 5ml/kg m.c.

Grupie 2. w dniu 1 podano 0,9% NaCl w dawce 5ml/kg m.c.

Grupie 3. w dniu 1 podawano 0,9% NaCl (5ml/kg m.c.) i K w dawce 8mg/kg m.c. w dniach 2-6.

Grupie 4. w pierwszym dniu podano 50% etanol (5ml/kg m.c.) i K w dawce 8mg/kg m.c. w dniach 2-6.

Grupie 5. w pierwszym dniu podano 9% NaCl (5ml/kg m.c.) i KL w dawce 12,8mg/kg m.c. w dniach 2-6.

Grupie 6. w pierwszym dniu podano 50% etanol (5ml/kg m.c.) i KL w dawce 12,8mg/kg m.c. w dniach 2-6.

W dniu 7 wszystkie zwierzęta zostały dekapitowane gilotyną. Aby zapobiec możliwym interakcjom z wynikami badań laboratoryjnych i strukturą mózgu, nie stosowano żadnego środka znieczulającego. Zmierzone masę ciała i mózgu. W celu oznaczenia morfologii krwi pobrano 200 μ l krwi na EDTA. Użyliśmy automatycznego analizatora hematologicznego. Reszcie krwi pozwolono skrzepnąć. Następnie odwirowano. Badania laboratoryjne wykonano przy użyciu analizatora biochemicznego Erba Mannheim XL-60 (Mannheim, Niemcy). Mózgi wypreparowano i ważono. Do ważenia wykorzystano wagę model SBS-LW-500/10 firmy Steinberg Systems o zakresie ważenia od 0,01g do 500g (Berlin Niemcy). Mózgi ostrożnie usunięto natychmiast po dekapitacji i zanurzono w schłodzonej (2-8 °C) soli fizjologicznej w celu usunięcia krwi. Mózgi przemyto 20 μ l roztworu do wstrzykiwań. Stężenie IL-10 i IL-6 mierzono za pomocą gotowego do użycia zestawu diagnostycznego typu sandwicz enzymatyczny (ELISA) dedykowanego do tkanek szczurów (ELISA for IL-10, IL-6, Cloud - Clone Corp., Katy, Teksas, USA). Wszystkie procedury przeprowadzono zgodnie z instrukcją producenta.

Dane analizowano przy użyciu oprogramowania IBM SPSS Statistics v.25. Porównań pomiędzy grupami dokonano za pomocą testu Kruskala-Wallisa. Korelacje pomiędzy zmiennymi ilościowymi stwierdzono za pomocą współczynnika korelacji rho Spearmana. Poziom istotności wynosił $p < 0,05$.

Projekt uzyskał akceptację Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Lublinie (70/2021 wydany 8.11.2021).

WYNIKI

Średnie (\pm SD) stężenie IL-6 w mózgach wyniosło 385,6 \pm 72 pg/ml w grupie 1, 394,66 \pm 67 w grupie 2, 415,33 \pm 49,31 w 3, 362,66 \pm 73,28 w 4, 394 \pm 56,64 w 5 i 319,16 \pm 77,38 w 6. Stężenia IL-10 wynosiły: 133,2 \pm 39,75 pg/ml w grupie 1, 136,33 \pm 34,62 w grupie 2, 135,5 \pm 18,93 w grupie 3, 92,33 \pm 32,5 w grupie 4, 131,29,88 w grupie 5 i 130,5 \pm 12,2 w grupie 6. Stężenie IL-10 -10 u szczurów mózgach było niższe od stężenia IL-6 we wszystkich badanych grupach. Zastosowanie K lub KL nieznacznie obniżyło poziomy IL-6 i IL-10 u szczurów uprzednio narażonych na etanol. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupami w morfologii krwi, parametrach biochemicznych oraz w stężeniu IL-6 i IL-10 w mózgach analizowanych testem Kruskala-Wallisa (tab. 1). Istotną dodatnią korelację pomiędzy poziomem IL-6 i IL-10 w mózgach szczurów stwierdzono w teście współczynnika korelacji rzędu rang Spearmana.

Współczynniki korelacji rang Spearmana są nieparametryczną miarą zależności statystycznej między zmiennymi losowymi. Wynik jest oznaczony grecką literą rho. Przyjmuje wartości od -1 do +1. Wynik +1 oznacza, że wzrost jednej



wartości zawsze prowadzi do wzrostu drugiej. Ponieważ nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami, badając współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy wynikami uzyskanymi w badanych grupach, wprowadziliśmy wszystkie wyniki z grupy 1,2,3,4,5,6 do jednego zbioru. Oznacza to, że zbadaliśmy korelację pomiędzy IL-6 i IL-10 u wszystkich testowanych zwierząt. Uzyskany wynik nie wykazuje korelacji ani dla grupy kontrolnej, ani dla grup spożywających alkohol, ani K, ani KL. Według naszej wiedzy jest to najlepszy sposób poszukiwania korelacji pomiędzy dwoma parametrami.

Próbowaliśmy rozróżnić, czy K czy KL mają większy wpływ na IL-6 i IL-10 w mózgu szczurów. Współczynnik korelacji rang Spearmana obliczono dla grup 1,2,3,4, gdzie grupy 3 i 4 otrzymały K, a rho wyniosło 0,522; $p < 0,001$.

Oznacza to, że korelacja pomiędzy IL-6 i IL-10 w mózgu szczurów w grupach kontrolnych (traktowanych NaCl lub etanolem) i eksponowanych na K (po NaCl lub etanolu) była bardzo silna. Współczynnik korelacji rang Spearmana dla grup 1,2,5,6, w których grupy 5 i 6 otrzymały KL, wyniósł: $\rho = 0,278$; $p = 0,2$. Oznacza to mniej dodatnią korelację niż w przypadku K.

Wykryto także korelacje pomiędzy morfologią krwi a parametrami biochemicznymi (łącznie wyniki z grup 1,2,3,4,5,6). Istnieje korelacja pomiędzy poziomem IL-10 w mózgu a masą ciała ($\rho = 0,454$), IL-6 w mózgu i masą mózgu ($\rho = 0,364$), % limfocytów i albuminą surowicy ($\rho = 0,528$), stężeniem hemoglobiny i % limfocytów ($\rho = 0,46$), kreatynina w surowicy i liczba białych krwinek ($\rho = 0,34$), liczba białych krwinek i liczba płytek krwi ($\rho = 0,585$), liczba erytrocytów i stężenie hemoglobiny ($\rho = 0,768$).

Stwierdzono ujemną korelację pomiędzy stężeniem glukozy w surowicy a stężeniem IL-10 w mózgu ($\rho = -0,386$), liczbą białych krwinek i stężeniem albumin w surowicy ($\rho = -0,369$), liczbą płytek krwi i % limfocytów ($\rho = -0,354$) oraz liczbą płytek krwi vs stężenie albumin w surowicy ($\rho = -0,408$).

Tab.1

Wyniki badań laboratoryjnych. Odchylenie standardowe SD, n=6.

Średnia ± SD	Grupa 1: 50% etanol	Grupa 2: 0,9% NaCl	Grupa 3: 0,9% NaCl (dzień 1) i K (dni 2-6)	Grupa 4: 50% etanol (dzień 1) i K (dni 2-6)	Grupa 5: 0,9% NaCl (dzień 1) i KL (dni 2-6)	Grupa 6: 50% etanol (dzień 1) i KL (dni 2-6)
Masa ciała w 7. dniu [g]	215.67±21.20	207.83±12.45	213.00±16.42	195.00±7.51	210.00±20.77	210.00±17.49
Masa mózgu [g]	1.64±0.09	1.71±0.08	1.75±0.09	1.68±0.07	1.76±0.06	1,61±0.08
Stężenie IL-6 w mózgu [pg/mL]	385.6±72	394.66±67	415.33±49.31	362.66±73.28	394±56.64	319.16±77.38
Stężenie IL-10 w mózgu [pg/mL]	133.2±39.75	136.33±34.62	135.5±18.93	92.33±32.5	131.29.88	130.5±120.2
Limfocy ty [% leukocy tów]	76±5	83.16±7	54.83±8	55.83±7	67.5±5	63±8
Poziom albumin y w surowic y [g/dL]	4.27±0.07	4.48±0.55	3.85±0.66	3.64±0.26	3.72±0.67	3.89±0.28
Stężenie glukozy w surowic y [mg/dL]	93.33±0.79	101.33±0.48	101.67±2.43	107.50±1.78	95.00±1.24	113.50±1.60
Stężenie kreatyni ny w surowic y [mg/dL]	0.21±0.02	0.22±0.03	0.22±0.03	0.22±0.02	0.23±0.04	0.21±0.02
Liczba leukocyt ów [/ μ L]	8526.67±4637.	9670.00±3565.	9110.00±2019.6	12533.33±3021	11758.00±932.	11200.00±2608.
Liczba	64	55	3	.81	72	52
Liczba	7196666.67±25	7860000.00±25	6853333.33±13	7170000.00±88	6328000.00±31	6235000.00±27

erytrocyty we krwi obwodowej [/ μ L]	7940.56	3219.27	02868.63	2201.79	80073.9	84878.81
Stężenie hemoglobiny [g/dL]	15 \pm 0.79	15.87 \pm 0.48	13.70 \pm 2.43	14.30 \pm 1.78	15.54 \pm 1.24	14.78 \pm 1.60
Liczba płytek krwi [/ μ L]	987000 \pm 291.15	933500 \pm 18073	1098000 \pm 27218	1287000 \pm 8423	1141400 \pm 1999	1189333 \pm 98382
	1	7	1	0	38	

DYSKUSJA

Na podstawie kilku obserwacji podejrzewano rolę IL-6 w kontroli metabolizmu. Adipocyty osób otyłych wydzielają IL-6. Aktywność ta jest skorelowana z objętością adipocytów [26]. Dlatego też otyłość uznawano za stan przewlekłego stanu zapalnego o niewielkim nasileniu [27].

IL-6 hamuje apetyt, zwłaszcza u osób chorych na nowotwory lub choroby zapalne [28], ale nie u osób zdrowych [29]. Podwyższony poziom IL-6 koreluje ze zmęczeniem u pacjentów w podeszłym wieku [30]. Spożycie alkoholu ma szkodliwy wpływ na układ odpornościowy i wpływa na produkcję IL-1, IL-6 i innych cytokin prozapalnych [31].

Martins i wsp. porównali wpływ kodeiny, K, tramadolu i kombinacji tych leków na nasilenie bólu pooperacyjnego w modelu zwierzęcym. Naukowcy zmierzili poziom glukozy, kortyzolu i IL-6 w surowicy krwi badanych psów. Pomiarów dokonano przed operacją, a następnie 1, 2, 3, 4, 5 i 24 godziny po operacji. Wszystkie leki miały skuteczne działanie przeciwbólowe. Po K i kodeinie zaobserwowano wzrost stężenia glukozy w surowicy, ale nie zaobserwowano zmian w stężeniu IL-6 [32]. Badacze doszli do wniosku, że NLPZ niekoniecznie wpływają na stężenie cytokin prozapalnych.

Badacze doszli do wniosku, że NLPZ niekoniecznie wpływają na stężenie cytokin prozapalnych.

W naszym badaniu żadna z grup nie była istotnie otyła, jednakże najwyższe średnie stężenie glukozy miała grupa 6, a stężenie IL-6 w mózgu było w tej grupie niższe niż w grupie 1, grupie 2, grupie 3 i 4 oraz grupie 5. Zrobiliśmy to nie zauważając różnic w ilości spożywanej paszy pomiędzy badanymi grupami. Jednak alkohol dodaje dodatkowe kalorie [33]. Kuczyńska wykazała na modelu samca szczura, że KL nie ma właściwości ochronnych dla żołądka, jeśli błona śluzowa żołądka jest uszkodzona przez alkohol [34]. W praktyce lekarskiej przy stosowaniu K lub innych NLPZ stosujemy inhibitory pompy protonowej, zwłaszcza u pacjentów z czynnikami ryzyka zapalenia błony śluzowej żołądka i krwawień z przewodu pokarmowego. Naukowcy wciąż poszukują nowych substancji o możliwie najmniejszej liczbie skutków ubocznych, które skutecznie chronią błonę śluzową żołądka pacjentów leczonych NLPZ.

Arab i wsp. badali, w jaki sposób testowany flawonoid może chronić przed uszkodzeniem żołądka wywołanym przez K. Wśród obiecujących właściwości gastroprotektynnych i immunomodulujących odnotowano, że zwiększa poziom IL-10 [35].

Spożywanie alkoholu wpływa na ekspresję mózgowego czynnika neurotroficznego (BDNF) w prądkowiu, korze mózgowej i hipokampie. Przewlekłe nadużywanie alkoholu uszkadza neurony i uruchamia kaskadę procesów zapalnych w organizmie, których efektem jest apoptoza i neurodegeneracja [36]. Schunck i wsp. przeprowadzili badania na szczurach uzależnionych od alkoholu. Następnie przerwano podawanie etanolu, a badane zwierzęta były modelami odstawienia tej neurotoksyny. U tych szczurów w okresie abstynencji alkoholowej przeprowadzono test gorącej płytki. Stężenia IL-10 mierzono także w korze przedczołowej, hipokampie i pniu mózgu. Odstawienie alkoholu spowodowało znaczny wzrost poziomu IL-10 w strukturach mózgu szczurów doświadczalnych w porównaniu z grupą kontrolną. Naukowcy wykazali, że odstawienie alkoholu działa przeciwbólowo i zwiększa próg bólu. Autorzy badania sugerują, że działanie antynocyceptywne w tym przypadku wynika ze zwiększonego poziomu IL-10 w mózgu [36].

W praktyce klinicznej wyniki uzyskane na ludziach są bardziej wiarygodne niż te uzyskane w trakcie doświadczeń prowadzonych na zwierzętach. Murakami i wsp. u 46 pacjentów z alkoholową marskością wątroby zmierzono stężenie IL-6 i IL-10 w surowicy krwi. Autorzy zaobserwowali, że stężenie IL-6 było wyższe u pacjentów zmarłych w porównaniu do tych, którzy przeżyli z powodu marskości wątroby. Ich zdaniem wysokie stężenie IL-6 w surowicy w chwili przyjęcia do szpitala jest złym znakiem prognostycznym, oznaczającym wysokie ryzyko śmierci pacjenta w trakcie hospitalizacji z powodu marskości wątroby spowodowanej nadużywaniem alkoholu [37].

W badaniu Tablova i wsp. postawiono hipotezę, że K będzie zwiększać uwalnianie IL-6 i IL-10. Badanie przeprowadzono na grupie 40 pacjentek po histerektomii. Część z nich otrzymywała opioid, reszta otrzymywała K dożylnie wraz z opioidem. Stężenie IL-6 i IL-10 oznaczano w próbkach krwi pobranych trzykrotnie: przed zabiegiem, 1 dzień po zabiegu i 3 dni po zabiegu. Zaobserwowano, że poziom IL-6 wzrósł 1 dzień po operacji, a następnie 3 dni po histerektomii spadł do wartości przedoperacyjnej. Inaczej było w przypadku IL-10, gdyż poziom tej cytokiny nie zmienił się istotnie w trakcie badania. Autorzy stwierdzili, że oba rodzaje terapii przeciwbólowej w podobny sposób wpływają na odpowiedź immunologiczną po histerektomii [38].

Deksketoprofen jest enancjomerem K [39]. Piirainen i wsp. w swoim badaniu porównali deksketoprofen i etorykoksyb pod względem farmakokinetyki i farmakodynamiki. Porównali stężenia tych leków w osoczu i płynie mózgowo-rdzeniowym. Badania przeprowadzono na grupie 24 pacjentów po endoprotezoplastyce stawu biodrowego.

Połowa pacjentów otrzymywała po zabiegu deksketoprofen dożylnie jako lek przeciwbólowy. Pozostali pacjenci otrzymywali etorykoksyb doustnie. Oprócz stężeń leku oznaczono także stężenie IL-6 i IL-10 we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym. Autorzy nie odnotowali istotnych różnic pomiędzy badanymi produktami w zakresie ich wpływu na stan zapalny w okresie pooperacyjnym [40].

Al-Hakeim i wsp. w badaniu przeprowadzonym z udziałem pacjentów z depresyjnymi zaburzeniami nastroju wykazano, że leczenie sertralina i K normalizuje poziom IL-6 [41].

Nasz zespół badał wcześniej wpływ etanolu, potasu i jego soli lizyny na samce szczurów. W badaniu histopatologicznym mózgow zwierząt doświadczalnych nie stwierdzono nieprawidłowości, natomiast w badaniach biochemicznych krwi i morfologii krwi, podobnie jak w naszym badaniu [42], zaobserwowano pewne zmiany.

W naszym badaniu nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w stężeniu IL-10 w ośrodkowym układzie nerwowym pomiędzy badanymi grupami. Jednakże odstęp czasu pomiędzy zatruciem alkoholem a badaniem mózgu w naszym eksperymencie wynosił 5 dni. Zaobserwowaliśmy dodatnią korelację między poziomem IL-10 w mózgu a masą ciała oraz korelację między IL-6 w mózgu a masą mózgu. W naszym eksperymencie poziom IL-10 w mózgu korelował ze stężeniem IL-6 u wszystkich zwierząt. Ze statystycznego punktu widzenia, w celu poszukiwania korelacji pomiędzy IL-6 i IL-10 w mózgu badanych zwierząt, zdecydowano się na łączną analizę wyników tych cytokin ze wszystkich grup w teście współczynnika korelacji rang Spearmana.

Ograniczeniem w interpretacji wyników naszego badania jest to, że przeprowadzono bardzo niewiele badań w podobnym modelu zatrucia etanolem i późniejszego stosowania NLPZ, co sprawiło, że nasza dyskusja była niedoskonała. Przeszukiwanie baz danych w poszukiwaniu wyników podobnych badań pozwoliło uzyskać bardzo niewielką liczbę cytowanych powyżej badań.

WNIOSKI

KL i K mają pewien wpływ immunomodulujący na mózg.

Istnieje dodatnia korelacja pomiędzy poziomem IL-6 i IL-10 w mózgu szczurów.

Oświadczenie o konflikcie interesów: Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

LITERATURA

1. Avouac B., Teule M.1988. Ketoprofen: the European experience. *J Clin Pharmacol*, 28(s1):S2-7
2. Novelli R., Aramini A., Boccella S., Bagnasco M., Cattani F., Ferrari M.P., Goisis G., Minnella E.M., Allegretti M., Pace V.2022. Ketoprofen lysine salt has a better gastrointestinal and renal tolerability than ketoprofen acid: A comparative tolerability study in the Beagle dog. *Biomed Pharmacother*, 153:113336.
3. Brandolini L., d'Angelo M., Antonosante A., Villa S., Cristiano L., Castelli V., Benedetti E., Catanesi M., Aramini A., Luini A., Parashuraman S., Mayo E., Giordano A., Cimini A., Allegretti M.2018. Differential protein modulation by ketoprofen and ibuprofen underlines different cellular response by gastric epithelium. *J Cell Physiol*, 233(3):2304-2312.
4. Cimini A., Brandolini L., Gentile R., Cristiano L., Menghini P., Fidoamore A., Antonosante A., Benedetti E., Giordano A., Allegretti M. 2015. Gastroprotective effects of L-lysine salification of ketoprofen in ethanol-injured gastric mucosa. *J Cell Physiol*, 230(4):813-20.
5. Aramini A., Bianchini G., Lillini S., Bordignon S., Tomassetti M., Novelli R., Mattioli S., Lvova L., Paolesse R., Chierotti M.R., Allegretti M.2021. Unexpected Salt/Cocrystal Polymorphism of the Ketoprofen-Lysine System: Discovery of a New Ketoprofen-L-Lysine Salt Polymorph with Different Physicochemical and Pharmacokinetic Properties. *Pharmaceuticals (Basel)*, 14(6):555.
6. Scheller J., Chalaris A., Schmidt-Arras D., Rose-John S.2011. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. *Biochim Biophys Acta*, 1813(5):878-88.
7. Kaplanski G., Marin V., Montero-Julian F., Mantovani A., Farnarier C.2002. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol*, 24(1):25-9.
8. Romano M., Sironi M., Toniatti C., Polentarutti N., Fruscella P., Ghezzi P., Faggioni R., Luini W., van Hinsbergh V., Sozzani S., Bussolino F., Poli V., Ciliberto G., Mantovani A. 1997. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity*, 6(3):315-25.
9. Chen Q., Wang W.C., Bruce R., Li H., Schleider D.M., Mulbury M.J., Bain M.D., Wallace P.K., Baumann H., Evans S.S.2004. Central role of IL-6 receptor signal-transducing chain gp130 in activation of L-selectin adhesion by fever-range thermal stress. *Immunity*, 20(1):59-70.
10. Matthews V.B., Allen T.L., Risis S., Chan M.H., Henstridge D.C., Watson N., Zaffino L.A., Babb J.R., Boon J., Meikle P.J., Jowett J.B., Watt M.J., Jansson J.O., Bruce C.R., Febbraio M.A. 2010. Interleukin-6-deficient mice develop hepatic inflammation and systemic insulin resistance. *Diabetologia*, 53(11):2431-41.
11. Wunderlich F.T., Ströhle P., Köhner A.C., Gruber S., Tovar S., Brönneke H.S., Junnt-Berggren L., Li L.S., van Rooijen N., Libert C., Berggren P.O., Brüning J.C.2010. Interleukin-6 signaling in liver-parenchymal cells suppresses hepatic inflammation and improves systemic insulin action. *Cell Metab*, 12(3):237-49.
12. Nishimoto N., Kanakura Y., Aozasa K., Johkoh T., Nakamura M., Nakano S., Nakano N., Ikeda Y., Sasaki T., Nishioka K., Hara M., Taguchi H., Kimura Y., Kato Y., Asaoku H., Kumagai S., Kodama F., Nakahara H., Hagihara K., Yoshizaki K., Kishimoto T.2005. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. *Blood*, 106(8):2627-32.
13. Peters M., Schirmacher P., Goldschmidt J., Odenthal M., Peschel C., Fattori E., Ciliberto G., Dienes H.P., Meyer zum Büschenfelde K.H., Rose-John S. 1997. Extramedullary expansion of hematopoietic progenitor cells in interleukin (IL)-6-sIL-6R double transgenic mice. *J Exp Med*, 185(4):755-66.
14. Febbraio M.A., Rose-John S., Pedersen B.K.2010. Is interleukin-6 receptor blockade the Holy Grail for inflammatory diseases? *Clin Pharmacol Ther*, 87(4):396-8.
15. Obreja O., Schmelz M., Poole S., Kress M.2002. Interleukin-6 in combination with its soluble IL-6 receptor sensitises rat skin nociceptors to heat, in vivo. *Pain*, 96(1-2):57-62.
16. Murphy P.G., Ramer M.S., Borthwick L., Gaudie J., Richardson P.M., Bisby M.A. Endogenous interleukin-6 contributes to hypersensitivity to cutaneous stimuli and changes in neuropeptides associated with chronic nerve constriction in mice. *Eur J Neurosci*, 11(7):2243-53.
17. Sheppard M., Laskou F., Stapleton P.P., Hadavi S., Dasgupta B.2017. Tocilizumab (Actemra). *Hum Vaccin Immunother*, 13(9):1972-1988.
18. Mollazadeh H., Cicero A.F.G., Blesso C.N., Pirro M., Majeed M., Sahebkar A.2019. Immune modulation by curcumin: The role of interleukin-10. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 59(1):89-101.

19. Saraiva M., Vieira P., O'Garra A.2020. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J Exp Med*,217(1):e20190418.
20. Kelley K.W., Dantzer R.2011. Alcoholism and inflammation: neuroimmunology of behavioral and mood disorders. *Brain Behav Immun*,25 Suppl 1(0 1):S13-20.
21. Aalykke C., Lauritsen K.2001. Epidemiology of NSAID-related gastroduodenal mucosal injury. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*,15(5):705-22.
22. Smaga A., Bogusławski S., Wróbel K., Wojtyński B.2022. Rozpowszechnienie behawioralnych czynników ryzyka zdrowotnego i jego zmiany w okresie pandemii COVID-19. In: Wojtyński B., Goryński P. Eds. Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania 2022. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH— Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa 2022 (In Polish).
23. Barbería-Latasa M., Gea A., Martínez-González M.A.2022. Alcohol, Drinking Pattern, and Chronic Disease. *Nutrients*,14(9):1954.
24. Aziz F., Chakraborty A., Liu K., Zhang T., Li X., Du R., Monts J., Xu G., Li Y., Bai R., Dong Z.2022. Gastric tumorigenesis induced by combining *Helicobacter pylori* infection and chronic alcohol through IL-10 inhibition. *Carcinogenesis*,43(2):126-139.
25. Aramini A., Bianchini G., Lillini S., Tomassetti M., Pacchiarotti N., Canestrari D., Cocchiari P., Novelli R., Dragani M.C., Palmerio F., Mattioli S., Bordignon S., d'Angelo M., Castelli V., d'Egidio F., Maione S., Luongo L., Boccella S., Cimini A., Brandolini L., Chierotti M.R., Allegretti M.2023. Ketoprofen, lysine and gabapentin co-crystal magnifies synergistic efficacy and tolerability of the constituent drugs: Pre-clinical evidences towards an innovative therapeutic approach for neuroinflammatory pain. *Biomed Pharmacother*,163:114845.
26. Skurk T., Alberti-Huber C., Herder C., Hauner H.2007. Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *J Clin Endocrinol Metab*,92(3):1023-33.
27. Hotamisligil G.S. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*,444(7121):860-7.
28. Anesten F., Dalmau Gasull A., Richard J.E., Farkas I., Mishra D., Taing L., Zhang F., Poutanen M., Palsdottir V., Liposits Z., Skibicka K.P., Jansson J.O.2019. Interleukin-6 in the central amygdala is bioactive and co-localised with glucagon-like peptide-1 receptor. *J Neuroendocrinol*,31(6):e12722.
29. Bornath D.P.D., McKie G.L., McCarthy S.F., Vanderheyden L.W., Howe G.J., Medeiros P.J., Hazell T.J.2023. Interleukin-6 is not involved in appetite regulation following moderate-intensity exercise in males with normal weight and obesity. *Obesity (Silver Spring)*,31(9):2315-2324.
30. Roleder N., Aringer M., Boentert M.2012. Role of interleukin-6 in stress, sleep, and fatigue. *Ann N Y Acad Sci*,1261:88-96.
31. Martinez F., Abril E.R., Earnest D.L., Watson R.R. 1992. Ethanol and cytokine secretion. *Alcohol*, 9(6):455-8.
32. Martins T.L., Kahvejian M.A., Noel-Morgan J., Leon-Román M.A., Otsuki D.A., Fantoni D.T.2010. Comparison of the effects of tramadol, codeine, and ketoprofen alone or in combination on postoperative pain and on concentrations of blood glucose, serum cortisol, and serum interleukin-6 in dogs undergoing maxillectomy or mandibulectomy. *Am J Vet Res*,71(9):1019-26.
33. Caton S.J., Nolan L.J., Hetherington M.M.2015. Alcohol, Appetite and Loss of Restraint. *Curr Obes Rep*,4(1):99-105.
34. Kuczyńska J., Nieradko-Iwanicka B.2021. The effect of ketoprofen lysine salt on mucosa of rat stomach after ethyl alcohol intoxication. *Biomed Pharmacother*,141:111938.
35. Arab H.H., Saad M.A., El-Sahar A.E., Al-Shorbagy M.Y.2020. Mechanistic perspective of morin protection against ketoprofen-induced gastric mucosal injury: Targeting HMGB1/RAGE/NF-κB, DJ-1/Nrf2/HO-1 and PI3K/mTOR pathways. *Arch Biochem Biophys*,693:108552.
36. Schunck R.V., Torres I.L., Laste G., de Souza A., Macedo I.C., Valle M.T., Salomón J.L., Moreira S., Kuo J., Arbo M.D., Dallegrave E., Leal M.B.2015. Protracted alcohol abstinence induces analgesia in rats: Possible relationships with BDNF and interleukin-10. *Pharmacol Biochem Behav*,135:64-9.
37. Murakami S., Imamura M., Uchida T., Suehiro Y., Namba M., Fujii Y., Uchikawa S., Teraoka Y., Fujino H., Ono A., Nakahara T., Murakami E., Okamoto W., Yamauchi M., Kawaoka T., Miki D., Hayes N.C., Tsuge M., Aikata H., Ohira M., Ohdan H., Oka S.2023. Serum interleukin-6 level predicts the prognosis for patients with alcohol-related acute-on-chronic liver failure. *Hepatol Int*,17(5):1225-1232.
38. Tablov B., Stavreva S., Tablov V., Popov I., Konova E.2007. [Immunological aspects of postoperative analgesia after abdominal hysterectomy]. *Akush Ginekol (Sofia)*46(1):18-24.
39. Kuczyńska J., Pawlak A., Nieradko-Iwanicka B.2022. The comparison of dexketoprofen and other painkilling medications (review from 2018 to 2021). *Biomed Pharmacother*, 149:112819.
40. Piirainen A., Kokki M., Hautajärvi H., Lehtonen M., Miettinen H., Pulkki K., Ranta V.P., Kokki H.2016. The Cerebrospinal Fluid Distribution of Postoperatively Administered Dexketoprofen and Etoricoxib and Their Effect on Pain and Inflammatory Markers in Patients Undergoing Hip Arthroplasty. *Clin Drug Investig*,36(7):545-55.
41. Al-Hakeim H.K., Twayej A.J., Al-Dujaili A.H., Maes M.2020. Plasma indoleamine-2,3-dioxygenase (ido) is increased in drug-naïve major depressed patients and treatment with sertraline and ketoprofen normalizes ido in association with pro-inflammatory and immune-regulatory cytokines. *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets*,19(1):44-54.
42. Kuczyńska J., Nieradko-Iwanicka B. 2023. Comparison of the effects of ketoprofen and ketoprofen lysine salt on the Wistar rats' nervous system, kidneys and liver after ethyl alcohol intoxication. *Biomed Pharmacother*,161:114456.

Barbara Nieradko-Iwanicka

Zakład Higieny i Epidemiologii Uniwersytet Medyczny w Lublinie
ul Chodźki 7, 20-093 Lublin
e-mail: barbara.nieradko-iwanicka@umlub.pl

