

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของยา Montelukast-I (Innovator) และ Montelukast-L (Local) ต่อการยับยั้งการสร้าง Cysteinyl leukotriene ในเซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3)

เพาพางา มณฑนะพิศุทธิ์*, นภาพร พัฒนาเจริญชัย*, สิทธิชัย ขุนทองแก้ว*, อรพรรณ โพชนุกูล**

บทคัดย่อ

บทนำ:	Montelukast เป็นยาใช้ในโรคหืด (asthma) ที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เนื่องจากได้มีการผลิตยานี้ในประเทศไทยจึงเป็นที่น่าสนใจว่ายาที่ผลิตดังกล่าวมีคุณสมบัติแตกต่างจากยาที่ผลิตจากต่างประเทศหรือไม่
วัตถุประสงค์:	เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผล montelukast-I (Innovator) และ montelukast-L (Local) ต่อการยับยั้ง cysteinyl leukotriene (CysLT) ในเซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3)
วิธีการทดลอง:	ศึกษาผลของ montelukast-I และ montelukast-L ต่อ cell viability ของเซลล์มาสต์ด้วยวิธี MTT assay จากนั้นศึกษาผลของ montelukast-I และ montelukast-L ต่อการยับยั้ง CysLT โดยให้เซลล์มาสต์ (1×10^5 cell/ml) ทำปฏิกิริยากับสารละลายยาที่มีความเข้มข้น 0, 5, 10, 50 และ 100 μM เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนกระตุ้นเซลล์ด้วย anti-dinitrophenyl (DNP)-specific IgE เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการวัด CysLT ใน conditioned media โดยใช้ Amersham leukotriene enzyme immunoassay kit
ผลการทดลอง:	montelukast-I และ montelukast-L ที่ความเข้มข้น 5, 25, 50 μM ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์และยาทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้น 5-100 μM มีผลลดระดับ CysLT เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบผลในการยับยั้ง CysLT ระหว่างยาทั้งสองชนิดพบว่า montelukast-I ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 μM ให้ผลลด CysLT ได้มากกว่า montelukast-L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
สรุปผลการทดลอง:	ยา montelukast-I ที่ความเข้มข้น 5-100 μM สามารถยับยั้งการสร้าง CysLT ได้มากกว่า montelukast-L จากเซลล์มาสต์หนู
คำสำคัญ:	Asthma, Montelukast-I (Innovator), Montelukast-L (Local), Cysteinyl leukotriene, เซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3)

* คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

** โครงการจัดตั้งภาควิชาภูมิคุ้มกันเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สถานที่ติดต่อผู้เขียน: นางสาวเพาพางา มณฑนะพิศุทธิ์ ห้องปฏิบัติการวิจัย ชั้น 3 คณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ศูนย์รังสิต)
โทรศัพท์ 02-556-5201 ต่อ ๗๑๒๗-๘ มือถือ ๐๘๕-๕๒๐-๖๘๕๗
E-mail: paopangam@yahoo.com

บทนำ

โรคหืด (asthma) เป็นโรคที่มีการอักเสบเรื้อรังของหลอดลม ทำให้เยื่อผนังหลอดลมหนา กล้ามเนื้อหลอดลมหดเกร็ง มีผลทำให้ผู้ป่วยมีอาการแน่นหน้าอก หายใจมีเสียงหวีด และหอบเหนื่อย จากการรายงานตรวจพบว่าคนไทยเป็นโรคหืดเพิ่มขึ้นในปี ค.ศ. ๑๙๙๕ จากร้อยละ ๑๒.๒ เป็นร้อยละ ๑๔.๕^๑ โรคนี้เกิดจากเซลล์เม็ดเลือดขาวถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน โดยกระตุ้นผ่าน 5-lipoxygenase pathway ภายในเซลล์ เกิดการเพิ่มของ intracellular Ca^{2+} activate cytosolic phospholipase A_2 (cPLA₂) ซึ่งได้รับการกระตุ้นจาก 5-lipoxygenase activate protein (FLAP) ทำให้สร้าง arachidonic acid จาก perinuclear membrane phospholipid 5-lipoxygenase (5-LO) มีผลทำให้เปลี่ยน arachidonic acid เป็น 5 hydroxy-eicosatetraenoic (5-HOETE) และ leukotriene A₄ (LTA₄) ซึ่งไม่มีความเสถียรและเป็นสารตั้งต้นของ leukotriene สองกลุ่มหลักคือ LTB₄ และ cysteinyl leukotrienes (cys-LTs) โดย cys-LTs จะถูกสร้างจาก LTC₄ synthase ซึ่งเป็น integral nuclear membrane protein ที่พบในเซลล์ที่เป็น hematopoietic origin โดยเฉพาะ eosinophil, basophil, mast cell, macrophage/monocyte และ platelets^{๒-๔} montelukast-I (Singulair) ถูกใช้เพื่อรักษาโรคหืดและพองจมูกอักเสบภูมิแพ้ โดยยานี้จะทำปฏิกิริยากับ leukotriene receptor และมีผลยับยั้งการสร้าง cysteinyl leukotrienes^๕ นอกจากนี้ยังมียาในกลุ่ม inhaled corticosteroids (ICSs) ซึ่งใช้ในการรักษาโรคหืดเป็นระยะเวลานานในผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่^๖ และมีประสิทธิผลในการรักษาโรคหืดดีกว่ายา montelukast^๗ แต่การใช้ยา montelukast ยังมีความจำเป็นในการช่วยเสริมการรักษาโรคดังกล่าวและเป็นยาที่นิยมใช้มากในผู้ป่วยเด็กเพราะเป็นยาชนิดรับประทาน

ปัจจุบันมีการผลิตยา montelukast-L ในประเทศไทย ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของยาที่ผลิตภายในประเทศกับยาที่สั่งนำเข้าจากต่างประเทศต่อการยับยั้ง mediator ที่มีความสำคัญในกระบวนการเกิดโรคหืด โดยการวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลที่เกิดต่อการยับยั้งการสร้าง CysLT

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษา montelukast-I (Innovator) และ montelukast-L (Local) ต่อการยับยั้งการสร้าง cysteinyl

leukotriene (CysLT) ในเซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3)

วัสดุและวิธีการ

๑. การทดสอบความเป็นพิษของยา montelukast-I และ montelukast-L ต่อเซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3) ด้วยวิธี MTT^๘

ทำการเลี้ยงเซลล์จนกระทั่งเซลล์เจริญ ๘๐% confluence ด้วยอาหาร Minimum essential medium (MEM) (Gibco-RBL, Life Technologies, NY) ที่มี ๑๐% Fetal bovine serum (FBS) (Hyclone, Thermo Fisher Scientific Inc., US), ๑๐๐ u penicillin-streptomycin (PAA, Laboratories GmbH, Austria) และ ๒.๕ µg/ml amphotericin B (PAA, Laboratories GmbH, Austria) ทำการ Sub-culture ด้วย ๐.๒๕% Trypsin- EDTA (Gibco-RBL, Life Technologies, NY) นับเซลล์และปรับความเข้มข้นให้ได้ 5.0×10^4 cell/ml ดูดเซลล์ ๒๐๐ µl/well ลง ๙๖ well microplate เพาะเลี้ยงเซลล์ในตู้เลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส, ๕% CO₂ เป็นเวลา ๑ วัน เพื่อให้เซลล์อยู่ในระยะ exponential phase ดูดอาหารเลี้ยงเซลล์ในทุก well ที่เติม ๒๐๐ µl MEM ที่มี ๑๐% FBS และ antibiotics ลงใน column ที่ ๑ (control) เติมน้ำ ๒๐๐ µl สารละลายยา montelukast-I และ montelukast-L ที่ความเข้มข้น ๐, ๕, ๒๕, ๕๐, ๑๐๐ และ ๑๕๐ µM ทำการบ่มในตู้เลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส, ๕% CO₂ เป็นเวลา ๓ วัน จากนั้น centrifuge ที่ความเร็ว ๒๐๐ g เป็นเวลา ๕ นาที ทำการดูดอาหารเลี้ยงเซลล์เก่าทิ้ง เติมน้ำ ๑๕๐ µl/well MEM ที่มี ๑๐% FBS และ antibiotics และเติมน้ำ ๕๐ µl/well MTT solution (๒ mg/ml) ห่อ plate ด้วย aluminum foil และบ่มเป็นเวลา ๔-๘ ชั่วโมง ดูดสารละลายทิ้งแล้วละลายผลึก MTT-formazan crystal ด้วย ๒๐๐ µl/well DMSO และเติมน้ำ ๒๕ µl Sorensen's glycine buffer ทำการวัด absorbance ที่ ๕๗๐ nm ทันที แล้วคำนวณ % PG = $100 \times (OD_{\text{test}} / OD_{\text{control}})$

๒. การทดสอบยา Montelukast-I และ Montelukast-L ในการยับยั้งการสร้าง CysLT ในเซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3) ที่ถูกกระตุ้นด้วย anti-dinitrophenyl (DNP)-specific IgE

ทำการเลี้ยงเซลล์มาสต์ จำนวน 1×10^5 cell/well ลงใน ๖ well plate ด้วยอาหาร MEM ที่มี ๑๐%

FBS, ๑๐๐ u penicillin-streptomycin และ ๒.๕ µg/ml amphotericin B ที่อุณหภูมิ ๓๗ องศาเซลเซียส, ๕% CO₂ เป็นเวลา ๒๔ ชั่วโมง จากนั้นเติม ๐.๔๕ µg/ml anti-dinitrophenyl (DNP)-specific IgE (Sigma, St. Louis, MO) บ่มเป็นเวลา ๑๖ ชั่วโมง เติมน้ำละลายยา montelukast-I และ montelukast-L ที่ความเข้มข้น ๐, ๕, ๑๐, ๕๐, ๑๕๐ µM บ่มเป็นเวลา ๑ ชั่วโมง และกระตุ้นเซลล์ด้วย DNP-BSA (Sigma, St. Louis, MO) เป็นเวลา ๓๐ นาที เก็บ condition media เพื่อตรวจวัดปริมาณ CysLT ด้วย Amersham leukotriene C4/D4/B4 Biotrack Enzyme Immunoassay system kit[®]

๓. การทดสอบสถิติ

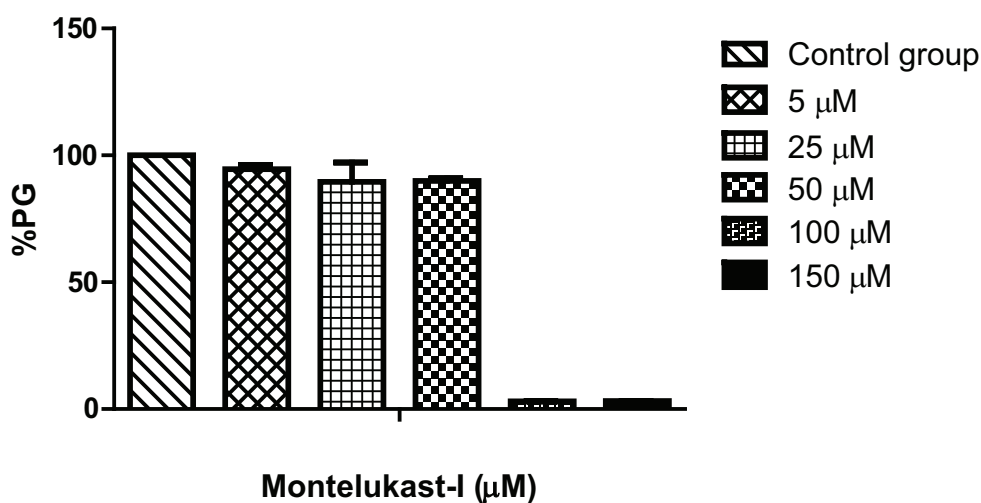
ในการวิจัยนี้ได้ทำการทดลองอย่างน้อย ๓ ครั้ง และแสดงค่าเป็น mean ± SE ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของยาต่อการคัดหลั่ง CysLT โดย one-way ANOVA

และ Bonferroni's test โดยมีระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $\alpha = 0.05$

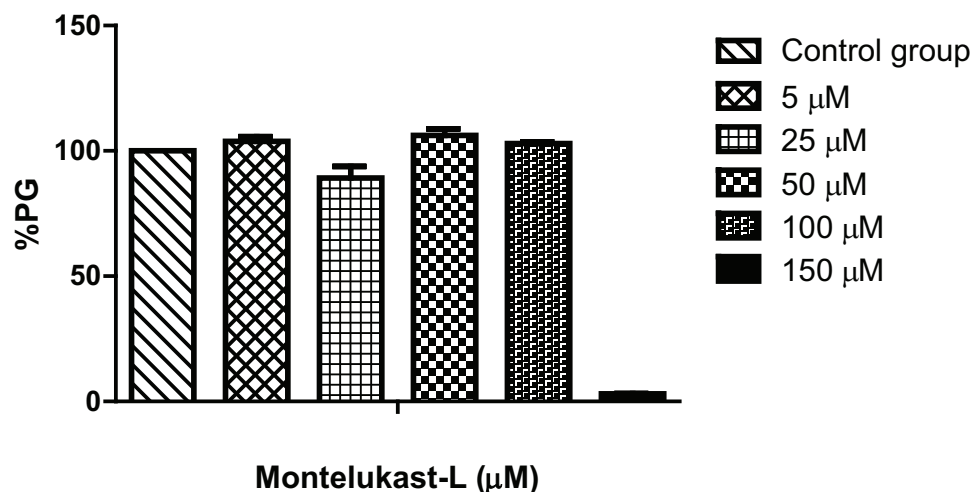
ผลการทดลอง

๑. ผลการทดสอบของยา Montelukast-I และ Montelukast-L และต่อความเป็นพิษในเซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3)

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของยา montelukast-I และ montelukast-L พบว่า ยาที่มีความเข้มข้น ๕, ๒๕ และ ๕๐ µM ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ RBL-2H3 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยพิจารณาจากร้อยละการเจริญเติบโตของเซลล์ซึ่งมีค่ามากกว่า ๘๐ (รูปที่ ๑ และ ๒) ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปในการวิจัยนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของยาที่ระดับดังกล่าวเพื่อศึกษาผลยับยั้งการคัดหลั่งสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับโรคหืด



รูปที่ ๑ ผลของ montelukast-I ต่อการเจริญเติบโต (% PG) ของ RBL-2H3 ที่ทำปฏิกิริยากับยา montelukast-I เป็นเวลา ๓ วันโดยวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay และแสดงค่าร้อยละการเจริญเติบโตเป็น mean ± SE ของการทดลอง ๓ ครั้ง



รูปที่ ๒ ผลของ montelukast-L ต่อการเจริญเติบโต (% PG) ของ RBL-2H3 ที่ทำปฏิกิริยากับยา montelukast-L เป็นเวลา ๓ วันโดยวัดความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี MTT assay และแสดงค่าร้อยละการเจริญเติบโตเป็น mean $\pm$ SE ของการทดลอง ๓ ครั้ง

๒. ผลของยา Montelukast-I และ Montelukast-L ต่อการยับยั้งการสร้าง CysLT ในเซลล์มาสต์หนู (RBL-2H3)

ผลของยา montelukast-I และ montelukast-L ต่อการยับยั้งการหลั่ง CysLT จากเซลล์มาสต์หนูที่ถูกกระตุ้น ด้วย anti-dinitrophenyl (DNP-BSA)-specific IgE เป็นเวลา ๓๐ นาที พบว่ายา montelukast-I

และ montelukast-L ที่ความเข้มข้น ๕-๑๕ μ M สามารถลดระดับ CysLT จากเซลล์มาสต์หนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่า $p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ ๑) อย่างไรก็ตามพบว่ายา montelukast-I ที่ความเข้มข้น ๕-๑๐ μ M ให้ผลลดระดับ CysLT ได้มากกว่า montelukast-L อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่า $p < 0.05$)

ตารางที่ ๑ ผลของ Montelukast-I และ Montelukast-L ต่อปริมาณ CysLT (mean $\pm$ SE, pg) ที่สร้างโดย RBL-2H3

Doses	Control	Ag Stimulation (Mean $\pm$ SD, pg)	Mon-I (Mean $\pm$ SD, pg)	Mon-L (Mean $\pm$ SD, pg)
0 μ M	0	29.3 (3.8)		
5 μ M	0	29.3 (3.8)	1.38 (0.006)*	1.80 (0.002)
10 μ M	0	29.3 (3.8)	1.49 (0.009)*	1.65 (0.023)
50 μ M	0	29.3 (3.8)	1.07 (0.008)	0.98 (0.02)
75 μ M	0	29.3 (3.8)	0.39 (0.023)	0.43 (0.10)

*ค่า $p \leq 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบระดับ CysLT ระหว่างกลุ่ม montelukast-I และ montelukast-L

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองครั้งนี้พบว่าการใช้ยา montelukast-I ที่นำเข้าจากต่างประเทศที่ความเข้มข้นต่ำ ๕-๑๐ μM จะลดการสร้าง CysLT ในเซลล์มาสต์หนูได้ดีกว่า montelukast-L ที่ผลิตในประเทศ โดยกลไกการทำงานของยา montelukast จะไปขัดขวางการทำงานของ Leukotriene C4/D4/E4 กับ leukotriene receptor (CysLT1) ที่อยู่บนเยื่อเซลล์ (cell membrane) ยับยั้งการสร้าง CysLT จากการศึกษาทาง Pharmacokinetics (PK) ของยา montelukast (๑๐ มก./เม็ด) โดยการให้รับประทานในอาสาสมัครผู้ชาย (อายุ ๒๑-๓๗ ปี) พบว่ามีค่า Area under the plasma concentration-time profile (AUC) เท่ากับ $4.01 \pm 0.72 \mu\text{M/hr}$ ส่วนการศึกษาในผู้หญิงอายุ ๑๕-๓๕ ปี พบว่ามีค่า AUC เท่ากับ $3.7 \pm 0.51 \mu\text{M/hr}$ ซึ่งมีปริมาณต่ำ ดังนั้นการพิจารณาประสิทธิภาพของยา montelukast จึงน่าจะพิจารณาความเข้มข้นต่ำๆ^{๑๑} นอกจากนี้การศึกษา pharmacokinetics ของยา montelukast (๗ มก./เม็ด) แก่ผู้ป่วยโรคหืดเรื้อรังพบว่าไม่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยไม่แตกต่างการให้ยา montelukast (๑๔ มก./เม็ด)^{๑๒}

ยา Inhaled glucocorticosteroid (ICS) เป็นยาที่มีประสิทธิภาพสูงในการรักษาโรคหืดเรื้อรัง แต่เนื่องจากต้องบริหารยาโดยวิธีพ่นสูดและอาจมีผลข้างเคียงของยาได้ถ้าใช้ยาเกินขนาด ทำให้มีการใช้ยา montelukast ในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคหืดมากขึ้นและให้ผลดีโดยเฉพาะในเด็กโดยวิธีบริหารยาคือรับประทานเพียงวันละครั้ง^{๑๓} ทั้งนี้ยา montelukast ถูกดูดซึมได้ง่าย ออกฤทธิ์ได้ดี และสามารถถูกกำจัดได้ในน้ำดี^{๑๔} นอกจากนี้ข้อดีของยา montelukast ยังให้ผลดีต่อการรักษาอาการไอ cough variant asthma (CVA) ในผู้ป่วยที่มีอาการไอเรื้อรัง chronic cough^{๑๕} และสามารถลด portal hypertension ในหนูได้ซึ่งอาจเป็นประโยชน์นำมาใช้ในคนได้ในอนาคต^{๑๖} จากการรายงาน^{๑๗-๑๘} พบว่ายา montelukast / cromolyn และยา montelukast / beclomethasone เป็นยาที่มีประสิทธิภาพและเป็นที่ยอมรับมากกว่าให้ยาโดยทางหายใจ เช่น ยา cromolyn หรือ beclomethasone การศึกษา^{๑๙-๒๐} รายงานว่ายา montelukast ที่ใช้รับประทานและยา ICS โดยให้ทางหายใจนั้นให้ผลที่มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันในการศึกษาเด็กอายุ ๒-๕ ปี และอายุ ๖-๑๕ ปี

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ยา montelukast-I และ montelukast-L ที่ความเข้มข้น ๕, ๒๕, ๕๐ μM ไม่ก่อให้เกิดความเป็นอันตรายและเป็นพิษต่อเซลล์มาสต์หนู และยา montelukast-I ที่ความเข้มข้น ๕-๑๐ μM สามารถยับยั้งการหลั่ง CysLT จากเซลล์มาสต์หนูเมื่อเปรียบเทียบกับยา montelukast-L ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ค่า $p < 0.05$)

เอกสารอ้างอิง

- Bunnag C, Jareoncharsri P, Tantilipikorn P, Vichyanond P, Pawankar R. Epidemiology and current status of allergic rhinitis and asthma in Thailand ARIA Asia-Pacific Workshop report. Asian Pac J Allergy Immunol 2009;27:79-86.
- Sampson AP. Leukotriene generation. Clin Exp Allergy Reviews 2001;1:196-201.
- Drazen JM, Israel E, O'Byrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. N Engl J Med 1999;340:197-206.
- Lam YK, Boyce J, Austen KF. Cysteinyl leukotrienes: biosynthesis and receptors. Clin Exp All Rev 2004;4:89-95.
- Leff AR. Regulation of leukotrienes in the management of asthma: biology and clinical therapy. Annu Rev Med 2001;52:1-14.
- Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, et al. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. Eur Respir J 2008;31:143-78.
- Knorr B, Franchi LM, Bisgaard H, Vermeulen JH, LeSouef P, Santanello N, et al. Montelukast, a leukotriene receptor antagonist, for the treatment of persistent asthma in children aged 2 to 5 years. Pediatrics 2001;108:E48.
- Jartti T. Inhaled corticosteroids or montelukast as the preferred primary long-term treatment for pediatric asthma? Eur J Pediatr 2008;167:731-6.

๕. Freshney RL. Culture of Aminmal Cell, 3 rd ed, 1994.
๑๐. Ameraham Leukotriene C4/D4/E4 Biotrak Enzymeimmunoassay (EIA) system 96 well Product Booklet Code : RPN224, Healthcare UK Limited.
๑๑. Cheng H, Leff JA, Amin R, Gertz BJ, De Smet M, Noonan N, et al. Pharmacokinetics, bio-availability, and safety of montelukast sodium (MK-0476) in healthy males and females. *Pharm Res* 1996;13:445-8.
๑๒. Camargo CA, Jr., Smithline HA, Malice MP, Green SA, Reiss TF. A randomized controlled trial of intravenous montelukast in acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:528-33.
๑๓. Wahn U, Dass SB. Review of recent results of montelukast use as a monotherapy in children with mild asthma. *Clin Ther* 2008;30:1026-35.
๑๔. Balani SK, Xu X, Pratha V, Koss MA, Amin RD, Dufresne C, et al. Metabolic profiles of montelukast sodium (Singulair), a potent cysteinyl leukotriene₁ receptor antagonist, in human plasma and bile. *Drug Metab Dispos* 1997;25:1282-7.
๑๕. Kita T, Fujimura M, Ogawa H, Nakatsumi Y, Nomura S, Ishiura Y, Myou S, Nakao S. Antitussive effects of the leukotriene receptor antagonist montelukast in patients with cough variant asthma and atopic cough. *Allerg Int* 2010;59:185-92.
๑๖. Christian J, Bilzer M, Winel M, Pfeiler S, Harmann AC, Hennenberg M, Goke B, Gerbes AL. Treatment with the leukotriene inhibitoe montelukast for 10 days attenuates portal hypertension in rat liver cirrhosis. *J Heratology* 2010;51:2086-96.
๑๗. Bukstein DA, Bratton DL, Firriolo KM, et al. Evaluation of parental preference for the treatment of asthmatic children aged 6 to 10 years with oral montelukast or inhaled cromolyn: A randomized, open-label, crossover study. *J Asthma* 2003;4:475-85.
๑๘. Maspero JF, Duenas-Meza E, Volovitz B, et al. Oral montelukast versus inhaled beclomethasone in 6- to 11-year-old children with asthma: results of an open-label extension study evaluating long-term safety, satisfaction, and adherence with therapy. *Curr Med Res Opin* 2000;17:96-104.
๑๙. Davies GM, Santanello NC, Knorr BA, Bratton DL. The effect of montelukast versus usual care on health care resource utilization in children aged 2 to 5 years with asthma. *Clin Ther* 2004;26:1895-904.
๒๐. Bukstein DA, Luskin AT, Bernstein A. "Real-world" effectiveness of daily controller medicine in children with mild persistent asthma. *Ann Allerg, Asthma Immunol* 2003;9:543-9.

Abstract

The inhibitory effects of the Montelukast-I (Innovator) and Montelukast-L (Local) on the cysteinyl leukotriene production from rat mast cells (RBL-2H3)

Paopanga Monthanapisut*, Napaporn Pattanacharoenchai*,

Sittichai Koontongkaew*, Orapan Poachanukoon**

* Faculty of Dentistry, Thammasat University

** Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Thammasat University

- Introduction:** Montelukast has been used for asthma treatment. Recently, montelukast-L is produced locally in Thailand. Therefore, it is important to determine the efficacy of the local drug in terms of mediator inhibition.
- Objective:** Effects of montelukast-I and montelukast-L on cysteinyl leukotriene (CysLT) production were investigated.
- Materials and Methods:** The cytotoxicity of montelukast-I and montelukast-L on RBL-2H3 cells was determined using MTT assay. To compare the pharmacological properties between montelukast-I and montelukast-L, effects of two drugs on rat mast cells (RBL-2H3) cells was monitored by measuring the CysLT released. RBL-2H3 cells were sensitized with anti-dinitrophenyl (DNP)-specific IgE for 30 min. Then, cells were treated with the test drugs at the concentrations of 0, 5, 10, 50 and 75 μ M for 1 h, followed by the addition of DNP-BSA (10 μ g/ml) for 30 min. The total CysLT released in condition media was determined using a leukotriene enzyme immunoassay kit (Amersham).
- Results:** There was no any cytotoxicity when mast cells were treated with montelukast-I or montelukast-L (5-50 μ M). Both drugs could significantly inhibit the release of CysLT compared to that of the control. There was no statistically significant difference between montelukast-I and montelukast-L (25-50 μ M) in CysLT inhibition. However, montelukast-I at 5-10 μ M obviously suppressed CysLT released from mast cells compared to that of montelukast-L.
- Conclusion:** Our findings suggest that montelukast-I at low concentrations have a high potential for inhibition of CysLT released from mast cells.
- Key words:** Asthma, Montelukast-I (Innovator), Montelukast-L (Local), Cysteinyl leukotriene, rat mast cells (RBL-2H3)