

Ф.В. Гладких

НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ

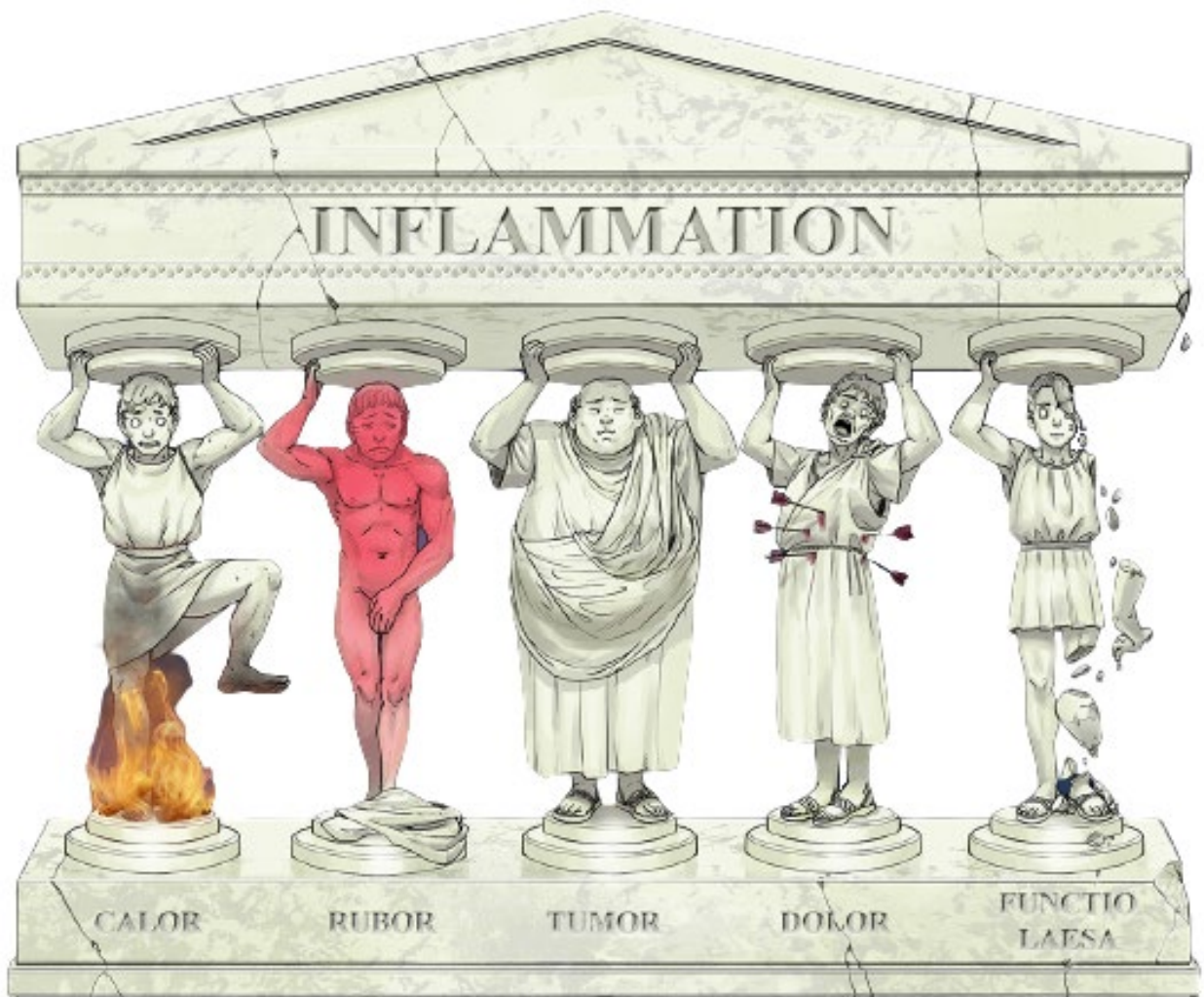
терапевтичні
та небажані ефекти,
шляхи їх оптимізації

МОНОГРАФІЯ

Ф. В. Гладких

НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ: ТЕРАПЕВТИЧНІ ТА НЕБАЖАНІ ЕФЕКТИ, ШЛЯХИ ЇХ ОПТИМІЗАЦІЇ

МОНОГРАФІЯ



Вінниця
2022

УДК: 615.212.03.065
DOI: 10.46879/2022.1
Г 52

Рецензенти:

Хайтович М. В. – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця;
Носівець Д. С. – доктор медичних наук, професор кафедри загальної медицини з курсом фізичної терапії факультету медичних технологій діагностики та реабілітації Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара;
Коморовський Р. Р. – доктор медичних наук, професор кафедри внутрішньої медицини № 2 Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

Г 52 **Гладких Ф. В.**
Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. Вінниця: ТВОРИ, 2022. – 216 с.

Г 52 **Hladkykh F. V.**
Non-steroidal anti-inflammatory drugs: ways to optimize therapeutic and side effects. Vinnytsia: TVORY, 2022. – 216 p.

ISBN 978-617-552-015-4

DOI: 10.46879/2022.1

Монографію присвячено експериментальному обґрунтуванню інноваційного підходу до вирішення актуальної проблеми сучасної медицини – оптимізації фармакологічних ефектів нестероїдних протизапальних засобів шляхом їх комбінованого застосування з препаратами, яким притаманні поліфункціональні властивості. Наведено узагальнення результатів власних досліджень ефективності використання кріоконсервованого екстракту плаценти та вінборону з метою послаблення ульцерогенної дії нестероїдних протизапальних засобів. Представлено нові дані щодо посилення терапевтичної ефективності на тлі комбінованого застосування нестероїдних протизапальних засобів та препаратів з політропними фармакологічними властивостями.

Монографія буде корисною для широкого кола лікарів-клініцистів, фармакологів, біохіміків, патофізіологів, а також здобувачів закладів вищої освіти медичного, фармацевтичного та біологічного профілів.

Таблиць – 43, рисунків – 55, бібліографія – 268 посилань.

The monograph is focused on the accumulated experimental data regarding the innovative approach to optimization the pharmacological effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by means of their combined use with drugs that have multifunctional properties. The results of our own research on the effectiveness of the use of cryopreserved placenta extract and vinboron to reduce the ulcerogenic effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs are summarized. New data on enhancement of therapeutic efficacy via the combined use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and drugs with pleiotropic pharmacological properties are presented.

The monograph will be useful for a wide range of clinicians, pharmacologists, biochemists, pathophysiologicals, as well as for medical, pharmacy and biology students.

Tables – 43, figures – 55, bibliography – 268 references.

УДК: 615.212.03.065

ISBN 978-617-552-015-4

© Ф.В. Гладких, 2022

© ТОВ «ТВОРИ», 2022

Присвячується

50-річчю Інституту проблем кріобіології
і кріомедицини НАН України (2022 р.)

100-річчю Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України (2021 р.)

100-річчю Інституту медичної радіології
та онкології ім. С.П. Григор'єва НАМН України (2020 р.)

ПЕРЕДМОВА

Нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) широко застосовуються у багатьох сферах медицини для лікування запальних процесів різної етіології та є однією з найбільш клінічно значущих груп лікарських засобів (ЛЗ). Щорічно у світі, як протизапальні, знеболюючі та антиагрегантні засоби, їх застосовує понад 300 мільйонів чоловік, з яких 2/3 – без рецепту лікаря [32, 50, 72].

Арсенал НПЗЗ нараховує понад 80 препаратів та близько тисячі створених на їх основі лікарських форм. Серед сучасних фармакологічних препаратів класичні НПЗЗ – ацетилсаліцилова кислота (АСК), диклофенак натрію (ДН), індометацин (ІНД), ібупрофен (ІБП), піроксикам – є найбільш уживаними. Завдяки унікальному поєднанню фармакологічних ефектів (протизапального, знеболюючого, жарознижуючого та антитромботичного) НПЗЗ застосовуються практично в усіх галузях клінічної медицини [73, 140]. Вказані ЛЗ використовують для профілактики та лікування запальних захворювань сполучної тканини (ревматоїдний артрит (РА), артроз, анкілозуючий спондилоартрит, тендовагініт та ін.), больового синдрому (міалгія, артралгія, головний біль, післяопераційний біль, невралгія, дисменорея та ін.), профілактики тромбозів (гіперкоагуляційний синдром, тромбофлебіт та ін.), при лихоманці тощо. В останні роки також відзначено, що вони можуть бути ефективними для запобігання розвитку колоректального раку, раку підшлункової залози та стравоходу Баррета, що обумовлено їх антипроліферативним та проапоптичним ефектами [4, 41, 85].

Однак, при використанні НПЗЗ досить часто можуть виникати побічні реакції, найбільш поширеними з яких є ушкодження шлунково-

кишкового тракту (ШКТ) [90]. Саме тому на сьогоднішній день група НПЗЗ залишається у фокусі уваги науковців.

За даними Garcia R.E. неселективні НПЗЗ володіють високою ульцерогенною дією на слизову оболонку (СО) гастродуоденальної зони (ГДЗ) [32]. Застосування високоселективних інгібіторів циклооксигенази (ЦОГ) другого типу (ЦОГ-2) – цефекоксиду, рофекоксиду та ін., знижує частоту гастроінтестинальних ускладнень, однак, інгібуючи утворення простагліну, вони здатні зрушувати баланс між вмістом простагліну і тромбоксану (TxA_2) на користь останнього, який виступає протромботичним фактором, в результаті чого розвиваються кардіоваскулярні порушення, включаючи інфаркт міокарду [56, 112, 138]. В той же час селективні інгібітори ЦОГ-2 збільшують ризик розвитку ниркової недостатності, через зниження клубочкової фільтрації та уповільнення реабсорбції натрію [72, 85].

Тому широкому застосуванню НПЗЗ нерідко зашкоджують їх недостатня ефективність та ціла низка серйозних побічних ефектів (в першу чергу ульцерогенність), які доволі часто змушують припинити лікування препаратами даної групи [15, 21, 27, 43, 44, 60]. Основними серед них є гастро-, нефро- та гепатотоксичність [69, 110].

На сьогоднішній день у всьому світі ведеться активний пошук шляхів потенціювання терапевтичних ефектів (зокрема протизапального та знеболюючого), а також підвищення безпечності НПЗЗ [19, 33, 34].

З метою вирішення зазначеної проблеми було запропоновано комбіноване застосування НПЗЗ з препаратами інших фармакологічних груп, які здатні послаблювати їх ульцерогенну дію – H_2 -гастаміноблокаторами (фамотидин, ранітидин), інгібіторами протонної помпи (ІПП) (омепразол, лансопразол, пантопразол, езомепразол), антиоксидантами (мексидол, гіпоксен), синтетичними аналогами простаглінів (ПГ) (мізопропростол, цитотек), антацидами (алюмінію фосфат, магнію гідроксид, алюмінію гідроксид), стимуляторами синтезу ПГ (ребаміпід), сукральфатом, пентоксифіліном, солкосерилом, токоферолу ацетатом та ін. [3, 43, 44, 60]. На сьогоднішній день створено комбіновані препарати «НПЗЗ та гастропротектор» – індоприл (ІНД 15 мг та тіотриазолін 45 мг), диклокор (ДН 25 мг та кверцетин 40 мг), артротек (ДН 75 мг та мізопропростол 200 мкг), дуексис (ІБП 800 мг та фамотидин 26,6 мг), вімово

(напроксен 500 мг та езомепразол 20 мг), аксорид (кетопрофен 100/200 мг та омепразол 20 мг), аспіфат (АСК 100/325 мг та сукральфат 200 мг) та ін. Крім того, ведеться активний пошук перспективних шляхів покращення профілю безпечності НПЗЗ шляхом модифікації їх молекул лігандами з гастропротекторними властивостями – газотрансмітерами, зокрема монооксидом нітрогену (NO) – CINODs (cyclooxygenase-inhibiting nitric oxide donors) або гідроген сульфідом (H₂S); ваніліновою групою (амтолметину гуацил (АМГ)) та ін. [19, 43, 127, 267].

Новим перспективним напрямком підвищення безпечності НПЗЗ на сьогоднішній день є застосування ЛЗ з політропними фармакологічними ефектами, зокрема засобів біологічної терапії, джерелами яких виступають мікроорганізми, органи та тканини рослинного або тваринного походження, клітини або рідини (у тому числі кров та плазма) людського або тваринного походження та біотехнологічні клітинні конструкції [7, 8, 88].

У якості засобів корекції ульцерогенної дії НПЗЗ нашу увагу привернули вітчизняні ЛЗ – кріоконсервований екстракт плаценти (КЕП) «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» та препарат з полівекторним механізмом дії «Вінборон», як потенційний агоніст ванілоїдних рецепторів.

КЕП отримано співробітниками Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (м. Харків), які й розробили та впровадили в практику унікальну методику його тривалого зберігання у низькотемпературному середовищі. Це забезпечило першість України серед європейських країн за досвідом кріоконсервування біологічних тканин [45].

Автор висловлює подяку науковцям Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова та Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького за увагу до роботи та участь у дискусії й обговоренні результатів:

к. мед. н., ст. досл. Чижу М. О.

к. біол. н., ст. н. с. Белочкіній І. В.

д. мед. н., проф. Вернигородському С. В.

лікарю-радіологу Студенту В. О.

ГЛАВА 1

НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ В ПРАКТИЧНІЙ МЕДИЦИНІ: ЛІКУВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ, НЕБАЖАНІ ЕФЕКТИ ТА ПІДХОДИ ДО ЇХ ПОСЛАБЛЕННЯ

1.1 НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ В ПРАКТИЧНІЙ ОХОРОНІ ЗДОРОВ'Я: ФОКУС НА СПІВВІДНОШЕННЯ «КОРИСТЬ – РИЗИК»

На сьогоднішній день НПЗЗ належать до найуживанішої групи лікарських препаратів та займають перше місце за числом показів до застосування, що пов'язано з широким колом захворювань, в лікуванні та профілактиці яких вони є ефективними, а їх арсенал налічує понад 80 препаратів та близько тисячі створених на їх основі лікарських форм. [72, 140]. Щорічно у світі, як протизапальні, знеболюючі та антиагрегантні засоби, їх застосовує понад 300 млн. чоловік, з яких 2/3 – без рецепту лікаря [32]. Згідно з даними літератури у Європі, США та Канаді 10–20% населення старіше 65 років регулярно застосовують НПЗЗ в лікуванні ревматичних захворювань, деформуючого остеоартрозу, невралгій та міалгій, остеохондрозу хребта, серцево-судинної патології, лихоманкових станів інфекційно-запального генезу, головного чи зубного болю та ін. [50, 72, 85, 124, 195].

За результатами досліджень фармацевтичного ринку України проф. Котвіцької А.А. та співав. у 2016 р., а в подальшому – проф. Яковлевої Л.В. та співав. у 2018 р. продемонстровано, що впродовж 2015–2018 рр. асортимент НПЗЗ налічував майже 400 торгових найменувань, а на торгові назви препаратів ДН, АСК, ІБП, мелоксикам (МКС) та ІНД сумарно припадало більше половини усього ринку НПЗЗ в Україні [140] (табл. 1).

Характеристика ринку окремих НПЗЗ в Україні у 2015–2018 рр.

НПЗЗ	Загальна кількість торгових назв (питома вага серед усіх НПЗЗ, %)			
	2015 р.	2016 р.	2017 р.	2018 р.
АСК	33 (8,3)	дані відсутні	дані відсутні	44 (11,2)
ІНД	5 (1,3)	6 (1,4)	3 (1,0)	4 (1,0)
ІБП	47 (11,8)	69 (16,5)	66 (21,4)	66 (19,8)
МКС	31 (7,8)	66 (15,8)	65 (21,0)	65 (16,5)
ДН	84 (21,2)	85 (20,3)	85 (27,5)	84 (21,4)
Всі НПЗЗ	397 (100)	419 (100)	302 (100)	393 (100)

Головним ефектом НПЗЗ є неспецифічна протизапальна дія – здатність пригнічувати запалення різної етіології [72]. Проте необхідно враховувати й те, що широка реклама, загальнодоступність ЛЗ цієї групи, безрецептурний відпуск в аптечній мережі, швидкий та відчутний анальгезуючий ефект, простота у використанні та наявність широкого спектру лікарських форм, дозволяють пацієнтам самостійно приймати рішення про їх застосування без необхідної консультації лікарів. Як наслідок, це призводить до безконтрольного використання даної групи препаратів [32].

Відомо, що провідним механізмом як ефективності, так й токсичності НПЗЗ є інгібування синтезу ПГ, обумовлене пригніченням активності ЦОГ – головного ферменту метаболізму арахідонової кислоти (АК), який було відкрито Джоном Вейном у 1971 р. [71]. Фізіологічно в складі фосфоліпідів клітинних мембран під впливом фосфоліпази А₂ утворюється АК, яка підлягає метаболізму з утворенням ейкозаноїдів – біологічних продуктів, які виступають потужними активаторами імунокомпетентних клітин, зокрема макрофагів, та відіграють ключову роль у координації перебігу запального процесу. На сьогоднішній день відомі три ензиматичні шляхи метаболізму АК: ЦОГ-опосередкований (циклооксигеназний), ліпооксигеназний (ЛОГ) та епоксигеназний (ЕЕТ) (рис. 1).

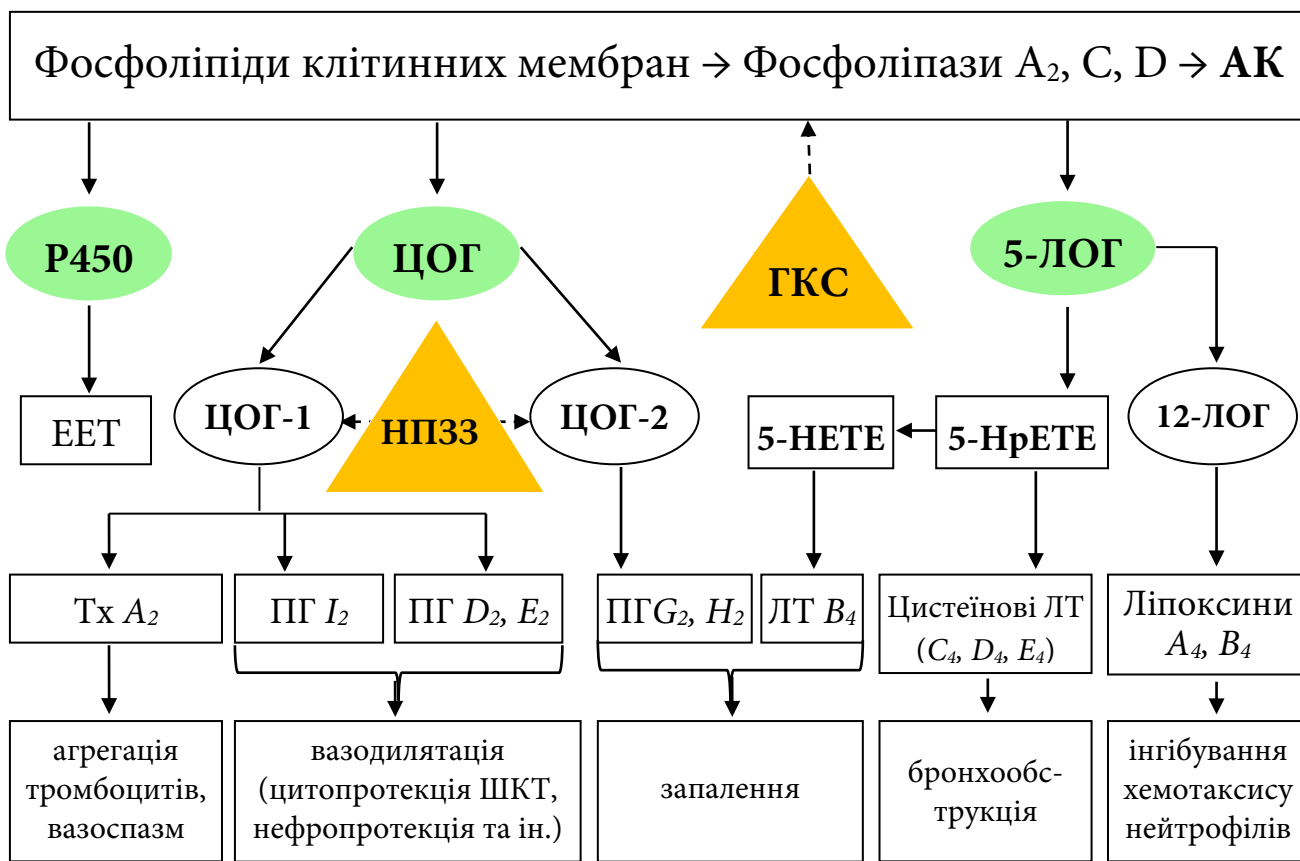


Рис. 1 Каскад арахідонової кислоти та біологічні ефекти ейкозаноїдів [32, 151]

Примітки:

1. ГКС – глюкокортикостероїди;
2. EET – епоксиейкозатетраєнові кислоти;
3. ЛОГ – ліпооксигеназа;
4. ЛТ – лейкотрієни;
5. Н(р)ЕТЕ – гідроксиейкозатетраєнова кислота;
6. НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби;
7. ПГ – простагландини;
8. ТхА₂ – тромбоксан А₂;
9. ЦОГ – циклооксигеназа;
10. Р450 – цитохром Р450.

За хімічною природою НПЗЗ в переважній більшості є похідними кислот – арилкарбонової, арилалканової, енолікової (табл. 2).

Класифікація НПЗЗ за хімічною структурою [137]

1. Похідні кислот
1.1. Арилкарбонові кислоти
1.1.1.Похідні саліцилової кислоти (саліцилати): АСК, дифлунісал, трисаліцилат, бенорилат, саліцилат натрію
1.1.2.Похідні антранілової кислоти (фенамати): мефенамова кислота, ніфлумова кислота, меклофенамова кислота, флуфенамова кислота, толфенамова кислота
1.2. Арилалканові кислоти
1.2.1.Похідні арилоцтової кислоти: ДН, аклофенак, фентіазак, фенклофенак
1.2.2.Похідні гетерооцтової кислоти: кеторолак, толметин, зомепірак, триметамін, клоперак
1.2.3.Похідні індол/інденоцтової кислоти: ІНД, суліндак, етодолак, ацеметацин
1.2.4.Похідні арилпропіонової кислоти: ІБП, фенбуфен, флурбіпрофен, супрофен, кетопрофен, індопрофен, напроксен, пірпрофен, тіапрофенова кислота, фенопрофен
1.3. Енолікові кислоти
1.3.1.Похідні піразоліну: фенілбутазон, оксифенілбутазон, азапропазон, фепразон
1.3.2.Оксиками: піроксикам, МКС, судоксикам, ізоксикам
2. Деякі інші похідні: німесулід, целекоксиб, рофекоксиб, буфексамак, тіноридин, набуметон, флурпроквазон, парацетамол, флуфізон, проквазон, епіразол
3. Комбіновані препарати: артротек, аспіфат, диклокор та ін.

У 1993 р. було встановлено існування двох ізоферментів ЦОГ – структурного ферменту ЦОГ-1, який постійно є присутнім в ендоплазматичному ретикулумі клітин (за виключенням еритроцитів) [71] та регулює фізіологічні процеси в організмі, зокрема каталізує утворення простагліцину, гастропротекторних ПГ, а також ПГ, що підвищують нирковий кровотік, клубочкову фільтрацію та виведення

йонів та води [71]. На сьогоднішній день є доведеним існування й третьої ізоформи ЦОГ – ЦОГ-3, яка виявлена у клітинах кори головного мозку та серця. Її інгібування призводить до зменшення вмісту ПГЕ₂, що лежить в основі центрального механізму жарознижуючої та аналгетичної дії парацетамолу та метамізолу натрію [82].

Індуцибельна ЦОГ-2 виконує роль структурного ферменту тільки в головному мозку, нирках, кістках та репродуктивній системі у жінок. Активність ЦОГ-2 зростає під впливом інтерлейкіну (ІЛ)-1, фактору некрозу пухлин (ФНП)- α , бактеріальних ліпополісахаридів та відповідно майже втричі збільшує рівень ПГ в запальній тканині. В свою чергу ПГ окрім прямого забезпечення ексудативної фази запалення (ПГЕ₂, ПГF₂ α) ще й активують медіатори – гістамін, серотонін, брадикінін, збільшують вихід ферментів лізосом, активують ферменти резорбції кісткової тканини – колагеназу та металопротеїназу. Більшість НПЗЗ в рівній мірі пригнічують активність як ЦОГ-1 так і ЦОГ-2 – виступають помірно-селективними інгібіторами обох ізоформ ЦОГ (табл. 3).

Таблиця 3

**Класифікація НПЗЗ за селективністю до ізоформ ЦОГ
(значення індексу селективності ЦОГ-1/ЦОГ-2) [137]**

Селективні інгібітори ЦОГ-1	Неселективні інгібітори ЦОГ-1	Селективні інгібітори ЦОГ-2	Високоселективні (специфічні) інгібітори ЦОГ-2
НДА (166) Піроксикам (150) ІНД (60–107) Кетопрофен	ДН (0,7–2,2) ІБП (15) Напроксен (0,6) Флубіпрофен (1,3)	МКС (0,33–0,8) Німесулід (0,2) Етодолак Набуметон	Целекоксиб (0,001) Рофекоксиб (0,0001)

У світлі відкриття ізоформ ЦОГ та вивчення взаємозв'язку між їх фармакологічною активністю та селективністю до ЦОГ-1 чи ЦОГ-2 показали, що інгібування ЦОГ-2 виступає один з важливих механізмів протизапальної активності НПЗЗ, а пригнічення активності ЦОГ-1 – ключовим механізмом розвитку побічних ефектів, зокрема у ШКТ [32, 69, 83]. Це спонукало дослідників до створення селективних інгібіторів ЦОГ-2.

Перший селективний інгібітор ЦОГ-2 МКС було створено у середині 80-х років, а у 1994 р. його впроваджено в клінічну практику [71]. Це стало поштовхом до появи наприкінці 90-х років ХХ ст. підгрупи справжніх селективних інгібіторів ЦОГ-2 – коксибів (рофекоксиб, целекоксиб, вальдекоксиб та ін.), які за задумом мали бути позбуті побічних ефектів з боку ШКТ за рахунок відсутності впливу на активність «корисної» ЦОГ-1. Однак, рандомізоване клінічне дослідження APPROVe (Adenomatous Polyp Prevention on VIOXX), присвячене вивченню високоселективного інгібітора ЦОГ-2 рофекоксибу, встановило, що серед 2585 учасників відмічалось виразне підвищення частоти інфаркту міокарда. З'ясувалося, що це небезпечне ускладнення в 2 рази частіше виникало у хворих, які застосовували рофекоксиб, ніж серед тих, хто отримував плацебо – 45 та 25 випадків відповідно. Це призвело до так званої «кризи коксибів» в результаті чого рофекоксиб було вилучено з обігу, а «тінь» впала на всі селективні ЦОГ-2 інгібітори [71].

Не зважаючи на понад столітню історію застосування НПЗЗ у клінічній практиці жоден з препаратів цієї групи не позбавлений специфічних побічних ефектів, які притаманні всім представникам незалежно від хімічної структури. НПЗЗ здатні чинити специфічний негативний вплив на різні органи та системи організму людини [50, 72, 73]. Саме тому при призначенні НПЗЗ необхідно проводити оцінку співвідношення «користь-ризик» та оцінювати їх безпечність за впливом на окремі системи організму, враховуючи їх вихідний функціональний стан – ШКТ-безпечність (гастротоксичність, ентеротоксичність), серцево-судинна безпечність (кардіотоксичність), гепатотоксичність, нефротоксичність та ін. (табл. 4) [5, 113, 166].

Таблиця 4

Основні побічні ефекти НПЗЗ [114]

Небажані ефекти при застосування НПЗЗ	НПЗЗ	Частота
-1-	-2-	-3-
1. Ураження ШКТ (ульцерогенність): <ul style="list-style-type: none"> - функціональні розлади - ерозії та пептичні виразки шлунка - кровотечі та перфорації - ураження тонкої та товстої кишки (діарея, метеоризм) 	АСК ІНД, ДН кеторолак кетопрофен піроксикам етодолак	% 10–15 7–10 2–5 5–10

Продовження таблиці 4

-1-	-2-	-3-
2. Нефротоксичність зменшення клубочкової фільтрації, уремія, інтерстиціальний нефрит із нефротичним синдромом	ІНД фенілбутазон піроксикам ІБП	4-7
3. Гепатотоксичність підвищення активності трансаміназ, ураження паренхіми	ДН, ІНД німесулід парацетамол	3-5
4. Токсична дія на серцево-судинну систему (ССС) - кардіотоксичність (серцева недостатність) - підвищення артеріального тиску	Коксиби: целекоксиб рофекоксиб	1-5
5. Ототоксичність (погіршення слуху)	Саліцилати	5-10
6. Реакції гіперчутливості - шкірні прояви (еритема, свербіж, кропив'янка) - бронхоспазм, аспіринова астма	ІНД фенілбутазон клофезон	5-8 1-4
7. Нейротоксичність: біль, головокружіння, стерильний менінгіт	ІНД, АСК фенілбутазон	1-2
8. Гематотоксичність лейкопенія, тромбоцитопенія, гемолітична анемія	фенопрофен АСК, ІНД фенілбутазон	1-2

Небажані реакції з боку ШКТ є найпоширенішою патологією, обумовленою застосуванням НПЗЗ – ймовірність появи ерозії, виразки та/або кровотеч з порушенням прохідності у травному тракті серед пацієнтів, які регулярно приймають протизапальні препарати нестероїдної структури більш ніж у 4 рази вище ніж в популяції – 0,5–1,0 випадок на 100 хворих впродовж року. Пацієнти, які отримують НПЗЗ, гинуть внаслідок ускладнень з боку ШКТ у 2–3 рази частіше, ніж ті, хто не застосовує цих препаратів [69, 159, 229]. У дослідженні іспанських вчених встановлено, що найвищий відносний ризик (ВР) серйозних ускладнень з боку ШКТ при призначенні НПЗЗ виявлено у селективного інгібітора ЦОГ-2 ентерококсибу (ВР 12), далі слідує напроксен (ВР 8,1), та ІНД (ВР 7,2), а найменший ВР виявлено у ІБП – 2,7 (рис. 2).

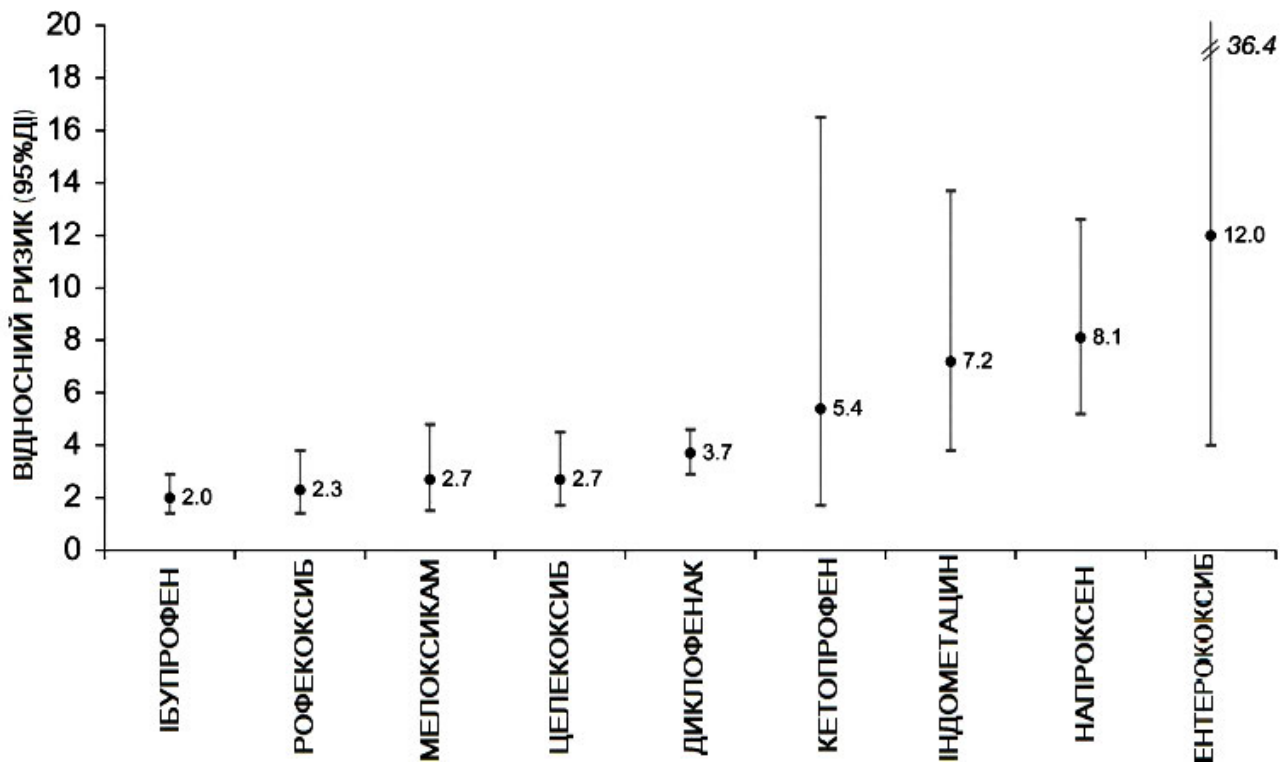


Рис. 2 Скорегований відносний ризик серйозних ушкоджень верхніх відділів ШКТ при використанні НПЗЗ порівняно із незастосуванням НПЗЗ [56, 180]

У систематичному огляді Castellsague J. та співав. встановлено, що ВР ускладнень з боку верхніх відділів ШКТ, у тому числі кровотеч, перфорацій або неускладнених виразок, коливалося від 1,43 до 18,45 [173]. Ранжуванням НПЗЗ за значенням ВР у вказаному дослідженні дозволило розділити ці препарати на чотири групи [173]:

- ВР < 2 (ацеклофенак, целекоксиб та ІБП);
- ВР 2–4 (рофекоксиб, ДН, МКС, німесулід та кетопрофен);
- ВР 4–5 (теноксикам, напроксен, ІНД та дифлунісал);
- ВР > 5 (піроксикам, кеторолак та азапропазон).

Смертність від НПЗЗ-індукованих уражень ШКТ займає 15 місце серед основних причин смерті та близька за рівнем до смертності від синдрому набутого імунодефіциту людини (СНІД) [238].

За даними Garcia Rodriguez L.A. неселективні НПЗЗ володіють високою ульцерогенною дією на СО ГДЗ. Серед них оксиками (піроксикам), кетопрофен, толметин, ІНД володіють найбільшою пошкоджуючою дією, а похідні пропіонової кислоти – найменшою [173]. Застосування високоселективних інгібіторів ЦОГ-2 (целекоксибу, рофекоксибу та ін.) знижує частоту гастроінтестинальних ускладнень, проте, інгібуючи утворення простагліцину, вони здатні зрушувати баланс між вмістом

простацикліну і TxA_2 на користь останнього, котрий виступає протромботичним фактором, в результаті чого й розвиваються кардіоваскулярні порушення, включаючи інфаркт міокарду. [179, 209, 231].

Токсична дія НПЗЗ на стан ССС обумовлена цілою низкою патогенетичних механізмів, які лежать в основі їх фармакологічної активності – ЦОГ-опосередковане зниження продукції PGI_2 , який продукується ендотелієм судин, викликає їх вазодилатацію та інгібує агрегацію тромбоцитів, а НПЗЗ-індуковане зниження його продукції може призвести до розвитку тромбозу, особливо в світлі зниження його протидії до TxA_2 , який продукується тромбоцитами та здатен викликати спазм судин [5]. До числа механізмів ССС-токсичності НПЗЗ можна віднести також їх здатність знижувати кардіопротективний ефект статинів при їх поєднаному застосуванні, а також ризик підвищення артеріального тиску, обумовлений затримкою натрію та води, що найбільше притаманне коксибам та є загрозливим для пацієнтів, хворих на артеріальну гіпертензію [5]. Крім того варто відзначити, що НПЗЗ здатні знижувати ефективність інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту, β -блокаторів та діуретиків [69]. В свою чергу затримка натрію, підвищення тону судин та дестабілізація артеріальної гіпертензії, обумовлені прийомом НПЗЗ, можуть виступати підґрунтям для декомпенсації хронічної серцевої недостатності у пацієнтів групи ризику [69]. Особливе значення мають дані літератури про здатність окремих НПЗЗ (ІБП, напроксен, ІНД) конкурувати з АСК за зв'язування з активним центром ЦОГ-1, знижуючи тим самим його антиагрегантний ефект [69].

Токсичний вплив НПЗЗ на печінку має складний і багатокомплексний механізм. Однією з ключових ланок виступає порушення екскреції жовчі внаслідок утворення комплексів із жовчними кислотами та ентеропечінкової рециркуляції НПЗЗ, що призводить до прогресуючого накопичення реактивних лікарських метаболітів у гепатоцитах та індукції холестазу [114, 166]. Оцінка відносного ризику розвитку гострої печінкової недостатності показала, що німесулід менш небезпечний ніж парацетамол та ІБП, і фактично дорівнює за гепатотоксичністю диклофенаку та кетопрофену [113].

Диклофенак частіше викликає змішаний цитолітично-холестатичний гепатит, суліндак – холестатичний або цитолітично-холестатичний гепатит, АСК (у високих дозах) може спричинити помірний цитоліз або мікровезикулярний стеатоз [113].

Сумарний ризик ураження печінки на тлі застосування НПЗЗ (відношення шансів) становить 1,69 (95 % ДІ: 1,21–2,37), для німесулідю – 2,1 (95 % ДІ: 1,28–3,47), для ІБП – 1,92 (95 % ДІ: 1,13–3,26), для диклофенаку – 1,5 (95 % ДІ: 0,74–3,06), для парацетамолу – 2,97 (95 % ДІ: 2,09–4,21) [69, 166].

Іншим загрозовим ускладненням застосування НПЗЗ виступає їх токсична дія на нирки. Застосування неселективних НПЗЗ розглядається в якості однієї з ключових причин розвитку хронічної ниркової недостатності, а збільшення ризику гострого порушення функції нирок (скоригований ВР) становить 1,82 (95 % ДІ: 1,68–1,98). Ризик ураження нирок значно варіює залежності від НПЗЗ, при цьому токсичність препарату зростає зі зменшенням його селективності щодо ЦОГ-2. Так, рофекоксиб (ВР 0,95), целекоксиб (ВР 0,96) та МКС (ВР 1,13) практично не мають негативного впливу на функцію нирок, в той час як ІНД (ВР 1,94), кеторолак (ВР 2,07), ІБП (ВР 2,25) та високі дози АСК (ВР 3,64) значно підвищують ризик порушення функції нирок [56].

1.2 ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ УЛЬЦЕРОГЕННОЇ ДІЇ НПЗЗ ТА СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ЇЇ ПОСЛАБЛЕННЯ

Спектр небажаних ефектів з боку ШКТ, пов'язаних з прийомом НПЗЗ, варіює від легкої диспепсії до ерозій і пептичних виразок, а ураження може локалізуватися на будь-якому рівні ШКТ: НПЗЗ асоційовані ураження стравоходу (езофагопатія), шлунка (гастропатія), тонкої кишки (ентеропатія) або товстої кишки (колонопатія) [11, 83].

До останнього часу побічна дія НПЗЗ на ШКТ досліджувалась переважно у верхніх відділах гастроінтестинальної зони – шлунку і дванадцятипалій кишці (ДПК) [130]. В останній час змінилось трактування і клінічними настановами затверджено відмінності поняття «НПЗЗ-індуковане пошкодження травного тракту» та «НПЗЗ-гастропатія», які не є абсолютно синонімічні, а також зазнали змін й стратегії їхнього запобігання [51, 130, 180, 254].

З 1986 р. і до останнього часу для НПЗЗ-індукованого ураження ШКТ застосовували термін «НПЗЗ-гастропатія», проте останнім часом його доцільно вважати неповним, що пов'язано як з розширенням відомостей про патогенез цієї патології так і з локалізацією ерозивно-виразкових ушкоджень [1, 4, 130]. Так, за

даними цілого рядку дослідників – Вялова В.В., Маєва І.В., Циммермана Я.С. та ін., термін «НПЗЗ-гастропатія» вказує на патологію в широкому розумінні, адже позначення «-патія» говорить про загальний характер патології, в той час як у патогенезі НПЗЗ-індукованих ушкоджень СО не останнє місце відіграє саме запалення, що вказує на більшу доцільність терміну «НПЗЗ-гастрит» [21, 90, 130]. Маєв І.В. та співав. вказують, що патогенез НПЗЗ-асоційованого ураження ШКТ, зокрема, супроводжується утворенням лейкотрієну (ЛТ) *V4*, який викликає запалення та ішемію тканин за рахунок адгезії нейтрофілів до ендотелію судин [69, 90, 91]. По-друге, термін «НПЗЗ-гастропатія» (або «НПЗЗ-гастрит») недоцільно використовувати при всіх ушкодженнях ШКТ, пов'язаних із застосуванням вказаних препаратів, оскільки вказує тільки на ураження шлунка, в той час як НПЗЗ здатні вражати СО у всіх, без виключення, відділах травного тракту – стравоході, шлунку, тонкій та навіть товстій кишці [51, 180]. Тому у 2018 р. Лабезнік Л.Б. та співав. [83] запропонували класифікацію мультифокальних пошкоджень СО ШКТ НПЗЗ та антитромботичними препаратами, використовуючи позначення відділів травного тракту літерами – E (esophagus – стравохід), G (gaster – шлунок), D (duodenum – дванадцятипала кишка), I (intestine – тонка кишка) та C (colon – товста кишка) [83].

Відданість традиціям доходить до того, що в свідомості більшості колег поняття «НПЗЗ-індуковане пошкодження травного тракту» і «НПЗЗ-гастропатія» є абсолютно синонімічні [130]. У той же час токсичний вплив НПЗЗ на тонку кишку (НПЗЗ-індукована ентеропатія), незважаючи на відносно рідкісне обговорення в літературі, зустрічається значно частіше, ніж прийнято вважати. Так, аж ніяк не рідкісні ситуації, коли саме тонкокишкові виразкові ушкодження, індуковані прийомом НПЗЗ, є причиною розвитку загрожуючих життю станів: кровотечі, перфорації, гострої кишкової непрохідності. Незважаючи на вкрай рідкісне виникнення профузних тонкокишкових кровотеч, основна проблема полягає в неможливості точної практичної верифікації рівня ураження і проведенні адекватної локальної (як, втім, і системної) гемостатичної терапії [51, 130].

Як відомо, підґрунтям патологічних змін ШКТ при ульцерогенезі виступає порушення функціональної спроможності гастроінтестинального бар'єру, який є унікальним прикладом системи гістогематичних бар'єрів організму, в яких завдяки міжтканинним і міжклітинним коопераціям реалізується інтенсивний селективний транспорт та забезпечується потужний захист від дії механічних,

хімічних й біологічних факторів [61, 150]. Система захисту СО ШКТ включає 3 рівні[150]:

1. хімічний – передепітеліальний захист, або слизово-бікарбонатний бар'єр;
2. клітинний – покривний епітелій, який формує анатомічний бар'єр на шляху мікроорганізмів;
3. тканинний субепітеліальний комплекс клітин та матриксу, що забезпечує регуляцію, трофіку, контроль кінетики покривного епітелію, реалізацію реакцій неспецифічного та специфічного імунного захисту організму.

Дисбаланс між факторами захисту та факторами агресії є ключовим механізмом ульцерогенезу (рис. 3) [11, 191, 201, 217, 255].

До основних теорій ульцерогенезу належать [1, 10, 129, 130]:

1. судинна теорія Вірхова Р.Л. (1852 р.) згідно якої ішемія стінки шлунка вважається фактором виразкоутворення;
2. механічна теорія Ашоффа К. (1912 р.), в основі якої положення про локальне пошкодження СОШ;
3. пептична теорія Бернарда К. (1856 р.) та Квінке Г.І. (1878 р.), в якій перевага віддається впливу пепсину і хлористоводневої кислоти (HCl) – «без кислоти немає виразки»;
4. запальна теорія Коньєджі Х. (1925 р.) з обґрунтуванням гастриту як передвиразкового стану;
5. нейрорефлекторна теорія Рослі Р. (1912 р.), в якій причиною виразкоутворення вважаються патологічні вісцеровісцеральні рефлекси;
6. нейровегетативна теорія Бергмана Е. (1913 р.), відповідно до якої виразку шлунку вважають наслідком порушення функції вегетативної нервової системи;
7. нейротрофічна теорія Сперанського А.Д. (1935 р.);
8. кортиковісцеральна теорія Бикова К.М., Курцина І.Т. (1948 р.);
9. теорія стресу Сельє Г. (1953 р.);
10. теорія слизового бар'єру Холландера Д. (1954 р.), згідно з якою причиною утворення виразки вважали порушення вироблення слизу та його компонентів;
11. теорія зворотної дифузії водневих іонів (Девенпорт Г., 1964–1968 рр.), відповідно до якої високий градієнт іонів водню (H⁺) на межі зі СО має на неї пошкодуючу дію;
12. теорія дуоденогастрального рефлюксу (Plessis D.J., 1965 р.), що обґрунтовує детергентну дію жовчі;
13. теорія венозного стазу (Норкунас П.І., 1980 р.).

Ульцерогенна дія НПЗЗ		
Топічні ефекти	Системні ефекти	
	ПГ-залежні	ПГ-незалежні
<ul style="list-style-type: none"> • ↑ <i>акцепція йонів епітеліальними клітинами шлунка</i> ➤ ↓ мітохондріального окисного фосфорилування ➤ ↓ транспорту електронів ➤ ↑ вмісту активних форм кисню ➤ ↑ апоптозу, некрозу • <i>взаємодія із позаклітинними та мембранними фосфоліпідами</i> ➤ ↓ гідрофобності мембран та формування пор ➤ ↑ проникності мембран → ↑ чутливості до пошкодження • ↓ <i>зв'язування епідермального актору росту зі своїм рецептором</i> ↓ відновлення СО 	<p>Інгібування ЦОГ-1</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ ↓ кровотоку у СО ➤ ↓ продукції слизу, фосфоліпідів, бікарбонатів ➤ ↑ кислотності ➤ ↑ проникність ➤ стимуляція запальних процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження <p>Інгібування ЦОГ-2</p> <ul style="list-style-type: none"> • ↓ <i>вивільнення факторів росту</i> ➤ ↓ проліферації епітеліальних клітин ➤ ↓ ангіогенезу • ↑ <i>лейкоцитарної адгезії</i> стимуляція запальних процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ <i>синтез ЛТ (ЛТВ4)</i> ➤ ↑ лейкоцитарної адгезії ➤ стимуляція запальних процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження • { <i>активація iNOS</i> • { <i>інактивація конституційної NO-синтази (cNOS)</i> • { ↓ <i>синтезу H₂S</i> <li style="text-align: center;">↓ • ↓ <i>кровотоку у С</i> • ↑ <i>лейкоцитарної адгезії</i> ➤ ↓ ангіогенезу ➤ стимуляція запальних процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження

Рис. 3 Топічні та системні механізми ульцерогенної дії НПЗЗ [191, 201, 217, 255]

У світлі провідного механізму дії нестероїдних антифлогістиків заслуговує особливої уваги запальний механізм ульцерогенної дії НПЗЗ пов'язаний із «шунтуванням» метаболізму АК на 5-ЛОГ шлях. В результаті цього збільшується синтез ЛТВ4 та пептидолейкотрієнів – ЛТС4, ЛТД4, ЛТЕ4, що провокують інфільтрацію СО запальними клітинами. Підтвердженням слугують літературні дані про ефективність зілеутону (інгібітор 5-ЛОГ) та монтелукасту натрію (антагоніст сульфідопептидних лейкотрієнових рецепторів) з метою протекторної дії на СО шляхом зниження грануляційної інфільтрації СО та послаблення агресії шлункового соку шляхом пригнічення продукції пепсиногену [90, 101].

Другим механізмом ульцерогенної дії НПЗЗ є активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) внаслідок якого в тканинах накопичуються вільні радикали, у знешкодженні яких важливу роль відіграє система глутатіону. Припускається, що НПЗЗ, порушуючи цикл відновлення глутатіону, призводять до ушкодження системи антиоксидантного захисту клітин СО [101, 126, 220].

Третім патогенетичним механізмом ушкодження СО є здатність НПЗЗ пригнічувати синтез оксиду азоту (NO), який фізіологічно підтримує регіонарний кровотік, інгібує адгезію та активацію нейтрофілів, «ловить» вільні радикали. Внаслідок активації індукцибельної NO-синтази (iNOS) з NO в присутності супероксидрадикала утворюється пероксинітрат, який володіє місцевоушкоджуючою дією на СО [120]. Окрім цього, за рахунок впливу на внутрішньоклітинну концентрацію кальцію відмічається дисфункція гастродуоденального комплексу (див. рис. 3).

Серед людей, які постійно приймають НПЗЗ, 25,0 % страждають від виразкових уражень ГДЗ, при цьому кровотеча або перфорація виникають у 2–4 % пацієнтів [10, 83]. Крім того існує проблема недооцінки НПЗЗ-індукованих пошкоджень стравоходу та необхідність у зміні стереотипів у сприйнятті цієї проблеми з огляду на глобальну тенденцію постаріння населення внаслідок збільшення тривалості та покращення якості життя, розвитку вік-залежної патології та застосування медичних реконструктивних технологій (кардіохірургічних, ортопедичних, стоматологічних тощо), що вимагають тривалого приймання нестероїдних антифлогістиків [267].

За даними Bjarnason I. та співав. [61, 154], загальна кількість побічних ефектів при призначенні НПЗЗ (геморагії, перфорації та непрохідність) у дистальних відділах кишківника може навіть перевищувати таке в ГДЗ. Langman M.J. та співав. [61] повідомляють,

що основна причина інтестинальних перфорацій і кровотеч пов'язана саме з прийомом НПЗЗ. Morris A.J. та співав. [61] при вивченні історій хвороби 46 пацієнтів з РА, які приймають НПЗЗ, відзначають, що в 41,0 % випадків мала місце залізодефіцитна анемія з характерною картиною гіперемії та виразок. Kessler W.F. та співав. [61] проведено ретроспективне дослідження поширеності хірургічних ускладнень з боку тонкої кишки, викликаних прийомом НПЗЗ, яким встановлено, що НПЗЗ-індуковані виразки вдвічі частіше локалізувалися в клубовій, ніж в порожній кишці, причому в 50,0 % випадків виявлено тотальне ураження тонкої кишки. Ускладнення, пов'язані з нестероїдними виразками, в 50,0 % проявлялись кровотечею, у 33,0 % – перфорацією та у 17,0 % випадків – кишковою обструкцією. Allison M.C. та співав. [61] на підставі аналізу багатотисячного аутопсійного матеріалу повідомляють про виявлення виразок СО ШКТ у 8,4 % осіб, які приймали НПЗЗ. При цьому було відзначено, що прийом НПЗЗ більше 6 міс. підвищував ризик виникнення тонкокишкових виразок до 14,0 %.

Частоту ураження тонкої кишки при використанні низьких доз АСК (НДА) дозволяє простежити дослідження Shiotani A. та співав. [94], в якому порівнювали профілактичну дію ентеропротектора тепренона (геранілгеранілацетон) та плацебо у 20 здорових добровольців. Учасники дослідження отримували НДА (100 мг/добу) протягом 7 днів. В результаті ерозії або виразки тонкої кишки були виявлені у 60,0 % обстежуваних, причому значимого позитивного ефекту тепренона не виявлено. Інше дослідження показало, що макроскопічні пошкодження тонкої кишки виникали у 80,0 % пацієнтів, які протягом 2 тижнів отримували НДА [167]. Встановлено, що пошкодження, викликані прийомом НПЗЗ, також мали місце в дистальних відділах тонкої і товстої кишки, частіше за все – в ілеоцекальній ділянці [10].

Найважливішою причиною недооцінки клінічної значущості НПЗЗ-ентеропатії є труднощі в постановці діагнозу. НПЗЗ-індукована ентеропатія, як правило, протікає безсимптомно, а верифікація діагнозу можлива з використанням тестів, які не є широко доступними [86, 37, 61].

Серед неінвазивних методів діагностики НПЗЗ-індукованої ентеропатії запропонована оцінка запальних явищ в кишечнику на основі аналізу фекального кальпротектину, який є нейтрофільним цитозольним білком, що не руйнується в процесі травлення. Використання цього тесту дозволяє з високим ступенем вірогідності виявляти запальні захворювання кишечника будь-якого генезу.

Чутливість методу складає 75,0 %, специфічність – 84,0 % [86]. Візуалізацію слизової оболонки тонкої кишки забезпечує капсульна ендоскопія. За даними Maiden L. та співав. [86, 205] через 2 тижні терапії НПЗЗ та омепразолом в якості гастропротектора ендоскопічні зміни тонкої кишки виявлені у 68,0 % пацієнтів, а в 75,0 % випадків у хворих були високі концентрації фекального кальпротектину. Ерозивні зміни СО тонкої кишки виявляються у 80,0 % пацієнтів, які приймають НДА протягом більше двох тижнів. Подвійна балонна ендоскопія забезпечує більш повну візуалізацію змін тонкої кишки, але не використовується в якості першої лінії діагностики через інвазивність методики [86].

Механізми, що лежать в основі токсичної дії НПЗЗ на кишківник, відрізняються комплексністю та є результатом як системної, так і місцевої їх дії, а патогенез НПЗЗ-індукованої ентеропатії істотно відрізняється від патогенезу НПЗЗ-гастропатії [10, 44, 253]. Крім того його значно важче вивчати в контрольованих дослідженнях, оскільки тонкокишкові пошкодження маніфестують протягом значно довшого періоду часу, ніж у шлунку. Як і в шлунку, інгібування активності ЦОГ-1 призводить до швидкого компенсаторного збільшення експресії ЦОГ-2, а пригнічення активності обох ферментів призводить до загострення тканинного ушкодження. Проте, на відміну від шлунка інгібування ЦОГ в механізмах виникнення НПЗЗ-ентеропатії не відіграє провідну роль [10, 51]. Зокрема, якщо синтез інтестинальних ПГ істотно пригнічений, це не означає, що обов'язково виникнуть виразки й кровотечі. Навіть якщо останні розвиваються, вони за часом часто не збігаються з інгібуванням синтезу інтестинальних ПГ.

Специфічність патогенезу НПЗЗ-індукованого ураження тонкого кишківника полягає у особливостях фармакокінетики антифлогістиків нестероїдної природи – їх здатність повторно всмоктуватися в клубовій кишці та в подальшому реверсуватись до ДПК шляхом ентерогепатичної рециркуляції (рис. 4). НПЗЗ, які не піддаються ентерогепатичній рециркуляції, значного пошкодження кишечника в експериментах не викликали, що було підтверджено при перев'язці жовчної протоки [10, 51, 254]

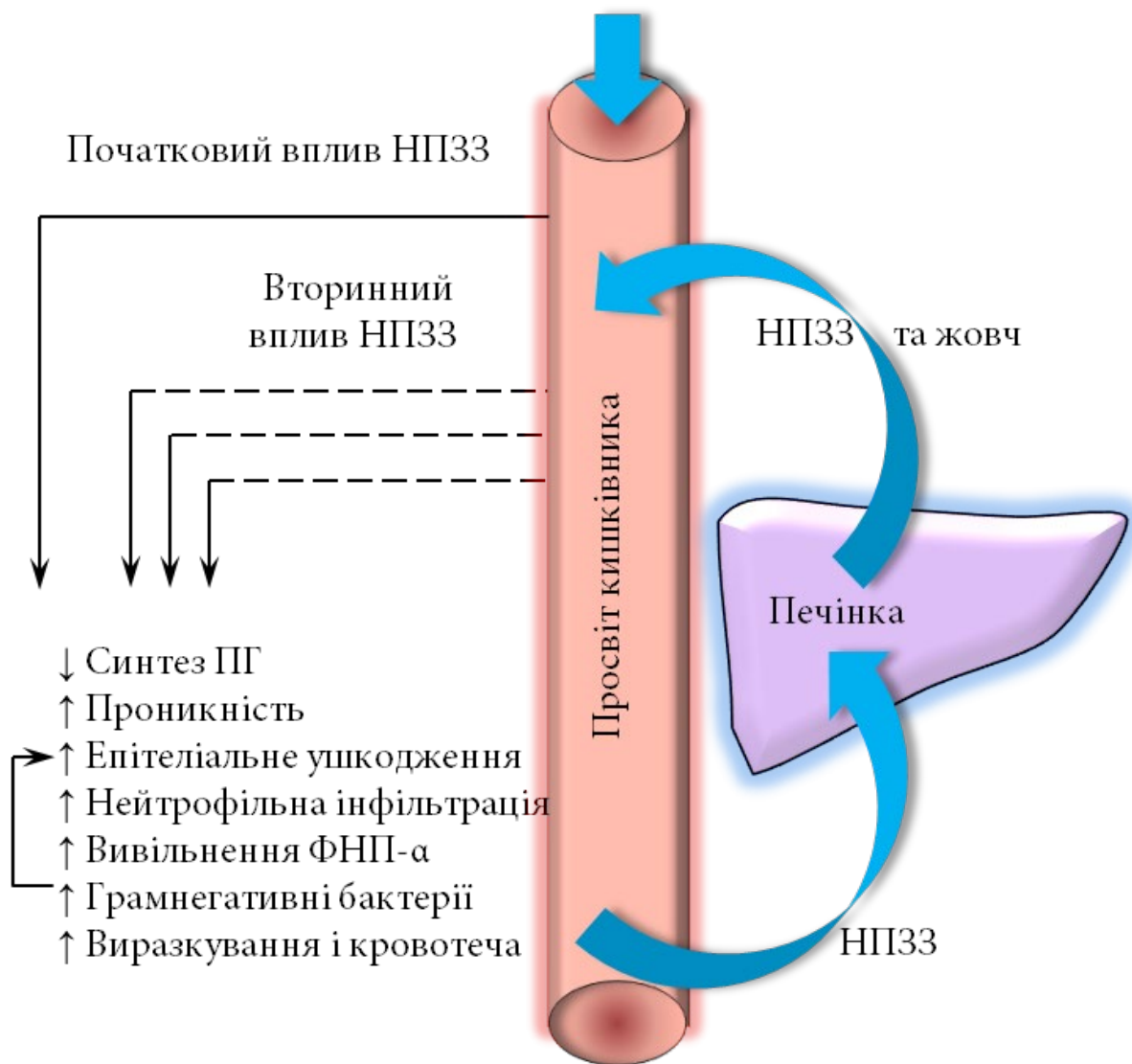


Рис. 4 Схема патогенезу ентеропатії, індукованої НПЗЗ за Wallace J.L. [51, 155, 254]

За даними літературних джерел [211, 11, 51, 253, 254] НПЗЗ здатні безпосередньо викликати пошкодження інтестинальних епітеліальних клітин, причому ці ефекти посилюються, коли НПЗЗ впливають на СО спільно з жовчу [10, 51, 211, 253, 254]. Основним механізмом НПЗЗ-індукованого епітеліального пошкодження вважається роз'єднання окисного фосфорилування, що призводить до розриву ліпідного бішару епітеліальних клітин. У той час як адгезія лейкоцитів на судинному ендотелії є критичним моментом в патогенезі НПЗЗ-гастропатій, вона не спостерігається в кишківнику, хоча нейтрофільна інфільтрація і вносить свій негативний внесок в пошкодження тканини, коли процес ульцерогенезу вже індуковано. Є також доказ негативного значення TNF- α у розвитку НПЗЗ-ентеропатії, хоча його ефект не залежать від індукції лейкоцитарної адгезії на судинному ендотелії.

Привертають увагу дані літератури [10, 51, 211, 253], що застосування НПЗЗ може супроводжуватись змінами кількісного і якісного складу кишкових бактерій, що також може мати велике значення в розвитку НПЗЗ-ентеропатії. За фізіологічних умов, гідролітичні ферменти мікроорганізмів кишкової флори здатні розщеплювати клітковину, білки, жири, крохмаль; декон'югувати жовчні кислоти, здійснювати синтез вітамінів груп В, С, амінокислот, холестерину, сечової і органічних кислот. Крім того, нормальна мікрофлора підтримує та посилює бар'єрну функцію ентероцитів кишківника шляхом збільшення продукції слизу, ущільнення міжклітинних з'єднань, регенерації епітелію. Функціонально спроможна фізіологічна мікрофлора кишківника володіє імуномодулюючою дією – здатна модулювати імунну відповідь [66]. Клітини, асоційовані з імунною системою – М-клітини, В-клітини, Т-клітини, взаємодіючи з нормальною мікрофлорою кишківника, продукують імуноглобулін IgA і тим самим нейтралізують патогени та продукують цитокіни. В результаті відбувається стимуляція імунітету або пригнічення запальної відповіді [66, 99].

Привертають увагу відомості, що застосування НПЗЗ супроводжується збільшенням вмісту грам-негативних бактерій в тонкій кишці, а лікування антибіотиками широкого спектру дії зменшує виразність НПЗЗ-ентеропатії [10, 76]. Крім того відомо, що у стерильних щурів і мишей НПЗЗ-ентеропатії не виникають [10, 76, 211]. Разом з тим, встановлено, що коли кишківник стерильних мишей колонізує *Escherichia coli* або *Eubacterium limosum*, вони стають чутливими до НПЗЗ-пошкодження. У той же час, коли кишківник стерильних мишей заселявся пробіотичними бактеріями *Bifidobacter*

adolescentis або *Lactobacillus acidophilus*, негативних ефектів також не відмічалось [10, 76, 211]. Роль грам-негативних бактерій у розвитку НПЗЗ-ентеропатії підтверджується також більш пізніми дослідженнями на генетично модифікованих мишах з недостатністю TLR-4 (Toll-liked receptors-4 – рецептори для бактеріального ендотоксину), у яких застосування НПЗЗ не супроводжувалось тонкокишковим ульцерогенезом [10, 76, 253,]. Важливим є те, що зміни кишкової мікробіоти спостерігаються тільки при застосуванні НПЗЗ, здатних до ентерогепатичної рециркуляції. Також важливим фактором є здатність деяких бактерій декон'югувати жовчні кислоти (рис. 5).

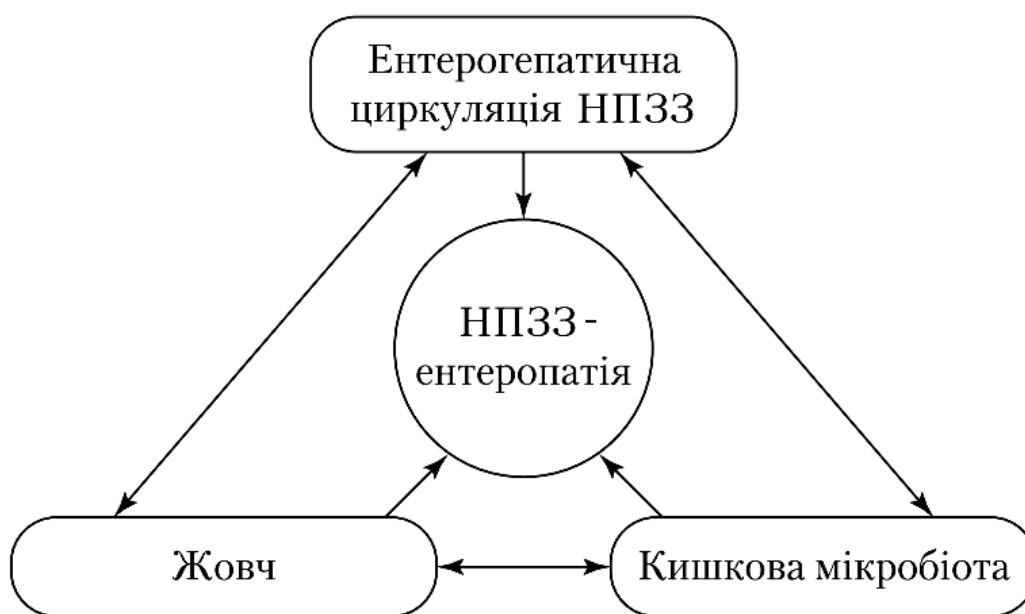


Рис. 5 Вадове коло патогенезу НПЗЗ-ентеропатії [51, 155]

На відміну від шлунка, на сьогоднішній день немає доказів того, що в патогенезі НПЗЗ-індукованого ушкодження відділів тонкого кишківника, розташованих нижче зв'язки Трейтца (*lig. suspensorium duodeni*) важливу роль відіграє НСІ шлункового соку [10]. Проте, слід зазначити, що пригнічення шлункової секреції може призводити до розвитку надлишкового бактеріального росту в тонкій кишці, здатного підсилювати тяжкість НПЗЗ-ентеропатії [66, 76, 248, 253]. Існуючі на сьогоднішній день підходи до послаблення ульцерогенної дії НПЗЗ спрямовані переважно на нівелювання пошкоджуючої дії на СОШ та проксимальних відділів ДПК, проте вони не спроможні знижувати частоту ураження СО тонкої та товстої кишки. Більш того,

недавні дослідження на гризунах показали, що застосування ІПП здатне погіршувати перебіг НПЗЗ-ентеропатії [10, 76, 208].

Оскільки в патогенезі НПЗЗ-ентеропатії важливе значення мають грам-негативні бактерії, тому тривають дослідження ефективності різних антибактеріальних засобів [10, 37, 76]. Передбачається також, що потенційно ефективним препаратом для запобігання НПЗЗ-індукованих пошкоджень кишківника, що зменшує кишкову проникність і запалення, може бути метронідазол [10, 76]. Перспективним напрямком у попередженні та лікуванні НПЗЗ-ентеропатії є застосування пробіотиків, які вже продемонстрували свою ефективність за ІНД та АСК-індукованої ентеропатії *in vitro* та на тваринних моделях [202]. В одному з досліджень показано, що застосування *Lactobacillus casei* супроводжувалося зменшенням тонкокишкових ушкоджень (за даними відеокапсульної ендоскопії) у хворих, які отримували НДА [10, 76, 202, 257]. Однак, протективна роль пробіотиків за умов НПЗЗ-ентеропатії ще не має достатньої доказової бази.

Лікування НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії класично направлене на кислотосупресивну терапію (ІПП, H₂-гістаміноблокатори та ін.), застосування гастроцитопротекторів (де-нол, сукральфат та ін.) та препаратів, які відновлюють вміст ПГ у СО (мізопростол, ребаміпід та ін.) [60, 70, 84, 152, 161, 208]. Проте всі зазначені групи ЛЗ недостатньо задовольняють клініцистів, оскільки спрямована переважно на лікування власне НПЗЗ-гастропатії та мають власні побічні ефекти (табл. 5).

**Найуживаніші ЛЗ, які застосовуються для профілактики та лікування
НПЗЗ-індукованої гастроентеропатії та їх недоліки**

Група засобів	Основні представники та режим застосування	Побічні (небажані) ефекти
КИСЛОТΟΣУПРЕСИВНІ	<p>Системні антациди</p> <ul style="list-style-type: none"> - NaHCO₃ по 0,5–1,0 г - CaCO₃ по 0,5–1,0 г - MgO або 4MgCO₃×Mg(OH)₂×nH₂O 0,5–1 г - суміш Бурже (4MgCO₃ × Mg(OH)₂ × 4–5H₂O - Ренні (680 мг CaCO₃ + 80 мг MgCO₃) 1–2 таб. 4 р/д. та ін. 	<p>Розвиток метаболічного алкалозу, синдром «рикошету» (вторинної гіперсекреції), підвищене газоутворення (NaHCO₃), гіперкальціємія, закрепи (CaCO₃), проноси (MgO), гіпермагніємія та ін. [37, 99, 123].</p>
	<p>Несистемні антациди: алюмінієві солі фосфорної кислоти та алюмінієво-магнієві антациди) – альмагель, алюмаг, гастал, маалокс, фосфалюгель та ін. Крім того, до адсорбуючим антацидам можна віднести вісмуту нітрат основний (суміш BiNO₃(OH), BiONO і BiOOH) та комбіновані препарати на його основі (вікалін, вікаін) та ін.</p>	<p>При тривалому використанні здатні викликати пригнічення моторики кишківника, порушення мінерального кісткового обміну («нюкастлівська кісткова хвороба», остеопороз, остеомалія), гіпофосфатемію, розвиток нефро- і енцефалопатії та ін. [37, 41, 99, 257].</p>
	<p>Альгінати (нейтральні полісахаридні полімери бурих водоростей <i>Laminaria hyperborea</i>, <i>Macrocystis pyrifera</i>, <i>Ascophyllum nodosum</i> та ін.) – гавіскон, гевіскон, ламіналов та ін.) та ін.</p>	<p>Профілактична та/або лікувальна ефективність значно поступається за ефективністю підходу, спрямованого на зменшення кислотопродукції. [41, 126].</p>

КИСЛОТОСУПРЕСИВНІ	<p>М-холіноблокатори Неселективні:</p> <ul style="list-style-type: none"> - атропін 0,1% 0,5–1 мл п/ш за 30 хв до їжі - метацин 0,002 3 р/д - платифілін 0,003 3 р/д <p>Селективні: гастроцепін 0,025–0,05 г 2 р/д та ін.</p>	<p>Сухість у роті, зниження гостроти зору, підвищення внутрішньоочного тиску, тахікардія, затримка сечовивипускання, атонічний запор, галюцинації, запаморочення та ін.) і незначний вплив на продукцію HCl (блокується тільки один з трьох шляхів стимуляції). На сьогоднішній день втратили своє клінічне значення [37, 55, 123].</p>
	<p>Антагоністи гастринових рецепторів</p> <ul style="list-style-type: none"> - проглумід 0,2 г 4 р/д та ін. 	
	<p>H₂-гістаміноблокатори</p> <ul style="list-style-type: none"> - циметидин 0,2 г - ранітидин 0,15 г - фамотидин 0,02 г - нізатидин 0,015 г - роксатидин 0,075 г 2 р/д та ін. 	<p>Поступаються за ефективністю ІПП, оскільки залишають можливість ацетилхолінового шляху стимуляції секреції HCl [55, 123].</p>
	<p>ІПП</p> <ul style="list-style-type: none"> - омепразол - лансопразол - езомепразол - рабепразол та ін. 	<p>Виснаження захисного кислотного-пептичного бар'єру супроводжується синдромом надлишкового бактеріального росту, що підвищує ризик розвитку кишкових інфекцій, включаючи псевдомембранозний коліт (<i>Clostridium difficile</i>), призводить до розвитку мальабсорбції певних речовин з подальшим їх дефіцитом (вітамін B₁₂, Fe²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺), прогресування остеопорозу, гіпергастринемії та ін. Дисбактеріоз в свою чергу сприяє розвитку запального процесу в СО шлунка і товстій кишці, що викликає порушення балансу між про- і протизапальними цитокінами, розвитку нітрузо-оксидативного стресу і деградації колагенових і неколагенових білків слизу з подальшим руйнуванням слизового бар'єру [9, 55, 74, 156, 169, 228].</p>

ПГ	Синтетичні аналоги ПГ <ul style="list-style-type: none"> - мізопростол 0,0002 г (аналог ПГЕ1) - ріопростил (аналог ПГЕ1) - енпростил (аналог ПГЕ1) - арбапростил (аналог ПГЕ1) - тимопростил (аналог ПГЕ2) та ін. 	Діарея, метеоризм, абдомінальні судоми, головний біль, нудота, блювота, метеоризм, диспепсія, анорексія та ін. [62, 146, 227].
	Стимулятори синтезу ПГ <ul style="list-style-type: none"> - ребаміпід 0,1 г 3 р/д та ін. 	
ГАСТРОПРОТЕКТОРИ	<ul style="list-style-type: none"> - сукральфат - карбеноксолон натрію <p style="text-align: center;">Препарати вісмуту</p> <ul style="list-style-type: none"> - вісмуту субгалат - вісмуту субнітрат - вісмуту трикалію дицитрат (де-нол) - аттапульгіт та ін. 	При тривалому використанні препаратів вісмуту відмічається потемніння калу, фарбування порожнини рота, а у важких випадках – вісмутова енцефалопатія та побічні ефекти, зумовлені його мінералокортикоїдною активності (гіпокаліємія, гіпернатріємія, артеріальна гіпертензія). [37, 69].

Зважаючи на чисельні побічні ефекти зазначених вище груп ЛЗ (кислотосупресивні препарати, гастропротектори та препарати ПГ) є актуальним напрямом створення безпечних НПЗЗ шляхом модифікації існуючих молекул [152]. З цією метою активно досліджується можливість модифікації НПЗЗ газоподібними молекулами, наночастинками металів та селективними модуляторами ванілоїдної групи та ін.

Модифікація НПЗЗ газоподібними молекулами

Широкий діапазон фізіологічних ефектів газоподібних медіаторів, зокрема NO, монооксиду вуглецю (CO) та H₂S, виявлений в останні роки, послужив поштовхом до серйозних досліджень можливості використання цих речовин для захисту СО ШКТ при прийомі НПЗЗ [120, 127]. Важливою мішенню газотрансмітерів є покривний епітелій шлунка і кишківника, в якому під впливом H₂S та NO встановлена активація продукції слизу і бікарбонатів [120, 227]. Доведено стимулюючу дію газів-медіаторів на проліферацію недиференційованих клітин, що забезпечує репарацію виразкових дефектів [204]. Слід зазначити, що газоподібні медіатори беруть участь в регуляції процесів апоптозу та проліферації клітин СО ШКТ [204].

Виразний захисний ефект СО-вивільнюючих молекул був продемонстрований на моделях запалення ШКТ. Проте, на сьогоднішній день не створено жодного НПЗЗ, які виступають донаторами СО. Лише Zanellato I. та співав. [265] описали похідне аспірину з антипроліферативною та протизапальною дією [120].

Монооксид нітрогену (NO) є потужним вазодилатором, інгібує активацію лейкоцитів, сприяє підтримці цілісності судинного ендотелію, а також стимулює секрецію слизу та бікарбонатів у ШКТ [213]. Всі ці ефекти сприяють підвищенню захисту СО ШКТ і, отже, забезпечують зниження тяжкості ушкодження слизової при дії НПЗЗ. Крім того, ендогенний NO відіграє важливу роль в загоєнні виразок [150, 204]. Ці факти лягли в основу розробки NO-вивільнюючих НПЗЗ: NO-аспірин, NO-диклофенак, NO-напроксен, NO-флубіпрофен, NO-кетопрофен, NO-суліндак, NO-ІБП, NO-ІНД і ін. [120].

H₂S, також, як й NO, є потенційним інгібітором лейкоцитарної адгезії до судинного ендотелію, що може мати практичне значення в попередженні або зменшенні гастродуоденального пошкодження при прийомі НПЗЗ [62]. H₂S володіє широким спектром фізіологічної дії – нейромодуючий, судинорозширюючий та протизапальний ефекти

[120, 251, 252, 264]. Відкриття вказаних властивостей гідроген сульфїду лягло в основу розробки нових протизапальних засобів, що вивільняють H_2S . До теперішнього моменту отримані вагомі докази того, що H_2S -рилізінг фрагмент, інтегрований до молекул НПЗЗ, значно зменшує пошкоджуючу дію останніх на ШКТ, не знижуючи при цьому протизапальний ефект [175, 214]. Для деяких препаратів встановлено навіть підвищення протизапальної активності гібридів НПЗЗ + H_2S -рилізінг фрагмент. Прикладом такого нового препарату є АТВ-346, що представляє собою H_2S -вивільнююче похідне напроксену [120, 175, 214, 252].

Модифікація НПЗЗ наночастинками металів

Результати експериментальних досліджень Jarosz M. та співав. показали, що комплексоутворення ІБП та напроксен з наночастинками Zn окрім потенціювання протизапальних властивостей зазначених препаратів призводило до вірогідного зниження ульцерогенної дії на СО експериментальних тварин [191]. Ці дані узгоджувалися з раніше опублікованими даними Dillon C.T. та співав. про поліпшення гастроінтестинального профілю безпеки ІНД при його кон'югації з Zn [164].

Комбіновані НПЗЗ з гастро- та/або ентеропротективними препаратами

Іншим напрямком покращення профілю безпечності НПЗЗ є створення комбінованих препаратів з гастро- та/або ентеропротективними засобами або з препаратами, які володіють політропними фармакологічними властивостями (тіотриазолін, вінборон та ін.). Так, співробітниками Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (м. Харків, Україна) у 70-х роках ХХ століття було створено, а фармацевтичною компанією «Здоров'я» (м. Харків, Україна) впроваджений комбінований препарат АСК та кверцетину – кверсалін.

Через 30 років науковцями Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я (МОЗ) України (м. Харків, Україна) запропоновано створення комбінованого лікарського засобу з кверцетином – диклокору, який вміщував інший НПЗЗ – ДН.

Науковцями Дніпровського державного медичного університету МОЗ України та Запорізького державного медичного університету МОЗ України розроблено комбінований засіб індоотрил – ІНД + тіотриазолін). Крім вітчизняних у світову практику

впроваджені комбіновані препарати «НПЗЗ + гастро-та/або ентеропротектор»: артротек (ДН + мізопростол), аспіфат (АСК + сукральфат), дуксис (ІБП + фамотидин), вімово (напроксен + езомепразол), аксорид (кетопрофен + езомепразол), тіоаспекард (АСК + тіотриазолін) та ін. [29, 237, 268].

Крім зазначених підходів до покращення профілю безпечності НПЗЗ та зниження їх пошкоджуючого впливу на ШТК розробляються й інші – застосування репаративів (даларгін, солкосерил та ін.), антиоксидантів (мексидол, гіпоксен), актопротекторів (метапрот та ін.), біофлаваноїдів (рутин, кверцетин та ін.), похідних амінокислот та ін. [16].

1.3 Модуляція «ЕФЕКТОРНОЇ ФУНКЦІЇ» АФЕРЕНТНИХ ТЕРМІНАЛЕЙ *n. vagus* ЯК ШЛЯХ РЕАЛІЗАЦІЇ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОЇ ДІЇ АГОНІСТІВ ВАНІЛОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ

У 1967 р. угорський фізіолог Jancso N. та співав. встановили, що серед іритантів, які діють на первинні аференти, тільки активний компонент червоного гострого перцю (*Capsicum frutescens*) – капсаїцин (рис. 6) та сродні йому ванілоїди здатні дозозалежно крім гострого збудження викликати тривалу рефрактерність (десенситизацію) [29, 190].

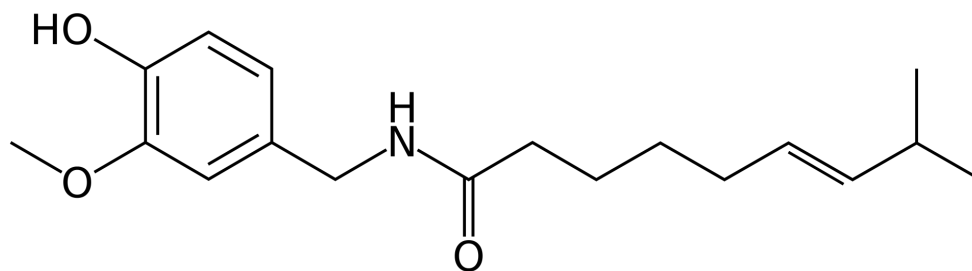


Рис. 6 Структурна формула капсаїцину

Десенситизуюча дія ванілоїдів обумовила терапевтичне зовнішнє застосування екстракту червоного гострого перцю капсаїцину (0,025–0,25%) в лікуванні постгерпетичної невралгії, діабетичної нейропатії, невралгії трійчастого нерву, РА, гострого

первинного ідіопатичного полірадикулоневриту (синдром Гійена-Барре) [29, 102].

За даними літератури, капсаїцин взаємодіє зі специфічними рецепторами плазматичної мембрани С та А δ (дельта) – нервових волокон, які належать до ноцицептивної аферентної системи [177].

Немієлінізовані С-волокна, з діаметром 0,4–1,2 мкм, проводять нервовий імпульс (0,5–2 м/с) від хеморецепторів до вегетативних нейронів бічних рогів (синаптичний відділ нервової системи) та в центральній нервовій системі (ЦНС) та забезпечує відчуття хронічного нелокалізованого болю. Тонкі А δ мієлінізовані волокна, що мають діаметр 2–5 мкм забезпечують більш швидке (12–30 м/с) проведення нервового імпульсу від механо- та терморецепторів до мотонейронів передніх рогів спинного мозку та ЦНС, чим забезпечують відчуття гострого локалізованого болю [54, 177].

Здатність цих рецепторів зв'язуватись з гомованіл-заміщеними лігандами та селективно модулювати локальну «ефекторну функцію» первинних аферентів стала передумовою появи в літературі їх визначення як ванілоїдних рецепторів (vanilloid receptor – VR1). VR1 належать до суперсімейства TRP (transient receptor potential) катіонних каналів та утворюють в сукупності одне з шести суперсімейств – TRPV₁ (transient receptor potential vanilloid 1) [233].

TRPV₁ локалізуються на чутливих нейронах системи *n. vagus* та трійчастого нерву (*n. trigeminus*), в симпатичних нервових сплетеннях кишківника, сечового міхура, в деяких структурах ЦНС (*corpus striatum*, гіпокамп, ядра мозочка), а також епітеліоцитах кишківника та сечового міхура та ін. [93, 176, 187].

Новатором досліджень в галузі нейрогастроентерології, спрямованих на встановлення ролі нейропептидів (кальцитонін-ген спорідненого пептиду (calcitonin gene related peptide – CGRP), субстанції Р (substance P – SP), нейропептиду Y (neuropeptide Y – NP-Y) та ін.) в регуляції моторики та функціонуванні сенсорних нейронів ШКТ став професор Грацького медичного університету (м. Грац, Австрія) **Peter Holzer** [186, 187].

Привертають увагу фундаментальні дослідження біомеханізмів гастропротекторної активності агоністів ванілоїдних рецепторів, зокрема капсаїцину, професора Печського університету (м. Печ, Угорщина) **Gyula Mozsik**, які було опубліковано у монографії «Capsaicin – sensitive neural afferentation and the gastrointestinal tract: from bench to bedside» (edited by G. Mozsik, Omar M. E. Abdel-Salam

and Koji Takeuchi) [215, 242]. В тому ж університеті у 2014 р. **Andras Domotor** представив виконану під керівництвом проф. Gyula Mozsik дисертацію «Capsaicin-sensitive afferentation and human gastrointestinal tract», в якій були викладені результати імуногістохімічних (ІГХ) досліджень, що підтвердили вивільнення аферентними волокнами шлунково-кишкового тракту нейропептидів (CGRP, SP) у відповідь на стимулюючий вплив капсаїцину [165].

На сьогоднішній день регуляція функціональної активності та чутливості TRPV₁ є об'єктом інтенсивних досліджень.

До неспецифічних активаторів TRPV₁ належать [188, 207]:

1. дія термічного фактору (t від +43,0 до +52,0°C);
2. ацидоз (pH < 6);
3. алкалоз (pH > 8);
4. іонний дисбаланс, зміна трансмембранного потенціалу та ін.

До специфічних активаторів належать [188, 222]:

1. компоненти спецій (переважно пекучих):
 - а. капсаїцин: перець чілі (*Capsicum frutescens*) – 16 млн одиниць пекучості за шкалою Сковіла (ОШС);
 - б. гінгерол, зінгерон: імбир (*Zingiber officinal*), куркума (*Curcuma*) – 16 тис. ОШС;
 - в. ізотіоціонати: хрін звичайний (*Armoracia rusticana*), гірчиця (*Sinapis*), васабі (*Eutrema japonicum*);
 - г. алліцин: часник (*Allium sativum*) та ін.;
2. природні токсини:
 - а. резінеферотоксин: молочай смолоносний (*Euphorbia resinifera*) – 16 млрд ОШС;
 - б. тініатоксин: молочай Пуассона (*Euphorbia poissonii*) – 5,3 млрд ОШС;
 - в. ванілотоксини: DkTx (отрута тигрового тарантула *Tiger tarantula*), VaTxS (отрута тарантула «Тринідадський шеврон» (*Trinidad chevron tarantula*) – до 2 млн ОШС) та ін.;
3. ендогенні та екзогенні сполуки:
 - а. анандамід (етаноламід АК),
 - б. H₂S,
 - в. N-арахідоніламінофенол (метаболіт парацетамолу),
 - г. ЛТВ₄,
 - д. CuSO₄, FeSO₄, кислоти (pH<6) та ін.

Особливе місце серед ендогенних активаторів VR1 посідають N-арахідонілетаноламід та деякі продукти ЛОГ-перетворень АК, зокрема анандамід (N-арахідонілетаноламід), деградація якого веде до

утворення субстрату біосинтезу ейкозаноїдів [93]. Це обумовлює активацію TRPV₁ при розвитку запалення будь-якої етіології [29, 256].

За даними Distrutti E. та співав. (2006 р.) ендogenous газотрансміттер H₂S, який генерується в ентеричній нервовій системі здатен активувати TRPV₁ рецептори сенсорних нервових закінчень, призводить до інтенсифікації секреції хлоридів та моторної функції кишківника. Проте десенситизація TRPV₁ в культурі субмукозних гангліонарних клітин товстої кишки людини шляхом перфузування розчинами капсазепіну (10 мкмоль/л) або капсаїцину (10 мкмоль/л) призводить до нівелювання TRPV₁-міметичної дії екзогенного донора гідроген сульфїду – NaHS (0,2–2,5 ммоль/л) [230].

Варто зазначити, що активація релізінгу нейропептидів з капсаїцин-чутливих ноцицептивних терміналей може здійснюватися не тільки без ініціації больового сигналу (доцентрового потенціалу дії), але навіть без деполяризації цих терміналей (Maggi C.A., 1995; Donnerer J., Amann R., 1990) що, певно пов'язане з прямою дією ванілоїдов на неселективні катіонні канали або іонів водню на кислото-чутливі іонні канали [102].

На сьогоднішній день один з провідних напрямків світової фармакології є дослідження модуляторів активності TRPV₁. Активно вивчаються вплив агоністів та антагоністів (капсазепін, рутеній червоний та ін.) TRPV₁ на функціональний стан ШКТ, ноцицептивної аферентації та ін. [171]. Незважаючи на те, що антагоністи ванілоїдних рецепторів не отримали широкого застосування як анагетика внаслідок побічних ефектів, їх застосування мало значення для фундаментальних досліджень [143].

Так вітчизняними науковцями проф. Заячківською О.С. та проф. Гжегоцьким М.Р. (м. Львів) та співав. були проведені дослідження значення ванілоїдної аферентації в ендogenous стрес-лімітуючій системі органів травлення. Було встановлено, що капсаїцинова денервація за умов кислотно-пепсинового цитолізу підсилювала прояви функціональної неспроможності епітеліального бар'єра та виснажувала компенсаторні механізми ендотеліальної ланки вазорегулювання на 30,0 %, зумовлюючи порушення обмінно-трофічних процесів і локального забезпечення важливими факторами, які детермінують виразкозагоєння [29, 266].

Nelyes Z. та співав. (2004 р.) на моделі ад'ювантного артрити у щурів довели, що ванілоїдна десенситизація превентивним підшкірним введенням резінеферотоксину (200 мг/кг) спричинює інгібування екзоцитозу з первинних аферентів соматостатину. Це

призводить до виснаження контррегуляторних механізмів пригнічення запалення – нівелюється здатність соматостатину інгібувати вивільнення прозапальних нейропептидів та модулювати активність імунної системи [182].

Osama A. Shakim Omar та співав. (2013 р.) експериментально встановили, що водний екстракт (300 мг/кг) червоного перцю (*Capsicum frutescens*) здатен зменшувати площу ушкоджень СОШ у щурів, викликану застосуванням АСК (200 мг/кг) на 71,1%; призводить до зниження об'єму шлункового соку на 50,7% та підвищення рН на 21,8% відносно монотерапії АСК [29]. Крім того, капсаїцин не тільки не послаблює антиагрегантних властивостей АСК, а й здатен інгібувати АДФ-індуковану (10 ммоль/л) агрегацію тромбоцитів [145, 212].

В роботі Ярушиної Н.І. та співав. [262] продемонстровано, що сенситизація TRPV₁ викликала дозозалежний гастропротективний ефект на моделі ІНД-індукованого ульцерогенезу, який супроводжувався підвищенням рівня кортикостерону. В той же час введення інгібітора синтезу глюкокортикоїдних гормонів метирапону (30 мг/кг) запобігало підвищенню рівня кортикостерону у відповідь на введення капсаїцину та усувало гастропротективний ефект капсаїцину. У цьому ж дослідженні показано, що десенситизація капсаїцин-чутливих нервових закінчень має проульцерогенну дію, проте не чинить впливу на індометацин-індуковане підвищення рівню кортикостерону [143, 262].

За даними досліджень Kang J.K. та співав. (1995 р.) тривале (4 тижні) превентивне доповнення раціону щурів подрібненим перцем чілі (200 мг/10 г сухого корму) призводило до зменшення вдвічі площі уражень СОШ через 60 хв. після внутрішньошлункового (в/шл) введення 2,0 мл 100,0 % етанолу та становило відповідно 21,4 % та 45,9 % поверхні слизової. Введення щурам капсаїцину (2 мг/кг, в/шл) за 30 хв. до введення 100,0 % етанолу призводить до зменшення площі ураження СОШ на 37,0 % відносно групи щурів, які отримували виключно етанол [194]. Аналогічні результати були опубліковані Заячківською О.С. та співав. (2005 р.), які встановили, що в/шл введення щурам капсаїцину (0,5 мг/кг) в 8 разів зменшувало площу ураження СОШ, індукованого 100% етанолом [266].

Zaghlool Samen S. та співав. (2015 р.) довели, що двотижнєве в/шл введення екстракту імбиру (100 мг/кг/добу) призводило до зменшення площі виразкових дефектів СОШ, індукованих

одноразовим в/шл введенням ІНД (20 мг/кг) втричі та зростання концентрації NO в гомогенатах шлунка на 26,8 % [263].

Заслуговують уваги дослідження спрямовані на пошук нової генерації ЛЗ з гастропротективною дією серед агоністів TRPV₁. Так, вже була доведена клінічна ефективність застосування АМГ як модифікованого НПЗЗ з гастропротективною дією [75, 142]. АМГ представляє собою вдосконалену молекулу добре відомого на Заході «традиційного» НПЗЗ толметину. У США толметин зареєстрований для використання в педіатричній практиці у дітей з 2-річного віку [75]. Модифікація толметину шляхом додавання амінокислоти валіну призвела до здатності АМГ взаємодіяти з TRPV₁ СОШ (до потрапляння в системний кровообіг), що супроводжується індукцією каскаду біохімічних перетворень, які активують NO-синтази, знижують стимульовану продукцію HCl, пригнічують ПОЛ та ін. [142].

У 2006 р. Fakusima K. та співав. опублікували серію робіт, присвячених дослідженню ПГ-опосередкованої дії інноваційного H₂-гістаміноблокатору лафутидину, обумовлену активацією TRPV₁. Horie S. та співав. у 2004 р. провели порівняння гастропротективної дії лафутидину (1, 3, 10 мг/кг) та фамотидину (1, 3, 10 мг/кг) та показали, що H₂-гістаміноблокатор з TRPV₁-міметичною дією лафутидин (АТХ: A02BA08) в дозі 10 мг/кг втричі ефективніше зменшував площу HCl-індукованих ушкоджень СОШ порівняно із фамотидином в тій самій дозі. Також була показана здатність антагоністів VR₁ – рутенію червоного (2,4 мг/кг) та капсазепіну (25 мг/кг) нівелювати захисні властивості капсаїцину (2,5 мг/кг), резінеферотоксину (30 мг/кг), гінгеролу (10 мг/кг) та лафутидину (10 мг/кг) на моделі HCl-індукованого ураження СОШ [172, 189, 261].

Реалізація гастропротективної дії агоністів TRPV₁ (рис. 7), обумовленої активацією TRPV₁, ґрунтується на екзоцитозі з С-аферентів нейропептидів (CGRP, SP, NKA, соматостатину та ін.). Соматостатин, впливаючи на G-білокспряжені рецептори (GPCR) призводить до зниження продукції HCl в шлунку. Вивільнення CGRP викликає активацію P_g-опосередкованих механізмів захисту СОШ – підвищення продукції P_gE₂, який взаємодіючи з рецепторами EP₁ призводить до підвищення продукції HCO₃⁻. Важливим механізмом гастропротективного ефекту є індукція утворення NO під впливом CGRP та SP, яка взаємодіє з рецепторами нейрокініну першого типу (NK1R). Підвищення продукції NO викликає розширення судин та покращення трофіки СОШ. [165, 187, 198, 212].

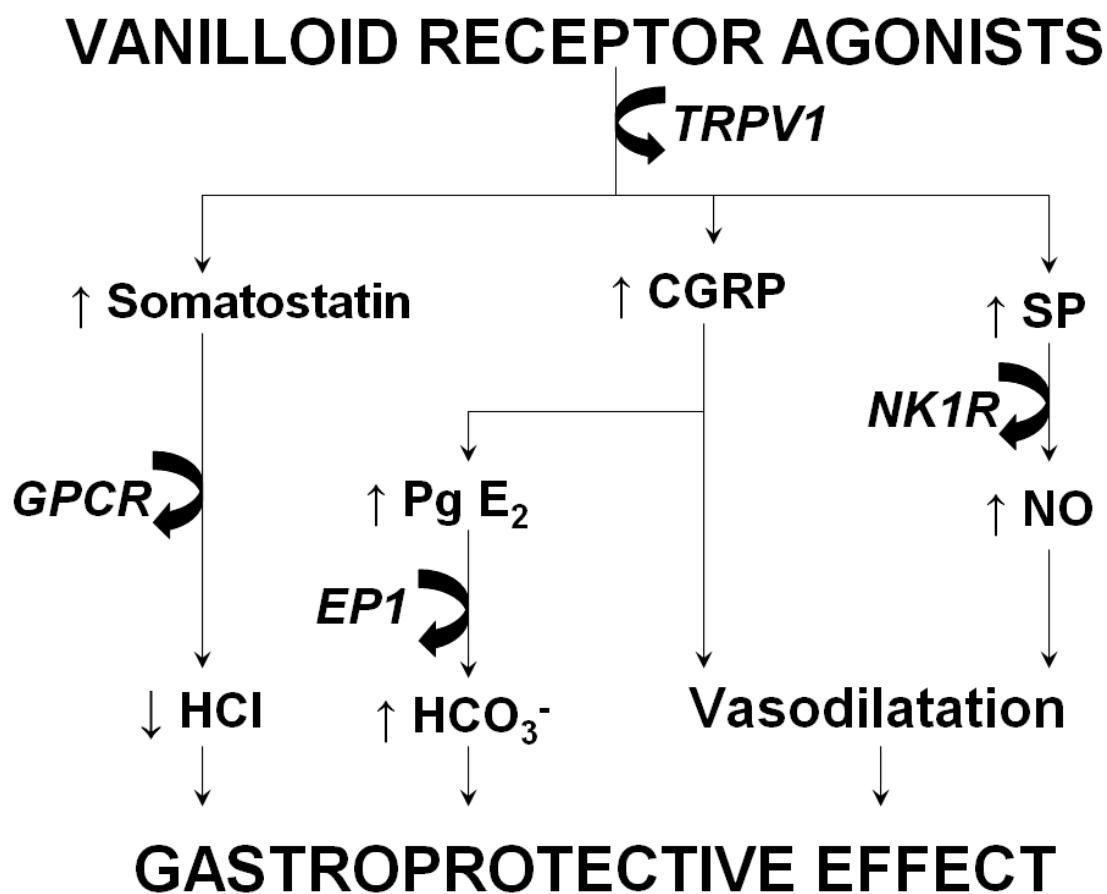


Рис. 7 Шляхи реалізації гастропротективної дії агоністів ванілоїдних рецепторів [29, 174, 184, 187, 216, 232].

Примітки:

1. TRPV₁ – ванілоїдні рецептори транзитивних потенціал-залежних катіонних каналів першого типу (*transient receptor potential cation channel subfamily V member 1*; альтернативна назва: ванілоїдні рецептори першого типу – *vanilloid receptor 1 (VR1)*);
2. CGRP – кальцитонін-ген споріднений пептид (*calcitonin gene related peptide*);
3. GPCR – G-білок споріднені рецептори (*G protein-coupled (linked) receptors (GPLR)*; альтернативні назви: рецептори з сімома трансмембранними доменами – *seven-transmembrane domain receptors (7TM)*, семиспіральні рецептори – *heptahelical receptors*, серпентинові рецептори – *serpentine receptor*);
4. Pg E₂ – простагландин E₂ (*prostaglandin E2*);
5. EP1 – рецептор простагландину E₂ першого типу (*Prostaglandin E₂ receptor 1 (PTGER1)*);
6. SP – субстанція P (*substance P*);
7. NK1R – рецептори нейрокініну першого типу (*neurokinin 1 receptor*; альтернативні назви: тахікінінові рецептори першого типу – *tachykinin receptor 1 (TACR1)*, рецептори до субстанції P – *substance P receptor (SPR)*).

Особливої уваги заслуговують дослідження **Satoh H.** та співав. (2021 р.) в яких встановлено, що здатність ІПП лансопризолу та омепразолу профілакувати формування НПЗЗ-індукованих виразок у мишей опосередкована активацією капсаїцин-чутливих аферентних нервових закінчень[226].

Зважаючи на механізми гастропротективної дії агоністів TRPV₁ (підвищення утворення NO, зниження утворення HCl та підвищення продукції HCO₃⁻) постає питання дослідження ефективності їх застосування в лікуванні та профілактиці розвитку гастропатії, індукованої НПЗЗ (рис. 7) [75, 188, 215].

В якості гастропротектора з можливим TRPV₁-опосередкованим механізмом дії привертає увагу новий вітчизняний ЛЗ з політропними фармакологічними ефектами вінборон (рис. 8), який за даними PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances)-прогнозу взаємозв'язку «молекулярна структура–активність» вірогідно може виступати TRPV₁-міметиком (Pa=0,490; Pi=0,008) [29, 31, 117].

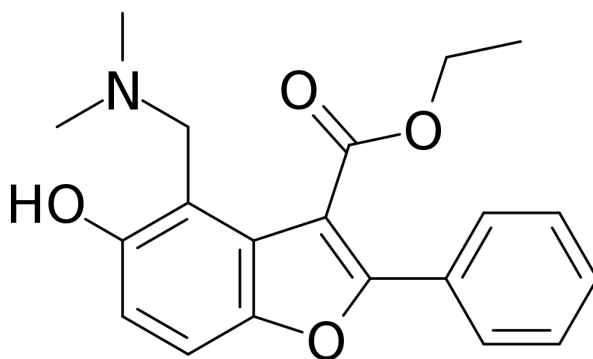


Рис. 8 Структурна формула вінборону

Вінборон (2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлорид) являє собою ресинтезований за новою технологією фахівцями Публічного акціонерного товариства "Науково-виробничий центр «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод»" (м. Київ) фенікаберан.

Вінборну притаманний комплекс цінних фармакологічних властивостей: спазмолітична, протизапальна, знеболююча (місцева та центральна), протиішемічна, антиоксидантна, антиагрегантна, імуномодельюча, протимікробна, токолітична, кардіопротекторна, церебропротекторна, стимулюючий вплив на мікроциркуляцію [117, 176]. При одночасному застосуванні вінборон здатен посилювати дію спазмолітиків, антиангінальних, гіпотензивних та антиагрегантних препаратів.

В експериментах на щурах доведено, що під впливом вінборону рубцювання АСК-індукованих виразок шлунка та ДПК, на відміну від ранітидину, завершується шляхом реституції СО без ознак запальної реакції в кінці лікування. При цьому вінборон викликає знеболюючий ефект. В умовах експериментальної ІНД-індукованої гастропатії у щурів вінборон послаблює прояви ульцерогенної дії, співставляючись з ранітидином та омепразолом за величиною зазначеного ефекту [117].

1.4 ПОЛІТРОПНІСТЬ БІОЛОГІЧНИХ ЕФЕКТІВ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ В СВІТЛІ ПАТОГЕНЕТИЧНИХ ЛАНОК НПЗЗ-ІНДУКОВАНОГО УЛЬЦЕРОГЕНЕЗУ

Новим перспективним напрямком підвищення безпечності НПЗЗ на сьогоднішній день є застосування засобів біологічної терапії, джерелами яких виступають мікроорганізми, органи та тканини рослинного або тваринного походження, клітини або рідини (у тому числі кров та плазму) людського або тваринного походження та біотехнологічні клітинні конструкції.

За даними літератури є доведеною ефективність застосування ряду біологічних препаратів в лікуванні виразкової патології в експерименті. Так, групою дослідників з Японії у 2019 р. експериментально доведена лікувальна дія мезенхімальних стромальних клітин, отриманих з жирової тканини, при НПЗЗ-індукованій гастропатії у свиней [259]. Слід зазначити, що авторами показана співставна ефективність як субмукозного введення мезенхімальних стовбурових клітин так й екстрактів зазначених клітин при експериментальній ІНД-індукованій гастропатії [259].

Аскарів М.Б. та співав. на моделі автоімунної виразки шлунка (субплантарне введення водно-сольової суміші розчину алогенного гомогенату СО та ад'юванту Фрейнда) показали ефективність аутологічних мезенхімальних стромальних клітин, отриманих з кісткового мозку [8]. Науковці тієї ж групи продемонстрували ефективність використання біорегуляторних пептидів з тканини селезінки (спленопід) на аналогічній моделі виразки у щурів. [8]. Дослідники встановили, що спленопід сприяє прискоренню зміні фаз процесу регенерації та переходу до проліферативно-репаративних процесів в ділянці виразкового дефекту [7].

Лоренц С.Е. та співав у 2018 р. показали, що введення пептидного комплексу з тканин свинячих нирок супроводжується послабленням вираженості запального процесу в ділянці ІНД-індукованого виразкового ураження, про що свідчили зниження концентрації ЦОГ-2 в СО шлунка, а також ослабленням оксидативного пошкодження клітин шлунка і посиленням їх ферментного антиоксидантного захисту [88].

Гулевський А.К. та співав. встановили, що внутрішньом'язове (в/м) введення низькомолекулярної фракції кордової крові (до 5 кДа) великої рогатої худоби щурам з експериментальною виразкою, індукованою АСК, прискорює процеси регенерації СОШ до повного загоєння виразкового ураження [52].

У якості засобу корекції ульцерогенної дії НПЗЗ нашу увагу привернув **кріоконсервований екстракт плаценти людини**.

Плацентарна терапія застосовується в комплексному лікуванні захворювань та регенерації тканин з початку ХХ століття [178]. У 1933 р. проф. Філатов В.П. запропонував використовувати препарати плаценти як допоміжну терапію при пересадці тканин, що дозволило йому у 1943 р. здійснити часткову наскрізну трансплантацію рогівки [178]. Перші повідомлення про противиразкову активність (ПВА) екстракту плаценти датуються 1969 р. Takagi K. та співав. встановили, що введення екстракту плаценти на моделі виразки шлунка у щурів, індукованої субсерозним введенням оцтової кислоти призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) загоєння дефектів СО вже на 15-й день експерименту [245].

Вперше кріоконсервований препарат плацентарної тканини людини отримано науковцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, які й розробили та впровадили в практику унікальну методику його тривалого зберігання у низькотемпературному середовищі. Це забезпечило першість України серед європейських країн за досвідом кріоконсервування біологічних тканин [45, 53, 68, 96, 108, 219].

Плацента є природним «депо» та продуцентом практично всього спектру біологічно активних речовин (табл. 6), що забезпечують ріст та розвиток плоду під час внутрішньоутробного розвитку. Вона забезпечує процеси трофіки та білковий синтез, газообмін, гормонovidілення та гормонорегуляцію, регуляцію кров'яного тиску, зсідання крові, антитоксичну функцію та виділення метаболітів, депонування біологічно активних речовин, імунну регуляцію, регуляцію процесів ПОЛ та ін. [45, 53, 132, 235].

**Біологічно активні речовини,
які містяться в кріоекстракті плаценти [45]**

Назва біологічно активних речовини	Характеристика	Вміст
-1-	-2-	-3-
α-фетопротеїн	Фактор росту ембріональних, трансформованих, активованих імунокомпетентних клітин	429 ± 75 мМЕ/мл
Хоріонічний гонадотропін	Активатор імунної системи, стимулює виробку стероїдних гормонів (тестостерон та естрадіол)	26,8 ± 8 мМЕ/мл
Естрадіол	Репродуктивна функція, кардіопротекторна дія	755 ± 48 пМоль/мл
Прогестерон	Репродуктивна функція, кардіопротекторна дія	226 ± 110 нМоль/мл
Пролактин	Вплив на розвиток вторинних статевих ознак, еритропоетична дія, регуляція жирового обміну	705 ± 129 мМЕ/мл
α-мікроглобуліну фертильності	Підготовка до вагітності, процес зачаття, нормальний розвиток фетоплацентарної одиниці	1470 ± 173 нг/мл
Лактоферин	Стимуляція лактації	1270 ± 223 нг/мл
Соматотропний гормон	Гормон росту, анаболічна дія	5,64 нг/мл
Лютеїнізуючий гормон	Гормон гіпофізу, секреція естрогенів, прогестерону, тестостерону	7,8 ± 1,9 МЕ/л
Фолікулостимулюючий гормон	Гормон гіпофізу, сприяє дозріванню фолікулів та сперматогенезу	7,1±2,3 мМЕ/л
Тестостерон	Диференціювання та функціонування репродуктивної системи, анаболічна дія	3,68 ± 1,06 нМоль/мл
Тиреотропний гормон	Стимуляція функції щитоподібної залози, імуномодельюча дія	291±13 мМЕ/л
Трийодтиронін	Стимуляція обміну речовин, росту та диференціювання тканин, процеси розмноження, гемопоез	2,1 ± 0,6 пМоль/л
Тироксин	Стимуляція обміну речовин, росту та диференціювання тканин, процеси розмноження, гемопоез	5,6 ± 0,99 пМоль/л

Продовження таблиці 6

-1-	-2-	-3-
Кортизол	Обмін білків, вуглеводів, жирів та нуклеїнових кислот	1392 ± 515 нМоль/мл
Колонієстимулюючий фактор	Проліферація клітин кісткового мозку	9,87 нг/мл
ФНП-α	Інгібітор проліферації ракових клітин	84,5 пкг/мл
ІЛ1β	Регуляція диференціювання поліпотентних стовбурових клітин, імуноендокринної системи	201,7 пкг/мл
ІЛ4	Регуляція диференціювання поліпотентних стовбурових клітин, імуноендокринної системи	21,7 пкг/мл
ІЛ6	Регуляція диференціювання поліпотентних стовбурових клітин, імуноендокринної системи	114,9 пкг/мл
Загальний білок	Пластична функція	76,5 ± 14 мг/1 г ваги
Білки з молекулярною масою 20–100 кДа	Пластична функція	70–80 %
Білки з молекулярною масою до 20 кДа	Пластична функція	20–30 %

Добре відомо, що у плаценті дуже висока активність ряду ферментів: дихальні ферменти (моноамінооксидаза, система цитохромоксидаз), каталаза, НАД- і НАДФ-діафори, сукцинатдегідрогеназа, системи гістамін-гістаміназа, ацетилхолін-ацетилхолінестрераза, фактори згортання крові та фібринолізу та ін. В плаценті також відбувається синтез білків, що відносяться до класу ІЛ – ІЛ1, ІЛ6, ІЛ8, ІЛ2, однією з функцій яких є індукція гуморальних факторів неспецифічної резистентності, а секретований клітинами трансформуючий фактор росту стимулює репарацію за рахунок активації мезенхімальних клітин та процесів неоваскуляризації [45, 219]. Крім того до складу препаратів плаценти входить ряд факторів росту: гепатоцитів (HGF), інсуліноподібний (IGF), фібробластів (FGF), епідермальний (EGF), нервів (NGF), колонієстимулюючий (CSF) та ін. [45].

Важливо й те, що плацента є джерелом системних білкових та стероїдних гормонів, цитомединів, імунних факторів та ін. [45, 219]. У тканинах плаценти синтезується пептиди, які є структурними

аналогами ендорфінів та енкефалінів, які регулюють імунну відповідь клітинного та гуморального типу.

Ряд досліджень демонструють наявність протизапальної активності (ПЗА) у кріоконсервованих препаратів плаценти [203, 210]. Це спонукало дослідників до вивчення ефективності застосування КЕП в умовах запальних процесів різної етіології. Білаш С.М. та співав. довели доцільність застосування кріоконсервованої плаценти у комплексній терапії гострого λ-карагінен-зумовленого запалення шлунка [14]. Гуліда М.О. та співав. продемонстрували клінічну ефективність КЕП за внутрішньосуглобового введення пацієнтам, хворим на РА [53]. Капустянська А.А. та співав. встановили, що доповнення схеми лікування подагричного артриту КЕП у пацієнтів з ожирінням призводить до нормалізації ліпідного та пуринового обмінів у цих пацієнтів [68]. Шепітько К.В. встановлено ефективність використання препаратів плаценти в умовах експериментального гострого асептичного перитоніту за даними патоморфологічних досліджень СО кишківника [135, 136].

Окремим напрямком досліджень стало вивчення доцільності застосування КЕП в лікуванні розладів репродуктивної системи. Так, Грищенко М.Г. та співав. довели ефективність застосування КЕП для індукції ефективної суперовуляції на моделі хронічного запалення яєчників у мишей [46]. Застосування кріоконсервованих препаратів плаценти чинило лікувальну дію за антифосфоліпідного синдрому, а також вони успішно використовувались з метою імунізації вагітних [89, 105]. Репін М.В. та співав. показали здатність КЕП чинити нефропротекторну дію шляхом нормалізації морфофункціонального стану нирок [107]. За даними Ковальова Г.А. та співав. препарати плаценти проявляють виразний стимулюючий вплив на процеси репарації на моделі холодних ран, зокрема шляхом зменшення мікробного обсеменення [77]. Ліхницький О.О. та співав. довели стимулюючий вплив кріоконсервованих препаратів плаценти на процеси проліферації та диференціювання клітинних та тканинних компонентів кісткової тканини в динаміці репаративного остеогенезу після травматичного ушкодження [87]. Окремі дослідження демонструють наявність кардіопротекторних властивостей у кріоконсервованих препаратів плаценти [78, 134].

Наведені дослідження вказують на широкий спектр біологічної активності КЕП та полівекторність його дії – ПЗА, антиоксидантна, імономодельюча, репаративна, нефропротекторна, метаболотропна, остеотропна, кардіопротекторна та ін.

ГЛАВА 2

ВПЛИВ АКТИВАЦІЇ ВАНІЛОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ НА ФАРМАКОДИНАМІКУ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА ІБУПРОФЕНУ

2.1 МЕХАНІЗМИ АНТИУЛЬЦЕРОГЕННОЇ ДІЇ АГОНІСТІВ ВАНІЛОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ НА МОДЕЛІ ГАСТРОПАТІЇ, ІНДУКОВАНОЇ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЮ КИСЛОТОЮ

Дослідження проведено на 35 статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г, розділених на 5 груп: I – інтактні щури (n=7); II (контроль) – щури (n=7) з експериментальною гастропатією, індукованою АСК (150 мг/кг, в/шл) без корекції; III – щури (n=7) з АСК-індукованою гастропатією (150 мг/кг, в/шл), яким превентивно вводили омепразол (50 мг/кг, в/шл); IV (n=7) – щури з АСК-індукованою гастропатією (150 мг/кг, в/шл), яким превентивно вводили ванілін (100 мг/кг, в/шл); V (n=7) – щури з експериментальною АСК-індукованою гастропатією (150 мг/кг, в/шл), яким превентивно вводили ванілін (100 мг/кг, в/шл) в комбінації з омепразолом (50 мг/кг, в/шл).

Гастропатію, індуковану АСК, моделювали шляхом п'ятиденного в/шл введення за допомогою орогастрального зонду суспензії АСК (Байєр Біттерфельд ГмбХ, Німеччина) 150 мг/кг/день [118]. За 24 год. до початку експерименту тварин утримували в метаболічних клітинах в умовах харчової депривації з вільним доступом до води. Інтактним тваринам (без гастропатії) 2 р/д вводили воду *pro injectionibus* (0,2 мл/кг, в/шл), щурам контрольної групи (АСК-індукована гастропатія без лікування) за 60 хв. до АСК вводили в/шл еквіоб'ємну кількість води *pro injectionibus* (ПАТ «Галичфарм», Україна).

Омепразол (ПАТ «Фармак», Україна) та ванілін вводили у вигляді суспензій за 60 хв. до АСК. Дози омепразолу (50 мг/кг, в/шл) і ваніліну (100 мг/кг, в/шл) були запозичені з літературних джерел [184, 258].

Для приготування суспензій АСК, омепразолу і ваніліну застосовували емульгатор поліоксиетилен (20) сорбітан моноолеат (Tween-80) і воду pro injectionibus (ПАТ «Галичфарм», Україна).

На 5 день експерименту через 6 год. після останнього введення АСК тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під легким ефірним наркозом.

Оцінку стану СОШ проводили за бальною шкалою Яковлевої Л. В. (табл. 7) [27, 119]

Таблиця 7

Бальна оцінка стану СО шлунка

Бали	Характеристика стану СОШ
0	Відсутність видимих ушкоджень.
1	Наявність однієї або декількох ознак з переліку: набряк, крововилив(и), виразка(и) діаметром до 1 мм до трьох штук.
2	Більше трьох виразок діаметром до 1 мм або одна виразка діаметром до 3 мм.
3	Наявність бодай однієї виразка діаметр до 4 мм.
4	Декілька виразок діаметром до 4 мм.
5	Перфоративна виразка.

Розрахунок інтегрального показника стану СОШ – виразкового індексу (ВІ) проводили за формулою 2.1:

$$\text{ВІ} = \frac{\text{Середній бал за шкалою Яковлевої Л.В.} \times \% \text{ тварин з виразками}}{100} \quad (2.1)$$

Біохімічні дослідження

Матеріалом дослідження слугували гомогенати СОШ. Для отримання гомогенату СОШ перфузували холодним (+ 4 °С) ізотонічним 1,15 % розчином КСІ та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину при співвідношенні 1:10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15 % розчину КСІ), отримуючи 10,0 % гомогенат.

1. **Вміст малонового діальдегіду (МДА) в сироватці крові** визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. [147] за реакцією з тіобарбітуровою кислотою та розраховували за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 535$ нм, враховуючи коефіцієнт молярної екстинкції забарвленого у червоний колір комплексу, який дорівнює $1,56 \times 10^5$ моль⁻¹ / см⁻¹ та виражали у мкмоль/л. **Вміст МДА у СОШ** виражали у мкмоль/кг тканини.
2. **Активність каталази (КФ 1.11.1.6) у СОШ** визначали спектрофотометрично за методом Корольюк М.А. та співав. [79] за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 410$ нм, порівнюючи досліджувану пробу (0,1 мл сироватки крові + 2 мл 0,03 % H₂O₂) з контрольною (0,1 мл сироватки крові + 2,0 мл H₂O). Метод ґрунтується на здатності каталази розкладати H₂O₂ та утворювати стійкий комплекс жовтого кольору з амоній молібдатом (4,0 % – 1,0 мл), який додають для зупинки реакції H₂O₂ з каталазою. Активність каталази розраховували за формулою: $AK = (E_k - E_d) \times V \times t \times k$, де АК – активність каталази; E_k – екстинкція (екст.) контрольної проби (2,0 мл H₂O), од. екст.; E_d – екстинкція досліджуваної проби (2 мл 0,03 % H₂O₂), од. екст.; V – об'єм проби, мл (0,1 мл); t – час інкубації; k – коефіцієнт молярної екстинкції H₂O₂ ($22,2 \times 10^3$ М⁻¹см⁻¹). Каталазну активність виражали у мкат/кг тканини. [67]

АПІ розраховували за формулою 2.2:

$$AP\text{I} = \frac{\text{Активність каталази} \times 100}{\text{Вміст МДА}} \quad (2.2)$$

3. **Вміст метаболітів NO у СОШ** визначалась спектрофотометричним методом, який ґрунтується на окисненні НАДФН у процесі реакції утворення NO з L-аргініну. Зменшення НАДФН реєстрували за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 340$ нм. [121]. Активність NO-синтаз виражали у ммоль/г тканини

Методи статистичної обробки

Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel 2003; 2013» (*Microsoft Corporation, США*) у середовищі Windows 10 (*Microsoft Corporation, США*). Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілка (*Shapiro-Wilk test*, $n < 50$). Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена (*Levene's test*). Для оцінки значущості виявлених відмінностей досліджуваних показників за різних умов експерименту проводили статистичний аналіз з використанням параметричних або непараметричних критеріїв.

При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Ст'юдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U-критерієм Манна-Уїтні (*Mann-Whitney*). Співставлення показників однієї групи при повторюваних вимірюваннях за різних умов експерименту проводили за непараметричним T-критерієм Вілкоксона (*Wilcoxon T test*). Отримані значення порівнювали з критичними при рівні вірогідності вище 95,0% ($p < 0,05$), вище 99,0% ($p < 0,01$), вище 99,5% ($p < 0,005$) та вище 99,9% ($p < 0,001$) та робили висновок про ймовірність похибки. Вірогідність відмінностей між відсотковими частками якісних параметрів в альтернативній формі визначали за значенням F-критерію кутового перетворення Фішера (*F-test*). Отримані значення порівнювали з критичними значеннями при рівні вірогідності вище 95,0% ($p < 0,05$) та вище 99,0% ($p < 0,01$).

Для оцінки зв'язку між змінними за умови нормального розподілу величин проводили однофакторний кореляційний аналіз за Пірсоном (*Pearson*) або ранговий кореляційний аналіз за Спірманом (*Spearman*) при ненормальному розподілі. За значенням абсолютної величини коефіцієнта Пірсона (r) або коефіцієнту Спірмана (ρ) характеризували кореляційний зв'язок та вказували ймовірність похибки (p) виявлених зв'язків. Характер напрямку зв'язку визначали залежно від знаку коефіцієнта кореляції: прямий зв'язок при позитивному знаку (+) та зворотній у разі негативного знаку (-).

Цифрові данні у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді « $M \pm m$ » ($M \pm SE$), де M – середнє арифметичне значення, m

(SE) – стандартна похибка середнього арифметичного або M (95 % ДІ: 5% – 95 %), де 95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал (Confidence interval – CI). При ненормальному розподілі отриманих величин дані представлено у вигляді $Me [LQ; UQ]$, де Me – медіана, $[LQ; UQ]$ – верхня межа нижнього квартиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього квартиля (upper quartile – UQ) – 25 та 75 процентилі [119].

Біоетичні аспекти дослідження

Всі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами виконано з урахуванням вимог належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice), відображених в настанові «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика», затвердженої Законом України наказом МОЗ України № 95 від 16 лютого 2009 р. і з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Дослідження гомогенатів СОШ щурів з АСК-гастропатією без корекції показало (табл. 8), що на 5 день експерименту рівень МДА статистично вірогідно ($p \leq 0,001$) збільшився на $132,9 \pm 22,8$ %, а активність каталази знизилась ($p \leq 0,001$) на $38,0 \pm 4,5$ % щодо показників інтактних тварин ($9,7 \pm 0,35$ (95% ДІ: 9,1–10,4) мкмоль/кг та $3,4 \pm 0,11$ (95% ДІ: 3,2–3,7) мкат/кг) і становили відповідно $22,3 \pm 1,76$ (95% ДІ: 18,9–25,8) мкмоль/кг та $2,1 \pm 0,20$ (95% ДІ: 1,7–2,5) мкат/кг. Слід зазначити, що між рівнем МДА та активністю каталази мала місце статистично вірогідний ($p = 0,0005$) сильний зворотній ($r = -0,96 \pm 0,12$) кореляційний зв'язок.

Дані зміни призвели до зниження АПІ (табл. 9) на $70,5 \pm 5,1$ %, що вказувало на розвиток дисбалансу прооксидантно-антиоксидантної системи в СОШ.

**Вплив ваніліну та омепразолу на рівень МДА та активність каталази в СОШ щурів з гастропатією, індукованою АСК
($M \pm m$ (95% ДІ); $n=35$)**

№ з/п	Умови експерименту	n	Малоновий діальдегід, мкмоль/кг	Каталаза, мкат/кг
I	Інтактні щури	7	9,7±0,35 (9,1-10,4)	3,4±0,12 (3,2-3,7)
II	Контроль (АСК 150 мг/кг, в/шл)	7	22,3±1,76 (18,9-25,8) $p_1 \leq 0,001$ (+132,9±22,8%)	2,1±0,20 (1,7-2,5) $p_1 \leq 0,001$ (-38,0±4,5%)
III	Омепразол (50 мг/кг, в/шл) + АСК (150 мг/кг, в/шл)	7	13,5±0,65 (12,2-14,8) $p_1 \leq 0,01$ (+40,7±11,0%) $p_2 \leq 0,01$ (-38,1±3,9%)	2,9±0,27 (2,3-3,4) $p_1 \geq 0,05$ (-16,2±6,5%) $p_2 \leq 0,05$ (+34,9±1,5%)
IV	Ванілін (100 мг/кг, в/шл) + АСК (150 мг/кг, в/шл)	7	15,6±0,68 (14,3-17,0) $p_1 \leq 0,001$ (+60,8±9,1%) $p_2 \leq 0,01$ (-26,4±8,5%)	2,7±0,26 (2,2-3,2) $p_1 \leq 0,01$ (-20,1±5,9%) $p_2 \geq 0,05$ (+29,0±2,1%)
V	Ванілін (100 мг/кг, в/шл) + Омепразол (50 мг/кг, в/шл) + АСК (150 мг/кг, в/шл)	7	11,6±0,47 (10,6-12,5) $p_1 \leq 0,01$ (+19,5±5,7%) $p_2 \leq 0,001$ (-6,2±4,9%) $p_3 \leq 0,05$ (-12,7±6,4%)	3,1±0,31 (2,5-3,7) $p_1 \geq 0,05$ (-8,4±7,3%) $p_2 \leq 0,05$ (+47,3±2,6%) $p_3 \geq 0,05$ (+9,2±1,3%)

Примітка. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння.

**Вплив ваніліну та омепразолу
на антиоксидантно-прооксидантний гомеостаз
та вміст метаболітів оксиду азоту в СОШ щурів
з гастропатією, індукованою АСК ($M \pm m$ (95% ДІ); $n=35$)**

№ з/п	Умови експерименту	n	Антиоксидантно-прооксидантний індекс	Вміст метаболітів NO, ммоль/г тканини
I	Інтактні щури	7	35,0±0,63 (33,8-36,3)	902,4±34,95 (833,9-970,9)
II	Контроль (АСК 150 мг/кг, в/шл)	7	10,2±1,66 (7,0-13,5) $p_1 \leq 0,001$ (-70,5±5,1%)	525,7±40,61 (446,1-605,3) $p_1 \leq 0,001$ (-40,5±6,3%)
III	Омепразол (50 мг/кг, в/шл) + АСК (150 мг/кг, в/шл)	7	22,0±2,93 (16,2-27,7) $p_1 \leq 0,001$ (-36,7±9,1%) $p_2 \leq 0,001$ (+123,5±5,8%)	697,6±34,26 (630,4-764,7) $p_1 \leq 0,01$ (-21,6±5,9%) $p_2 \leq 0,01$ (+35,9±8,5%)
IV	Ванілін (100 мг/кг, в/шл) + АСК (150 мг/кг, в/шл)	7	17,6±1,46 (14,7-20,4) $p_1 \leq 0,001$ (-49,7±4,5%) $p_2 \leq 0,01$ (+87,9±19,7%)	841,4±35,95 (771,0-911,9) $p_1 \geq 0,05$ (-6,2±4,7%) $p_2 \leq 0,001$ (+68,0±19,1%)
V	Ванілін (100 мг/кг, в/шл) + Омепразол (50 мг/кг, в/шл) + АСК (150 мг/кг, в/шл)	7	27,4±2,90 (21,7-33,1) $p_1 \leq 0,05$ (-21,3±8,9%) $p_2 \leq 0,001$ (+185,0±20,3%) $p_3 \geq 0,05$ (+28,8±8,5%)	927,4±34,78 (859,2-995,5) $p_1 \geq 0,05$ (+3,8±5,9%) $p_2 \leq 0,001$ (+82,9±16,3%) $p_3 \leq 0,001$ (+35,6±10,2%)

Примітка. Індексами p_1, p_2, p_3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння.

Вміст метаболітів NO в СОШ в умовах АСК-індукованої гастропатії статистично вірогідно ($p \leq 0,001$) знизилося на $40,5 \pm 6,3$ % щодо показників інтактних щурів ($902,4 \pm 34,95$ (95% ДІ: 833,9–970,9) ммоль/г) та становив $535,7 \pm 40,65$ (95% ДІ: 446,7–605,3) ммоль/г тканини.

Застосування омепразолу призвело до значного послаблення ульцерогенної дії АСК ($BI = 1,4$) і нівелювання оксидативного стресу в СОШ ($API = 22,0 \pm 2,93$, що підтверджувалось зниженням рівня МДА на $38,1 \pm 3,9$ % ($p \leq 0,01$) та підвищенням активності каталази на $34,9 \pm 1,5$ ($p \leq 0,05$) щодо показників тварин з АСК-гастропатією без лікування. Це пояснюється пригніченням продукції НСІ парієтальними клітинами шлунка і, як наслідок, зниженням кислотності шлункового соку, який виступає провідним пошкоджуючим фактором, в умовах зниження захисного бар'єру СОШ під дією АСК (див. табл. 8, 9).

Також було встановлено, що вміст метаболітів NO в СОШ на тлі застосування омепразолу зріс на $35,9 \pm 8,5$ % ($p \leq 0,01$) щодо показників тварин контрольної групи ($527,7 \pm 40,61$ (95% ДІ: 446,1–605,3) ммоль/г) і склав $697,6 \pm 34,26$ (95% ДІ: 630,4–764,7) ммоль/г тканини (див. табл. 9).

Превентивне застосування агоніста $TRPV_1$ ваніліну (100 мг/кг) супроводжувалось статистично вірогідним ($p \leq 0,05$) підвищенням API СОШ на $87,9 \pm 19,7$ % відносно аналогічного показника у тварин контрольної групи ($API = 9,4$), що вказувало на нормалізацію балансу про- і антиоксидантних процесів (див. табл. 8, 9).

Введення ваніліну призвело до статистично вірогідного ($p \leq 0,001$) підвищення на $68,0 \pm 19,1$ % вмісту метаболітів NO в СОШ щодо показників тварин контрольної групи з АСК-гастропатією і становив $841,4 \pm 35,95$ (95% ДІ: 771,0–911,9) ммоль/л, що практично зіставлялось з показниками інтактних щурів ($902,4 \pm 34,95$ ммоль/г) та значно перевищувало показники групи монотерапії омепразолом ($697,6 \pm 34,26$ (95% ДІ: 630,4–764,7) ммоль/г тканини).

При комбінованому застосуванні омепразолу і ваніліну антиульцерогенна дія ($BI = 0,8$) перевершувала ефективність монотерапії омепразолом і монотерапії ваніліном. Підвищення API на $28,8 \pm 8,5$ % ($27,4 \pm 2,9$) переважало показники монотерапії омепразолом ($22,0 \pm 2,93$) і практично зіставлялось з показниками (див. табл. 2) інтактних тварин ($35,0 \pm 0,63$). Слід зазначити, що на тлі комбінованого застосування ваніліну і омепразолу було відзначено підвищення вмісту NO в СОШ (див. табл. 9) на $82,9 \pm 16,3$ % ($p \leq 0,001$) щодо показників тварин контрольної групи ($697,6 \pm 34,26$ ммоль/г) і становив $927,4 \pm 34,78$ (95% ДІ: 859,2–995,5) ммоль/г.

2.2 ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ ІБУПРОФЕНОМ ТА ЙОГО КОМБІНАЦІЄЮ З ВІНБОРОНОМ ЗА ДАНИМИ КОНУСНО-ПРОМЕНЕВОЇ КОМП'ЮТЕРНОЇ ТОМОГРАФІЇ, ЦИФРОВОЇ РЕНТГЕНОГРАФІЇ ТА ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проведено на 28 статевозрілих нелінійних щурах-самцях з масою тіла 180–220 г. Піддослідні тварини були розділені на 4 групи: I – інтактні щури (n=7), II – щури зі змодельованим АА (n=7) без лікування (контроль), III – щури з АА (n=7), ліковані ІБП (218 мг/кг, в/шл), IV – щури з АА (n=7) ліковані ІБП в/шл (218 мг/кг) в комбінації з вінбороном (11 мг/кг, в/шл).

Модель хронічного імунного запалення (ад'ювантний артрит (АА) у щурів)

Для відтворення умов введення щурам НПЗЗ, відповідних їх клінічному застосуванню нами було обрано модель експериментального РА – АА у щурів, яка має всі морфофункціональні ознаки РА та супроводжується типовою реакцією, основною ланкою якої є Т-клітинний імунітет. АА моделювали шляхом субплантарного введення повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ; *Thermo Fisher Scientific, США*) в задню праву кінцівку з розрахунку 0,1 мл на щура [119]. ПАФ вміщує дезактивовану нагріванням вакцину БЦЖ (*від BCG – Bacillus Calmette-Guerin*) або полісахариди, отримані з мікобактерій туберкульозу (*Mycobacterium tuberculosis*), складні жирні кислоти (деривати ланоліну), олії та емульгатор у співвідношенні: 10 мл ПАФ = 5 мл безводного ланоліну + 15 мл вазелінової олії + 50 мг вбитої нагріванням вакцини БЦЖ. Використання ПАФ сприяє індукції гіперчутливості уповільненого типу та розвитку аутоімунних процесів. При цьому вражаються переважно предплюсне-плюсневі, міжплюсневі, п'ясно-фалангові та кульшові суглоби задніх кінцівок, а також зап'ясно-п'ясні, міжп'ясні, п'ясно-фалангові та плечові суглоби передніх кінцівок у щурів.

Гостра фаза запального аутоімунного процесу триває до 14 доби, далі спостерігається генералізація (або маніфестація) АА, що характеризується розповсюдженням набряків на численні суглоби, в тому числі – суглоби контрлатеральної лапи, ураженням різних

органів та систем, проявами морфофункціональних змін. З літературних джерел відомо, що розвиток АА супроводжується ураженням переважно плесно-передплеснових (*articulationes (art.) tarsometatarsae*), міжплеснових (*art. intermetatarsales*), плесново-фалангових (*art. metatarsophalangeae*) та кульшових суглобів (*art. coxae*) задніх кінцівок, а також зап'ястково-п'ясткових (*art. carpometacarpeae*), міжп'ясткових (*art. intermetacarpeae*), п'ястково-фалангових (*art. metacarpophalangeae*) та плечових суглобів (*art. humeri*) передніх кінцівок у щурів [115]. З 28–30 доби експерименту відбувається хронізація запального процесу. [170].

День введення ПАФ приймали за «0» день експерименту. Максимальний прояв місцевої запальної реакції, яка супроводжувалась значним збільшенням об'єму кінцівки визначався на 12–14 добу, далі активність запального процесу поступово зменшувалась [49, 111, 133, 170].

За даними. Nanjundaiah S.M. та співав. (2013 р.) процес запалення може спричиняти пошкодження кісткової тканини, що обумовлено спільними імунними медіаторами, серед яких ліганд-активатора рецепторів ядерного фактора κВ (Receptor activator of nuclear factor kappa-B (NF-κB) ligand – RANKL, інші назви: tumor necrosis factor ligand superfamily member 11 – TNF SF11, TNF-related activation-induced cytokine – TRANCE, osteoprotegerin ligand – OPLG, osteoclast differentiation factor – ODF), який, зв'язуючись з NF-κB рецептором RANK (Receptor activator of NF-κB), регулює процес диференціювання та активації остеобластів; прозапальні цитокіни (фактор некрозу пухлин (Tumor necrosis factor- α (*alpha*) – TNF-α), ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-17 та ІЛ-18) та матрикс-руйнуючі ферменти – матричні металлопротеїнази (matrix metalloproteases – MMPs) і катепсина К (cathepsin K – Cat K) та ін. [218, 246].

Різниця цільової концентрації речовин в крові ссавців та людини, яка залежить від інтенсивності їх надходження та елімінації, обумовлює видові відмінності в дозах лікарських препаратів для досягнення еквівалентних ефектів. Тому для екстраполяції середньотерапевтичних доз для людини на ізоефективні дози для щурів нами здійснено перерахунок за методом Риболовлева Ю.Р. та співав. із використанням коефіцієнту видової витривалості (R), який обчислюється за формулою 2.3 [109]:

$$R = \sqrt{Q \times V / Kc} \quad (2.3)$$

де R – коефіцієнт видової витривалості;
 Q – основний обмін, ккал/кг × год;
 V – об'єм серцевої діяльності, л/кг × год;
 Kc – коефіцієнт церебрації (Kc = маса мозку, г / маса тіла, кг).

Показник $\sqrt{Q \times V}$ характеризує витривалість організму до дії хімічної речовини, а коефіцієнт церебрації (Kc) дозволяє врахувати можливі зміни у функціонуванні регуляторних механізмів нервової системи в підтримці гомеостазу.

Так для щурів:

$$R = \sqrt{(4,8 \text{ ккал} / \text{кг} \cdot \text{год} \times 23,0 \text{ л} \cdot \text{кг} / \text{год}) / (1,68 \text{ г} / 0,2 \text{ кг})} = 3,62;$$

для мишей:

$$R = \sqrt{(7,1 \text{ ккал} / \text{кг} \cdot \text{год} \times 30,0 \text{ л} \cdot \text{кг} / \text{год}) / (0,42 \text{ г} / 0,02 \text{ кг})} = 3,20;$$

для людини:

$$R = \sqrt{(1,02 \text{ ккал} / \text{кг} \cdot \text{год} \times 6,4 \text{ л} \cdot \text{кг} / \text{год}) / (1400 \text{ г} / 70,0 \text{ кг})} = 0,57 [109].$$

Згідно методики, доза для тварин (D₂) вираховується згідно пропорції:

$$\frac{D_1}{R_1} = \frac{D_2}{R_2}$$

за формулою 2.4:

$$D_2 (\text{мг/кг}) = (D_1 (\text{мг/кг}) \times R_2) / R_1 \quad (2.4)$$

де D₁ – доза для людини, мг/кг маси тіла;
 D₂ – доза для тварин, мг/кг маси тіла;
 R₁ – константа видової витривалості для людини;
 R₂ – константа видової витривалості для тварин.

Для щурів співвідношення R₂/R₁ = 6,35.

Доза ІБП для людини 2400 мг на добу (0,8 г по 3 р/д), яка володіє достатньою протизапальною активністю і рекомендована для лікування РА [72], при перерахунку відповідає ізоефективній дозі для щурів 218 мг/кг: $((2400 \text{ мг} / 70 \text{ кг}) \times 3,62) / 0,57 = 218 \text{ мг} / \text{кг}$

ІБП (ЗАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна), вводили в/шл у вигляді суспензії на основі полісорбату Twin-80 (поліоксіетилен-20-сорбітанмоноолеат) та води *pro injectionibus* (ПАТ «Галичфарм», Україна).

Доза вінборону (ПАТ "НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) для людини 120 мг на добу (0,04 г по 3 р/д), яка рекомендована до застосування в лікуванні хворих на виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки [117] відповідає дозі для щурів 11 мг/кг ($((120\text{мг} / 70\text{кг}) \times 3,62) / 0,57 = 11\text{мг} / \text{кг}$).

Вінборон, розчинений у воді *pro injectionibus* (ПАТ «Галичфарм», Україна), вводився за 60 хв. до введення ІБП, двічі на добу.

Евтаназію тварин проводили на 28 добу експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним трихлорметановим (CHCl_3) наркозом після чого виконували ампутацію задніх кінцівок на рівні кульшових суглобів (*art. coxae*) з подальшою фіксацією матеріалу у 10,0 % водному розчині нейтрального формаліну. Гомілковостопні суглоби піддавали декальцинації. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксилином і еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, основним коричневим за Шубічем, комбінацією основного коричневого та міцного зеленого барвника, ШИК-реакції з альціановим синім [2]. Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1 мм²).

За даними Aurell Y. та співав. (2014 р.) [148] в діагностиці РА найінформативнішим методом інструментальної діагностики є комп'ютерна томографія. Зважаючи на малі розміри досліджуваного матеріалу нами було виконано конусно-променеву комп'ютерну томографію (КПКТ). Дослідження проведено на базі Центру медичної 3D діагностики, (м. Львів, Україна) за допомогою цифрового панорамного конусно-променевого томографу Point 3D Combi 500 (*PointNix, Південна Корея*), використовуючи площинний сенсор з ділянкою сканування 9×12 см і променевим навантаженням 30–100 мкЗв [1]. Сканування проводили з напругою 52,0 kV та силою тока 6,0 mA, які були визначені нами емпірично, як оптимальні для дослідження задніх кінцівок щурів. Мультиплантарну реконструкцію (Multi-Planar Reconstruction – MPR) кісткових структур високої роздільної здатності здійснювали за допомогою програмного забезпечення «RealScan – CD Viewer» [28].

Щільність кісткових структур визначали в режимі «Profile» за шкалою Hounsfield N.D. (1976 р.) від -1023 до +3000 одиниць [249].

Інтегральну оцінку щільності кісткової тканини досліджуваних суглобів проводили шляхом розрахунку усередненого значення трьох пікових позитивних показників кожного кісткового елемента за алгоритмом: два максимальних та одне мінімальне в центральній частині гістограми. Товщина зрізу становила 2 мм, що дозволило захопити весь суглоб у сагітальній площині і тим самим максимально показати його у фронтальній площині, де проводилися заміри. Для мінімізації згинального спотворення було проведено вирівнювання площинних вісей по анатомічних структурах суглобів. Решта вісей були виставлені максимально поздовжньо трубчастим кістками, що також сприяло мінімізації проєкційного спотворення.

За допомогою програмного забезпечення «RealScan – CD Viewer» (*PointNix, Південна Корея*) проводили вимірювання ширини та висоти суглобу, а також визначали ширину суглобової щілини (рис. 9).



Рис. 9 Конусно-променева томограма стопи щура у вікні програми «RealScan – CD Viewer»

Вимірювання досліджуваних показників проведено за уніфікованим алгоритмом: ширину суглобу визначали у фронтальній площині, з попереднім налаштуванням векторних ліній паралельно поздовжнім осям кісткових структур ділянки дослідження та збільшенням товщини відображення зрізу до 2 мм. Вимірювання висоти суглобу було проведено по його середній частині в сагітальній площині з попереднім налаштуванням сагітального вектору паралельно поздовжній осі проксимальної трубчастої кістки, з додатковим збільшенням товщини відображення зрізу до 2 мм. Ширину суглобової щілин вимірювали між замикаючими пластинками суглобових поверхонь у фронтальній (рідше – сагітальній) площині з попереднім налаштуванням векторних ліній, за вищевказаною методикою. Запропонований алгоритм дозволяв мінімізувати явища просторового накладення анатомічних структур.

Для інтегральної характеристики лінійних розмірів суглобів задніх кінцівок щурів нами була запропонована формула розрахунку об'єму суглоба. Умовно було обрано циліндр, як найближчу фігуру яка відповідає просторовій організації дрібних суглобів (рис. 10) [28].

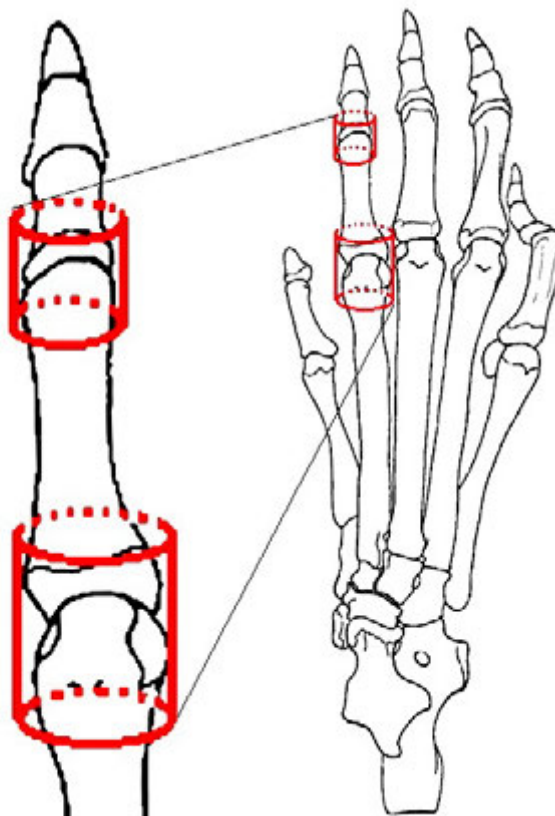


Рис. 10 Оцінка об'єму дрібних суглобів за допомогою геометричного моделювання на прикладі плесно-фалангового та проксимального міжфалангового суглобів другого пальця задньої правої кінцівки щура

За висоту циліндру приймали висота суглобу. Радіус циліндру розраховували як половину ширини суглобу, яку вимірювали у фронтальній площині ($R = \frac{1}{2}$ ширини суглобу, мм). Об'єм розраховували за формулою 2.5:

$$V = \pi \times R^2 \times h \quad (2.5)$$

де V – об'єм суглобу, мм³;

π – математична константа, яка відображає співвідношення довжини кола до його діаметру та становить 3,14;

R – радіус кола в основі циліндру ($\frac{1}{2}$ ширини суглобу, мм);

h – висота циліндру (висота суглобу у сагітальній площині), мм.

Оцінку ефективності протизапальної терапії проводили шляхом порівняння розрахованих за отриманими лінійними розмірами об'ємів дванадцяти суглобів (I та V заплесно-плеснових суглобів, I – V плесно-фалангових суглобів та проксимальних міжфалангових суглобів суглобів I – V пальців стопи суглобів), ширини та висоти кісткових рядів заплесни і плесни, а також ширини суглобових щілин тринадцяти суглобів (поперечного суглобу стопи, I та V заплесно-плеснових суглобів, I – V плесно-фалангових суглобів та проксимальних міжфалангових суглобів суглобів I – V пальців стопи суглобів) за різних умов експерименту та зрівняння ширини суглобової щілини у відповідних суглобах. Отримані розбіжності виражали у % по відношенню до показників інтактних тварин та тварин з АА без лікування.

Цифрова рентгенографія в прямій та бічній проекціях проведена на базі рентгенодіагностичного відділення Івано-Франківської обласної клінічної лікарні (м. Івано-Франківськ, Україна) за допомогою цифрового рентгенологічного апарату «Z-motion» (*Control X-Medical, Угорщина*) згідно стандартних методик променевого дослідження [249]. Сканування проводили в режимі «Nasal bone» («Кістки носу») з піковою напругою (kVp – kilovolt peak) 50,0 кВ, експозицією 2,5 міліампер×секунду (milliamper×seconds – mAs) та витримкою 0,012 с [28].

Проведене дослідження показало, що на 28 добу експерименту у щурів з АА без лікування відмічалось гіперекстензія проксимальних фаланг зі згинанням в проксимальних міжфалангових суглобах та розгинанням в дистальних міжфалангових суглобах, що обумовлювало формування класичних для ревматичного ураження змін – «молоткоподібної» деформації II–V пальців (рис. 11Б).

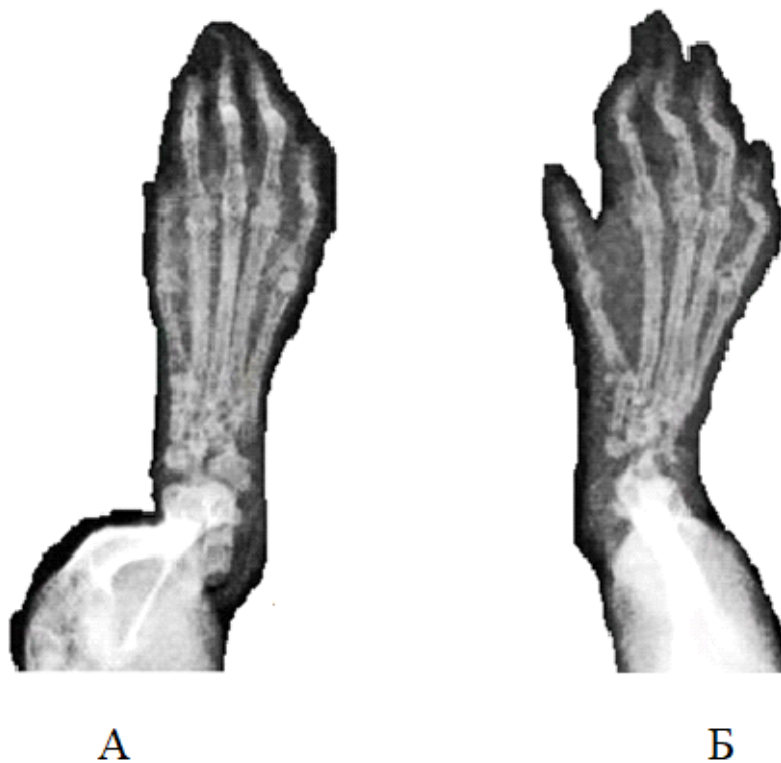


Рис. 11 Рентгенограми задніх кінцівок інтактних щурів (А) та щурів з ад'ювантним артритом без лікування (Б) на 28 добу експерименту в прямій проекції.

На тлі виразного набряку м'яких тканин відзначалась періостальна реакція у вигляді потовщення і розволокнення кортикальних шарів і, як наслідок, вираженого звуження ширини кістково-мозкового каналу. Патологічна установка нігтьових фаланг. Наявність субхондрального склерозу. Звуження суглобових щілин проксимальних і дистальних суглобів стопи.

Найменші зміни об'єму суглобів задніх кінцівок у щурів було відмічено у міжфалангових суглобах, а середній приріст об'єму становив 52,7 % відносно розрахованих об'ємів суглобів здорових тварин (табл. 10).

**Вплив ібупрофену та його комбінації з вінбороном на об'єм суглобів задньої кінцівки щурів на моделі ад'ювантного артриту за даними конусно-променевої комп'ютерної томографії, мм³
($M \pm m$ або $Me [LQ; UQ]$, n=28)**

№ з/п	Умови досліджу Назва суглобу	I група	II група	III група	IV група
		Інтактні щури	Контроль (AA без лікування)	AA + ІБП	AA + ІБП + вінборон
-1-	-2-	-3-	-4-	-5-	-6-
	n	7	7	7	7
1	Перший заплесно-плесновий суглоб (<i>art.tarsometatarsae I</i>)	5,26 ± 0,57	12,77 ± 1,04 $p_1 < 0,001$ (+142,6 %)	10,09 ± 1,11 $p_1 < 0,005$ $p_2 > 0,05$ (-21,0 %)	8,46 ± 0,79 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ (-33,8 %)
2	П'ятий заплесно-плесновий суглоб (<i>art. tarsometatarsae V</i>)	5,20 ± 1,01	13,63 ± 1,80 $p_1 < 0,01$ (+162,0 %)	10,22 ± 1,49 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-25,0 %)	8,48 ± 0,64 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-37,8 %)
3	Перший плесно-фаланговий суглоб (<i>art. metatarsophalangeae I</i>)	3,00 [2,83; 3,92]	6,92 [5,83; 7,38] $p_1 < 0,005$ (+130,6 %)	6,23 [5,81; 6,73] $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-10,0 %)	3,86 [2,92; 4,45] $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-44,3 %) $p_3 > 0,05$
4	Другий плесно-фаланговий суглоб (<i>art. metatarsophalangeae II</i>)	5,38 [4,71; 5,81]	9,12 [7,78; 9,96] $p_1 < 0,005$ (+69,4 %)	5,89 [4,82; 8,64] $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-35,5 %)	5,38 [4,83; 6,10] $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-41,0 %)
5	Третій плесно-фаланговий суглоб (<i>art. metatarsophalangeae III</i>)	4,22 [3,64; 5,61]	8,74 [6,60; 9,94] $p_1 < 0,05$ (+107,1 %)	5,65 [4,77; 5,78] $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$ (-35,3 %)	4,42 [3,86; 4,71] $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-49,4 %)
6	Четвертий плесно-фаланговий суглоб (<i>art. metatarsophalangeae IV</i>)	4,83 [4,64; 5,22]	8,36 [6,72; 9,14] $p_1 < 0,05$ (+73,0 %)	5,02 [4,45; 8,76] $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-39,9 %)	4,99 [4,43; 6,13] $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-40,3 %)

Продовження таблиця 10

-1-	-2-	-3-	-4-	-5-	-6-
7	П'ятий плесно-фаланговий суглоб (<i>art. metatarsophalangeae V</i>)	3,51 ± 0,38	8,20 ± 0,57 $p_1 < 0,001$ (+133,5 %)	4,44 ± 0,56 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$ (-45,8 %)	4,05 ± 0,47 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$ (-50,6 %)
8	Проксимальний міжфаланговий суглоб першого пальця стопи (<i>art. interphalangeae proximalis I</i>)	1,96 ± 0,21	2,88 ± 0,53 $p_1 > 0,05$ (+46,4 %)	1,93 ± 0,22 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-33,0 %)	1,69 ± 0,24 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-41,1 %)
9	Проксимальний міжфаланговий суглоб другого пальця стопи (<i>art. interphalangeae proximalis II</i>)	2,35 ± 0,19	3,04 ± 0,50 $p_1 > 0,05$ (+29,5 %)	2,86 ± 0,28 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-6,1 %)	2,62 ± 0,39 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-13,9 %)
10	Проксимальний міжфаланговий суглоб третього пальця стопи (<i>art. interphalangeae proximalis III</i>)	2,09 ± 0,12	3,30 ± 0,39 $p_1 < 0,05$ (+58,1 %)	2,49 ± 0,25 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-24,6 %)	2,27 ± 0,42 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-31,1 %)
11	Проксимальний міжфаланговий суглоб четвертого пальця стопи (<i>art. interphalangeae proximalis IV</i>)	1,98 ± 0,09	3,13 ± 0,29 $p_1 < 0,005$ (+51,5 %)	3,04 ± 0,55 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-18,3 %)	2,45 ± 0,37 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-33,7 %)
12	Проксимальний міжфаланговий суглоб п'ятого пальця стопи (<i>art. interphalangeae proximalis V</i>)	1,46 ± 0,22	2,50 ± 0,12 $p_1 < 0,005$ (+77,8 %)	2,17 ± 0,24 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-17,6 %)	1,92 ± 0,34 $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$ (-25,6 %)

62

Примітки: p_1 – рівень статистичної значущості відносно інтактних тварин;
 p_2 – рівень статистичної значущості відносно контрольних тварин.

За даними КПКТ субплантарна інокуляція ПАФ призвела до збільшення об'єму всіх суглобів задніх кінцівок майже вдвічі (+90,1 %) відносно показників інтактних щурів. Найбільший приріст об'єму відмічався в I та V заплесно-плеснових суглобах відповідно на 142,6 % ($p < 0,001$) та 162,0 % ($p < 0,01$) відносно значень інтактних тварин. Серед плесно-фалангових суглобів найвиразніше зросли об'єми I та V плесно-фалангових суглобів – відповідно на 130,6 % ($p < 0,005$) та 133,5 % ($p < 0,001$) щодо показників інтактних тварин [28].

Монотерапія АА у щурів ІБП з 14 по 28 добу експерименту призвела до зменшення інтенсивності запального процесу. На це вказувало статистично вірогідне зменшення об'єму суглобів задніх кінцівок в середньому на 26,0 % відносно показників нелікованих тварин. Привертає увагу, що в плесно-фалангових суглобах (за виключенням статистично невірогідних ($p > 0,05$) показників I плесно-фалангового суглобу) найвиразніше зменшення об'єму суглобів було відмічено в суглобах, які характеризувались найсильнішою запальною реакцією у тварин контрольної групи. Так об'єм V плесно-фалангового суглобу статистично вірогідно ($p < 0,001$) був меншим на 45,8 % порівняно з об'ємом аналогічного суглобу у нелікованих тварин. Аналогічну спрямованість протизапальної активності за даними КПКТ було відмічено і в міжфалангових суглобах. Так суглоби з найвиразнішим збільшенням об'єму у тварин контрольної групи характеризувались найбільшою прихильністю до фармакотерапії ІБП, на що вказувала виразна інволюція спричинених розвитком АА змін в досліджуваних суглобах, і навпаки (див. табл. 10).

На тлі комбінованого застосування ІБП та вінборону нами було відмічено найбільший регрес запального процесу. На це вказувало зменшення об'єму суглобів на тлі комбінованого лікування щурів з АА в середньому на 33,8 % відносно показників тварин контрольної групи.

Нами встановлено, що у тварин, які отримували ІБП та вінборон відмічалась аналогічна тропність зазначених лікарських засобів до суглобів з найбільшим приростом об'єму (V плесно-фаланговий та проксимальний міжфаланговий суглоб III пальця стопи).

Характеризуючи стан суглобових щілин задніх кінцівок у щурів слід зазначити, що розвиток АА призвів до значного зменшення ширини суглобових щілин в середньому на 58,8 % відносно значень інтактних тварин. Це цілком узгоджується з даними літератури про

зміни структурної організації суглобів при ревматоїдному артриті [116]. Варто зазначити, що у I і II плесно флангових суглобах та проксимальному міжфаланговому суглобі I пальця стопи нами було виявлено повний анкілоз, а в III-V плесно-фалангових суглобах ширина суглобової щілини не перевищувала 0,2 мм, що більш ніж вдвічі було нижче за показники інтактних тварин.

На тлі монотерапії ІБП було відмічено збільшення ширини суглобової щілини усіх суглобів, проте на тлі комбінованого застосування ІБП та вінборону нами було відмічено найвиразніше збільшення ширини суглобових щілин яка практично співставлялась з показниками інтактних тварин, що вказує на здатність вінборону потенціювати протизапальні властивості ІБП.

Заслугове особливої уваги, що у міжфалангових суглобах на тлі лікування ступінь збільшення ширини суглобових щілин був найвиразнішим у суглобах з найбільшим зниженням зазначеного показника у тварин з АА без лікування.

Натомість в плесно-заплеснових суглобах нами було відмічено протилежну залежність: лікувальна ефективність була нижчою в суглобах по мірі збільшення інтенсивності звуження суглобової щілини на тлі розвитку АА у щурів і навпаки. Вважаємо, що підґрунтям цьому є особливості анатомічної організації плесно-заплеснових суглобів, зокрема проходженням глибокої подошової артерії (*arteria plantaris profunda*) та її тильних пальцевих гілок (*arteria metatarsales dorsales I-IV*) в безпосередній близькості до суглобових капсул зазначених суглобів, що обумовлює трофічну спорідненість та спільні шляхи міграції антиген-скомпроментованих Т-хелперів.

На нашу думку встановлені особливості залежності проявів ефективності лікувальної терапії від запропонованих підходів до її оцінки на моделі експериментального ревматоїдного артриту у щурів вказує на доцільність оцінки протизапальної активності за ступенем звуження ширини суглобових щілин плесно-фалангових суглобів нижніх кінцівок. Це дозволяє дати інтегральну характеристику спрямованості протизапальної активності з урахуванням тісної функціональної залежності суглобів стопи між собою.

Крім того нами було відмічено зниження щільності кісткової тканини (ЩКТ) у щурів з АА на 28 добу експерименту, що вказує на розвиток остеопорозу (рис. 12), який відноситься до найбільш ранніх симптомів променевої діагностики РА і визнається фахівцями як діагностичний критерій цього захворювання [17, 106, 116, 144, 163].

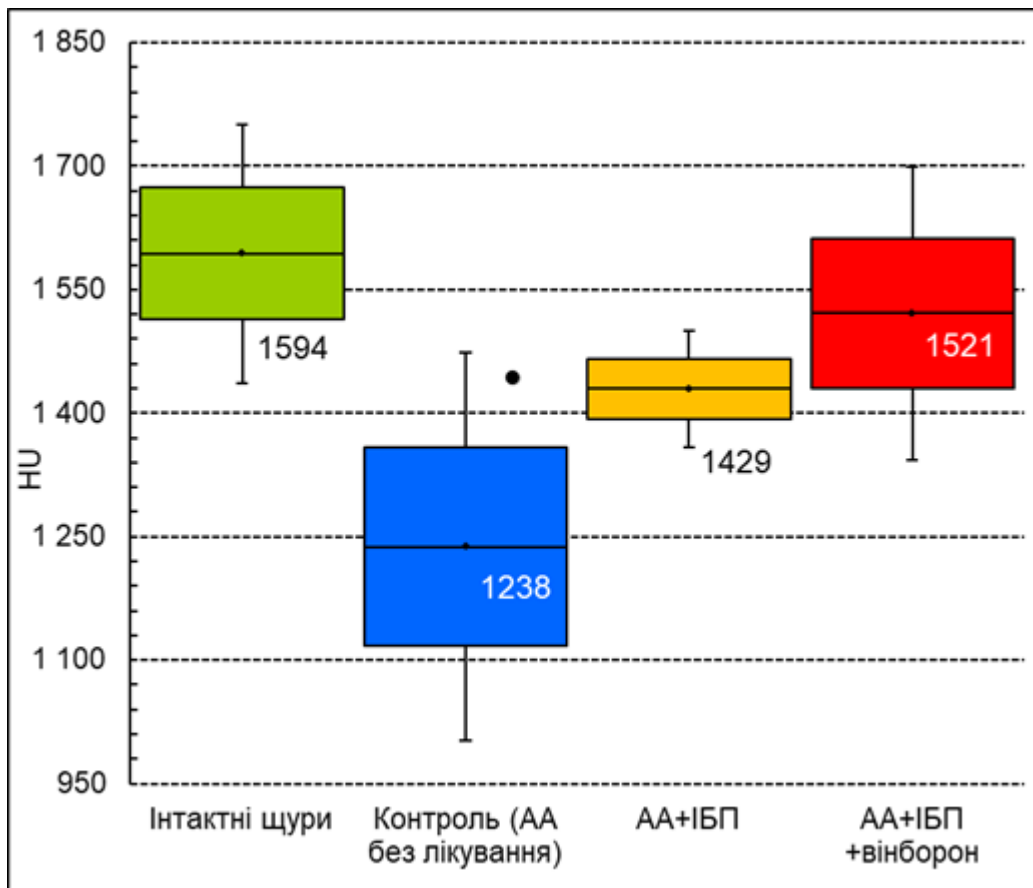


Рис. 12 Вплив ІБП та його комбінації з вінбороном на структуру та щільність кісткової тканини ІІ плесно-фалангового суглобу у щурів з АА за даними КПКТ, НУ (одиниці Хаунсфілда)

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;

Так розвиток АА у щурів на 28 добу експерименту супроводжувався статистично вірогідним ($p < 0,05$) зниженням ЩКТ на 22,4 % відносно показників інтактних тварин та становив відповідно $1237,6 \pm 120,3$ НУ.

За даними літератури мікробні антигени Mtb, які вивільняються з ПАФ, всмоктуються та транспортуються до регіонарних дренажних лімфовузлів і селезінки, де антиген-презентуючі клітини (antigen-presenting cell – CPA) представляють ці антигени Т-лімфоцитам, що призводить до їх активації та проліферації. Антиген-скомпрометовані Т-хелпери ($CD4^+$ Т-лімфоцити) 1-го типу (T_H1) мігрують до органів-

мішеней та спричиняють системне вивільнення прозапальних цитокінів та RANKL. Відомо, що «RANKL/RANK» взаємодії фізіологічно блокуються остеопротегерином (osteoprotegerin – OPG), а співвідношення RANKL-OPG регулює остеокластогенез, що в свою чергу забезпечує резорбцію кісткової тканини, тому будь-яке порушення цього співвідношення може призводити до остеолізу [28, 218, 246].

На тлі монотерапії ІБП ЩКТ збільшилась на 15,5 % відносно показників тварин контрольної групи. Комбіноване застосування ІБП та вінборону призвело до збільшення ЩКТ на 22,9 % відносно показників тварин з АА без лікування та становила відповідно $1521,1 \pm 91,2$ НУ. Виявлені нами зміни вказують на більш виразну спроможність ІБП та вінборону при їх комбінованому застосуванні пригнічувати розвиток остеопенічного синдрому порівняно з монотерапією ІБП на моделі АА у щурів.

Морфологічна оцінка ефективності поєданого застосування ібупрофену та вінборону в лікуванні АА у щурів

Експериментальна модель АА є найбільш оптимальною для оцінки протизапальної активності лікарських препаратів різних груп щодо таких патологій як: РА, артроз та інших хронічних запальних захворювань опорно-рухової системи [2]. На сьогоднішній день актуальним залишається пошук високоефективних лікарських засобів, що пригнічують запалення і володіють мінімальними побічними ефектами. Метою дослідження було на основі патоморфологічних досліджень оцінити та порівняти протизапальні властивості ІБП та його комбінації з вінбороном на моделі АА, індукованого введенням ПАФ.

Після 28 доби спостереження патоморфологічне дослідження синовіальної оболонки (СНО) гомілковостопних суглобів експериментальних тварин з АА без лікування встановило перевагу хронічного продуктивного запалення зі значним проліферативним компонентом та дистрофічно-дегенеративними змінами хряща та волокнистої сполучної тканини, що оточувала синовіальний хрящ.

Суглобова поверхня втрачала свої межі, часто була з нерівними контурами, мала різної глибини дефекти, які спостерігалися у 60,0 % тварин з нелікованим АА. Майже у всіх досліджуваних препаратах хрящів цієї групи тварин виявлені ознаки формування паннуса, який

інколи повністю інвазував хрящ, заміщаючи його сполучною тканиною (рис. 13). У периартикулярних тканинах, поряд з їх набряком, відзначалася масивна клітинна інфільтрація, переважно лімфоїдна зі скупченням плазмоцитів, гігантських багатоядерних клітин, що формували гранульоми, які були оточені колагеновими волокнами.

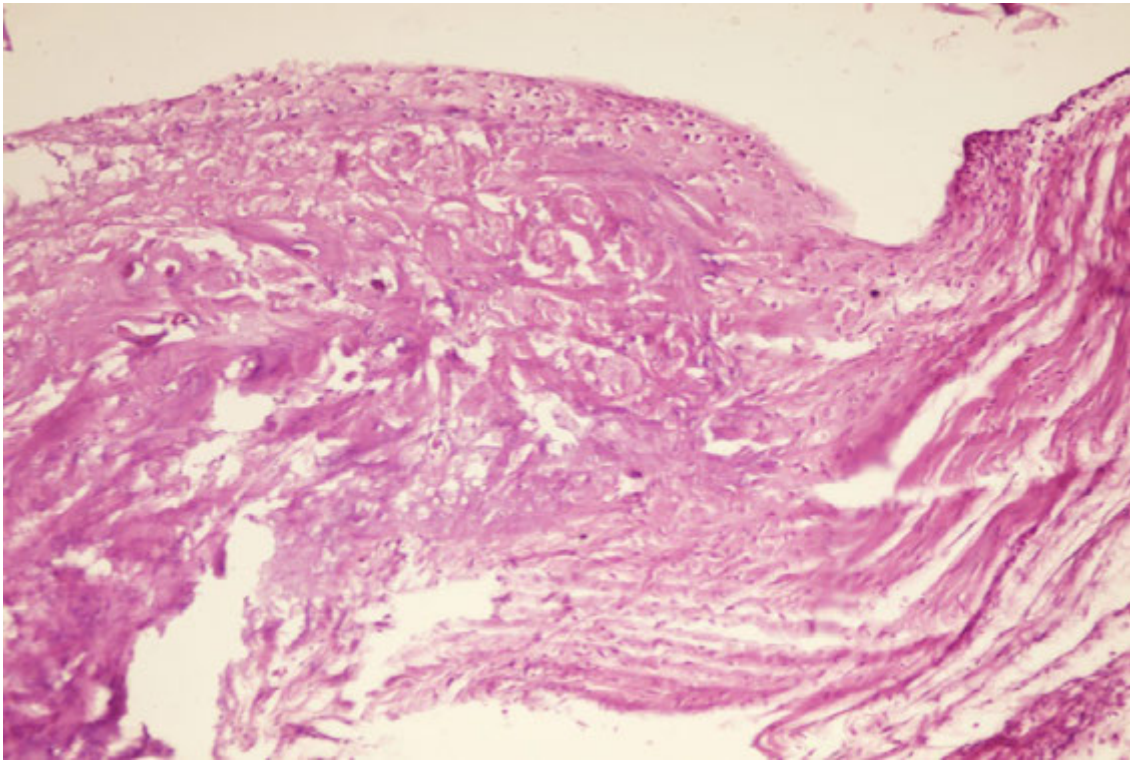


Рис. 13 Дегенеративні зміни хряща з формуванням паннуса. АА без лікування. 28 доба. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$

Запальні інфільтрати часто розповсюджувалися на дерму, інколи навіть з інфільтрацією шкіряного покриву. У навколосуглобовій фіброзній тканині колагенові волокна формували щільно упаковані пучки, між якими визначалися тонкі прошарки пухкої сполучної тканини з блідим альціан-позитивним забарвленням. У субхондральних ділянках реєстрували клітинні проліферати фібробластів, хондробластів та утворення гомогенного хрящового матриксу між ними. У зонах проліферируючих хондробластів і в матриксі виявлялася інтенсивна альціан-позитивна реакція. У ряді випадків на фоні гомогенного хондромукоїда визначалися зони проліферації низькодиференційованих хондробластів ембріонального типу з великим ядром і вузьким обідком цитоплазми. Іноді ці клітини розташовувалися радіально, іноді хаотично. У центрі клітинних скупчень спостерігалися кістозні порожнини і гранульоми з

осередками некробіотичних змін клітин. В інших ділянках подібні клітинні проліферати були відсутні. Поряд з клітинними проліфератами в одних ділянках періартикулярної сполучної тканини спостерігалися кістозні порожнини різних розмірів, в інших - фрагментовані, округлі осередки хрящової тканини з альціановою реакцією зі значною дистрофією як матриксу, так і клітин (рис. 14).

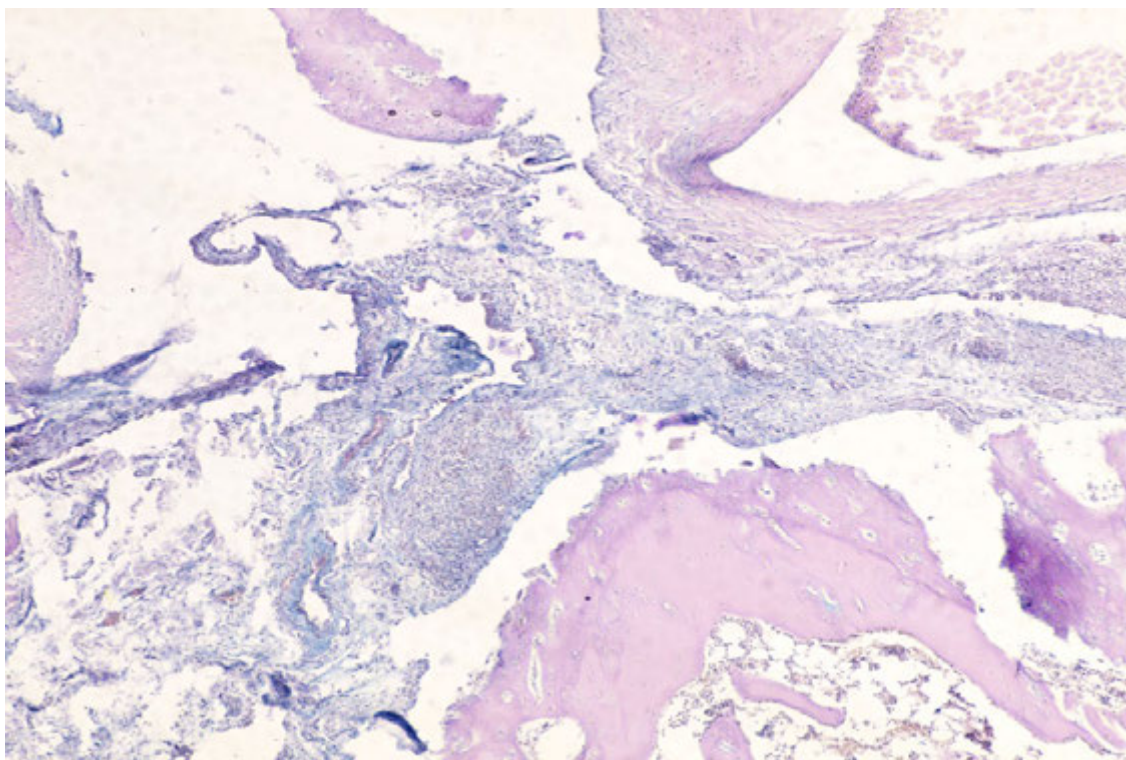


Рис. 14 Вогнищеві скупчення альціан-позитивних речовин в періартикулярній сполучній тканині з лімфо-плазмоцитарною інфільтрацією та дегенеративними змінами хряща. АА без лікування. 28 доба. Комбінована ШИК-реакція – альціановий синій, $\times 100$

СНО складалася з потовщених синовіальних складок за рахунок осередкового розростання фіброзної, жирової, інколи грануляційної тканини з дифузною запальною інфільтрацією. У ворсинах СНО досить часто зустрічалися великі скупчення лімфоїдних елементів з поодинокими епітеліоїдними та гігантськими багатоядерними клітинами, що місцями пробували утворювати гранульоми.

Відмічалася велика кількість гіпертрофованих синовіальних ворсин, деякі з них були вузькі та видовжені, інші потовщені. На багатьох ділянках поверхня СНО та ворсин вкрита товстим шаром проліферуючих синовіоцитів, як секреторного, так і фагоцитарного типів. Строма їх була з набряком за рахунок збільшення кількості

кислих глікозаміногліканів, що підтверджувалося позитивним забарвленням при використанні комбінованої ШИК-реакції з альціановим синім (рис. 15).

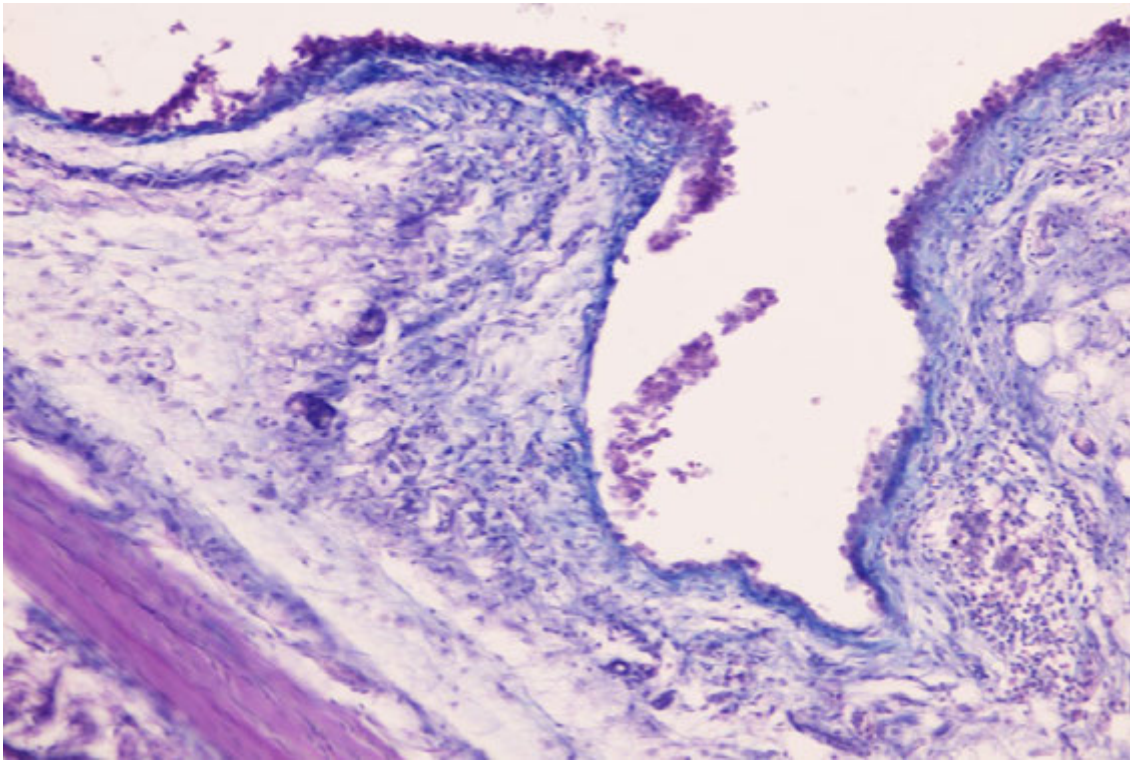


Рис. 15 Накопичення кислих глікозаміногліканів (синього кольору) в фіброзній тканині синовіальних ворсин, вогнищева проліферація та десквамація синовіоцитів. АА без лікування. 28 доба. Комбінована ШИК-реакція – альціановий синій, $\times 200$

Підлеглі хондроцити мали пікнотичні ядра, що свідчило про локальне пошкодження суглобового хряща. На відміну від фіброзної тканини ворсин СНО, в хондроцитах відмічали зниження продукції як кислих, так і сульфатованих глікозаміногліканів, що було добре помітно при забарвленні препаратів основним коричневим. В глибоких відділах СНО визначалася поява вогнищ волокнистої сполучної тканини з осередками проліферації фібробластів та ділянками кістоподібних просвітлень (рис. 16). Клітини внутрішнього шару хряща були малодиференційованими, нагадували хондроцити, проте втрачали ортохроматичне забарвлення, типове для глікозамногліканів гіалінового хряща.

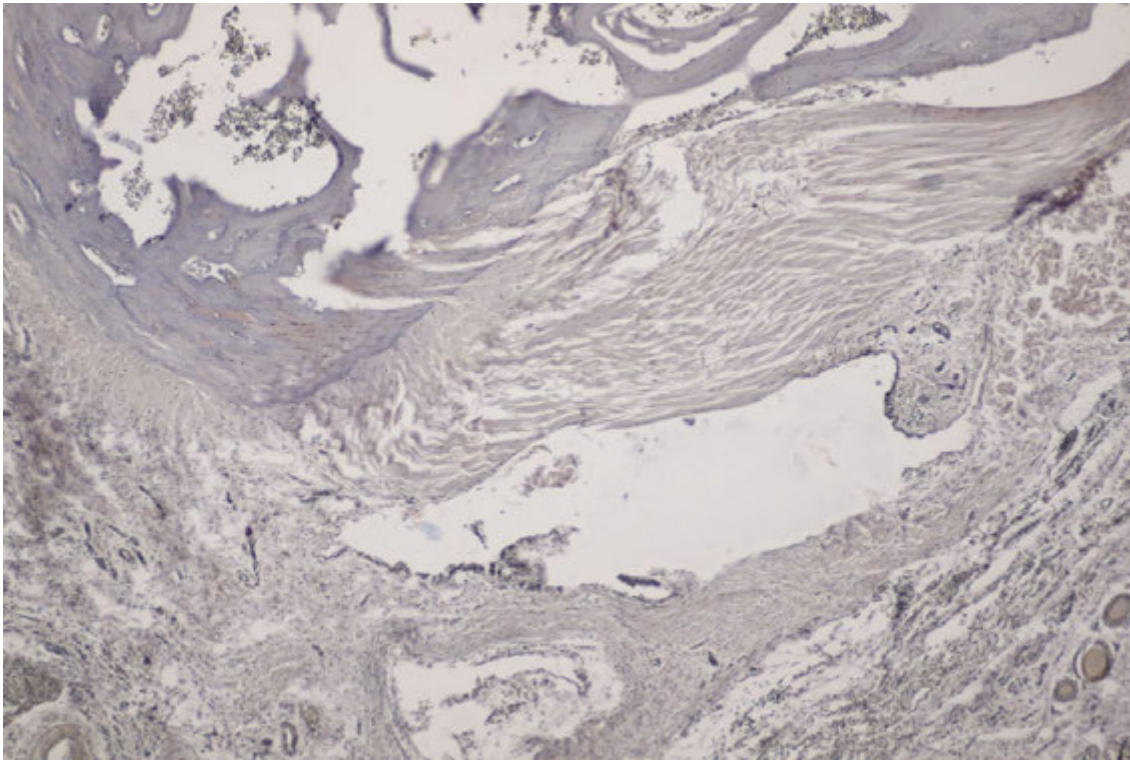


Рис. 16 Зменшення кількості кислих та сульфатованих глікозаміногліканів в хрящевій тканині, кістоподібні просвітлення в оточуючій суглоб сполучній тканині. АА без лікування. 28 доба. Основний коричневий, $\times 100$

Хрящові поверхні деяких суглобів були деформовані за рахунок синовіту, межа між хрящом та сполучною тканиною була майже не помітною. На тих поверхнях, де хрящ безпосередньо контактував з синовітом та паннусом, він потоншений, втрачав характерне зональне розташування хондроцитів. Великі ділянки суглобової поверхні були практично позбавлені хрящового покриву й вистелені грануляційною та фіброзною тканиною. Навколо грануляційної тканини, що вросла в хрящ відзначали заміщення його новоствореними кістковими балками або фіброзною тканиною. Місцями суглобова поверхня на більшому або меншому протязі абсолютно позбавлялася хрящового покриву і заміщувалася грануляційною, фіброзною або жировою тканиною, що заповнювали інколи і кістково-мозкові простори. Осередки грануляційної тканини спостерігалися в основному в проміжних і глибоких зонах СНО вони склалися головним чином з капілярів, фібробластів, гістіоцитів, лімфоцитів та поодиноких багатоядерних клітин. В центральних відділах таких інфільтратів відмічали дегенеративні зміни основної речовини, яка була оточена сполучнотканинними волокнами. При забарвленні зрізів за ван-Гізоном склеротично змінені ділянки фарбувалися в

червоний колір (рис. 17) та були осередково позитивні при використанні ШИК-реакції.

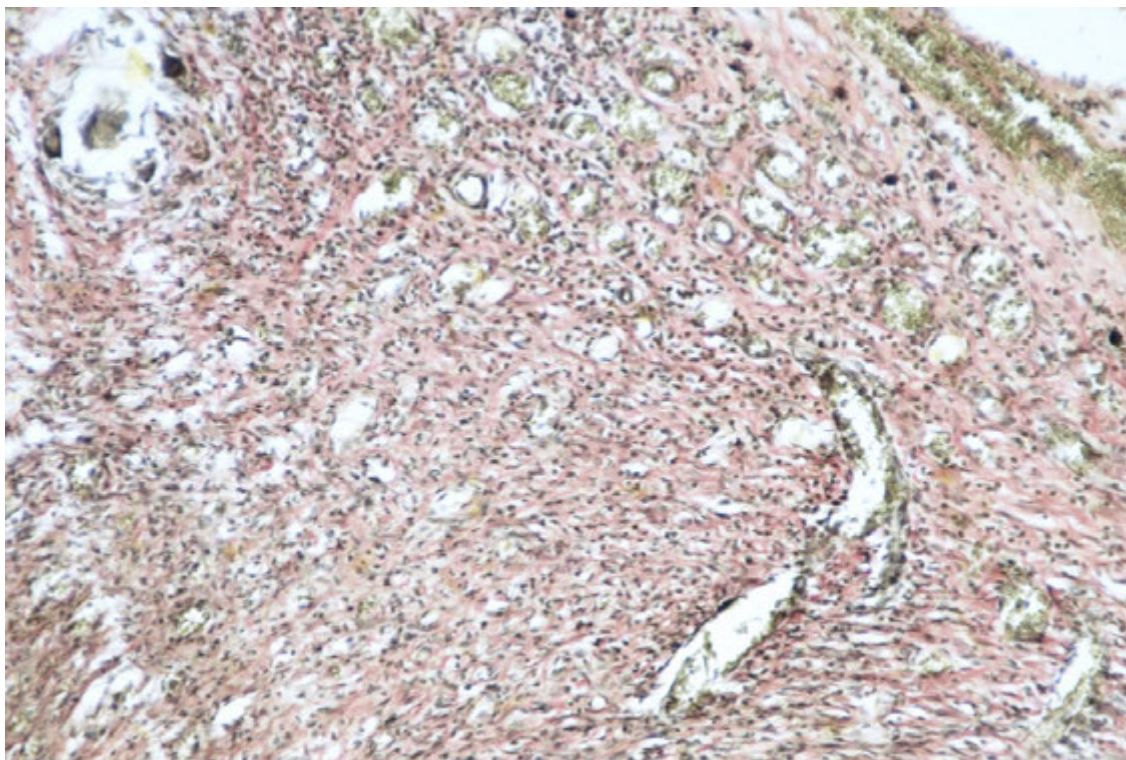


Рис. 17 Грануляційна тканина з великою кількістю капілярів та периваскулярним розростанням фіброзних волокон, поодинокі багатоядерні клітини. АА без лікування. 28 доба. Забарвлення за ван-Гізоном, $\times 100$

У багатьох випадках як у ворсинах, так і у всій СНО, виявлявся виражений фіброз із зменшенням кількості клітинних елементів. Зовнішній шар капсули суглоба був представлений грубоволокнистою щільною фіброзною тканиною з наявністю осередків жирової тканини. Колагенові волокна зливалися в широкі гомогенні тяжі звивистої форми. Нерідко зустрічалися ділянки їх гіалінізації або некрозу з загибеллю клітин, фібриляцією волокон і накопиченням дрібних оксифільних грудочок. Клітинні елементи визначалися в малій кількості і були представлені в основному, інтенсивно забарвленими фіброцитами із зморщеними і витягнутими ядрами. При використанні гістохімічного методу за ван-Гізоном колагенові волокна і стінки судин набували більш яскравого червоного забарвлення. ШИК-реакція колагенових пучків була нерівномірною. Хрящові клітини були різних розмірів – від дрібних із зморшкуватим ядром, до великих з світлими, набряклими ядрами. В окремих

хондроцитах ядра не виявлялися, бо були зморщені та розташовувалися у вигляді півмісяців під капсулою суглоба.

На відміну від нелікованого АА у щурів, яким застосовували ІБП та ІБП з вінбороном грануляційна тканина на даному періоді дослідження (28 діб) не виявлялась.

В групі АА, лікованого ІБП в глибоких відділах СНО реєстрували значну кількість волокнистої сполучної тканини з осередками проліферації фібробластів. Звертали на себе увагу і вогнищеві зміни в кровоносних судинах, переважно артеріального типу, в яких відмічали потовщення інтими за рахунок проліферації ендотелію, гомогенізації м'язового шару, периваскулярний склероз.

Морфометричний аналіз клітинного складу запальних інфільтратів СНО у щурів з АА без лікування встановив значну перевагу лімфоцитів ($6050 \pm 511,0$), епітеліоїдних клітин (ЕК, $1080 \pm 129,78$), плазмоцитів ($990 \pm 124,2$) та макрофагів ($1230 \pm 158,5$) над іншими клітинними елементами після 28 доби спостереження, що свідчило про хронізацію та імунний характер запалення (табл. 11).

Поряд з лімфоцитарною та макрофагальною інфільтрацією слід підкреслити вірогідне збільшення кількості тканинних базофілів (ТБ) та фібробластів у стромі СНО – $430 \pm 74,6$ та $1080 \pm 129,8$ відповідно, у порівнянні з іншими групами $p < 0,05$ (див. табл. 11). Більша частина ТБ знаходилась в активному стані, про що свідчила їх дегрануляція та добре виявлялася навколо судин стромы СО при забарвленні основним коричневим.

**Щільність клітинних елементів синовіальної оболонки гомілковостопного суглоба
(з розрахунку на 1 мм²) при ад'ювантному артриті на 28 добу експерименту**

Клітинний склад	Умови дослідю			
	Інтактні щури	АА без лікування (Контроль)	АА + ІБП	АА + ІБП +Вінборон
Лімфоцити	2000	6050 ± 511,04	4600 ± 426,87*	2100 ± 284,80*
Макрофаги	400	1230 ± 158,49	490 ± 58,59*	410 ± 60,46*
Плазмоцити	350	990 ± 124,23	420 ± 62,89*	380 ± 38,9*
Тканинні базофіли	150	400 ± 74,30	210 ± 43,33*	170 ± 47,26*
Поліморфноядерні і лейкоцити	220	720 ± 61,10	370 ± 44,84*	270 ± 47,25*
Фібробласти	1200	1890 ± 174,76	1330 ± 176,41*	1310 ± 149,40*
Епітеліюідні клітини	700	1080 ± 129,78	760 ± 66,90*	720 ± 114,30*
Гігантські багатоядерні клітини	150	430 ± 74,60	240 ± 38,11*	190 ± 37,85*

Примітка. * – $p < 0,05$ відносно показників щурів контрольної групи (АА без лікування).

Як помітно з таблиці 11, у СНО спостерігалася значна проліферація фібробластів, при цьому кількість їх за даними морфометричного дослідження зростала у всіх досліджуваних групах.

В групі щурів з АА, лікованим і ІБП поряд з ділянками дегенерації суглобового хряща завжди зберігалися мало змінені його ділянки, зазвичай вільні від синовіального паннусу. Лімфо-гістіоцитарні інфільтрати не виходили за межі навколосуглобової сполучної тканини.

У експериментальних тварин з АА, яким вводили ІБП та ІБП в комбінації з вінбороном на 28 добу відзначали помірне запалення в періартикулярній сполучній тканині, інколи з формуванням епітеліоїдноклітинних та гігантсьkokлітинних гранульом, розлади кровообігу з стазами в судинах мікроциркуляторного русла і незначним периваскулярним набряком. Поверхневі дефекти хрящової тканини були відмічені у 10,0 % тварин з ІБП та практично не виявлялися в групі ІБП + вінборон. Шкірний покрив мав звичайну гістологічну структуру у 80,0 % експериментальних тварин з ІБП та у 90,0 % щурів, яким застосовували ІБП + вінборон.

Мікроскопічно в даних групах, також характерним було формування паннусу, проте інтенсивність фібрилогенезу була значно меншою в порівнянні з нелікованим АА, що підтверджувалося даними морфометричного дослідження (див. табл. 11), іноді зустрічалися невеликі ділянки, де сполучна тканина щільно зросталася з хрящовою. Рідко виявляли незначні за довжиною безклітинні ділянки і ділянки з дуже вузьким хрящем, де хондроцити розташовані лише в 2–3 ряди. На відміну від нелікованого АА кислі та сульфатовані глікозаміноглікани при забарвленні препаратів альціановим синім в сполучній тканині СНО практично не виявлялися, проте, кількість їх збільшувалася в хрящовій тканині, що підтверджувалося позитивною реакцією при використанні основного коричневого (рис. 18, 19).

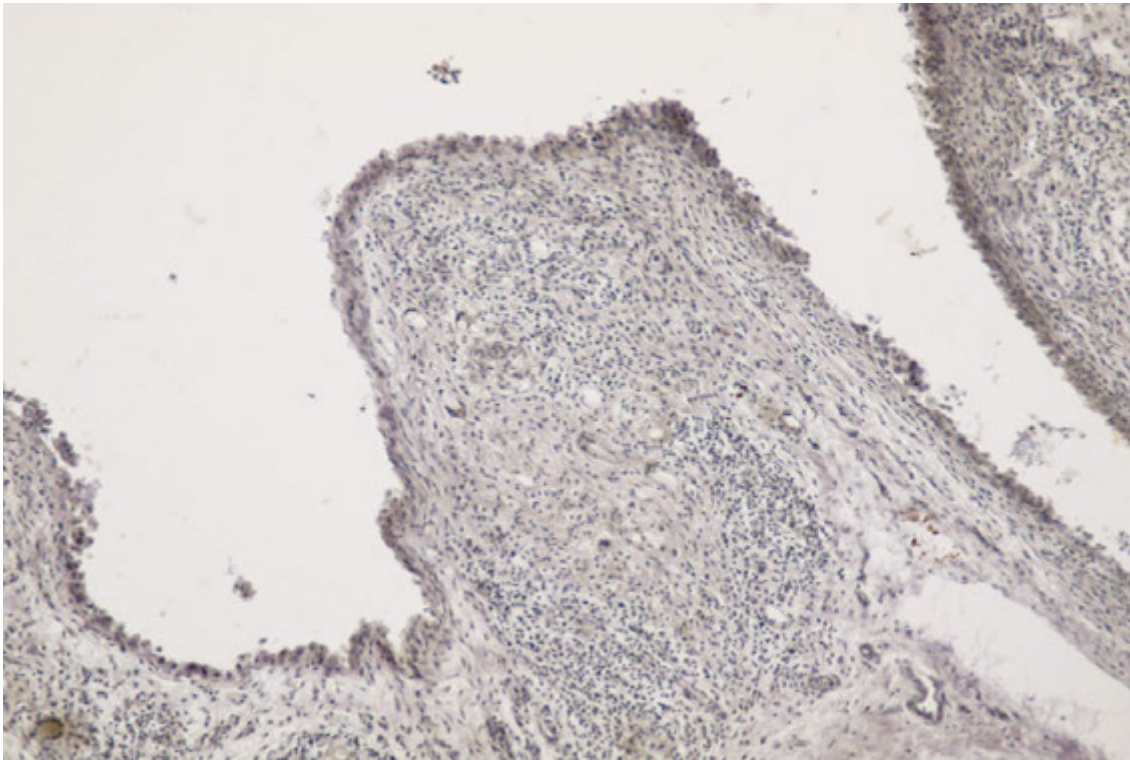


Рис. 18 Незначна лімфоцитарна інфільтрація синовіальної ворсини з фіброзом стромы та невеликою кількістю глікозаміногліканів. АА, лікований ІБП. 28 доба. Основний коричневий, $\times 200$

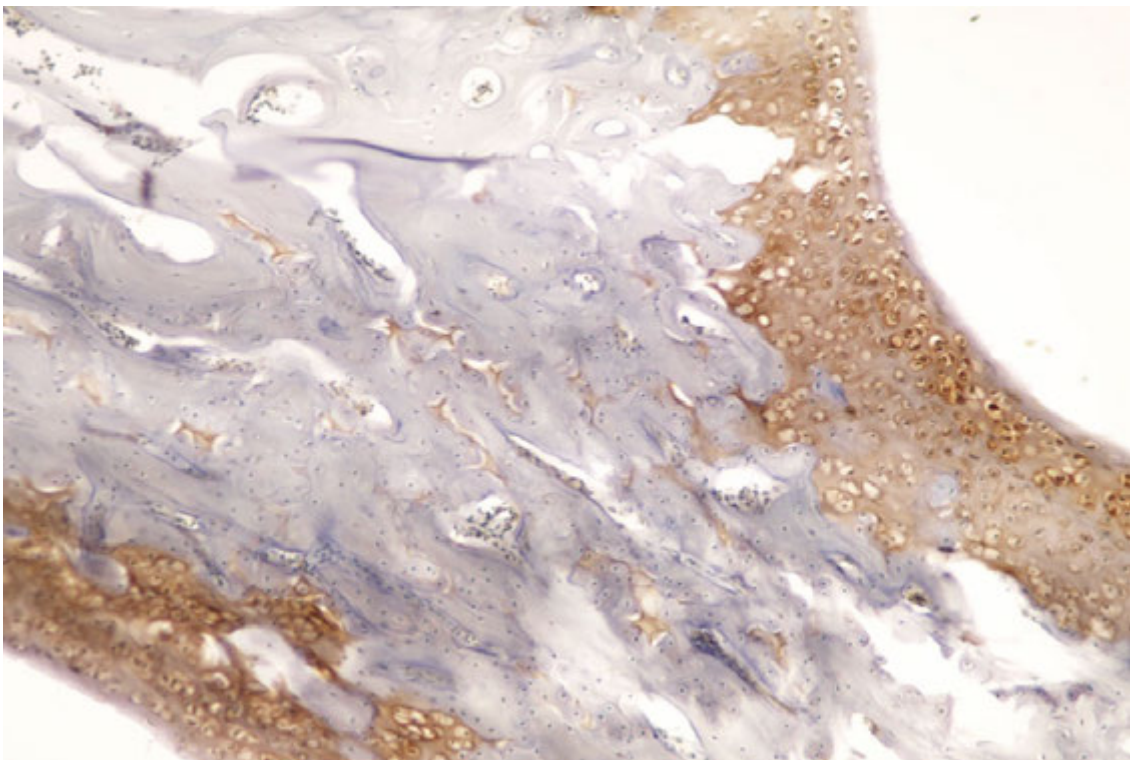


Рис. 19 Збільшення кількості кислих та сульфатованих глікозаміногліканів в хондроцитах. АА, лікований ІБП та вінбороном. 28 доба. Основний коричневий, $\times 100$

У щурів, яким застосовували ІБП в комбінації з вінбороном колагенові волокна фіброзної періартикулярної тканини з'єднувалися в товсті пучки і гомогенізувалися. Вогнища лімфо-плазмоцитарної інфільтрації реєструвалися рідко. Найчастіше зустрічалися інфільтрати з клітин фібро- та гістіоцитарного ряду. В порівнянні з групою нелікованого АА та лікованого АА ІБП в хрящі спостерігалися менш виражені дегенеративно-дистрофічні і атрофічні зміни. У базальних відділах хряща відбувалося посилення обвапнування міжклітинної речовини і загибель клітин. Базальні відділи хряща і субхондральної пластинки часто лишалися незруйнованими і вrostання судин в хрящ з боку кістково-мозкових порожнин практично не спостерігалось.

У експериментальних тварин з АА, що отримували ІБП та ІБП в комбінації з вінбороном після 28 доби спостереження відмічали зниження кількості лімфоїдних елементів $4600 \pm 426,9$ та $2100 \pm 284,8$ в порівнянні $6050 \pm 511,0$ ($p < 0,05$) з нелікованим АА. Зменшення інтенсивності запальної інфільтрації СО було зареєстроване і при оцінці щільності інших запальних елементів (див. табл. 11). ТБ, так як і нейтрофільні лейкоцити зустрічалися рідко, здебільшого навколо судин. Зменшення кількості дегранульованих ТБ спостерігалось при лікованому АА та було вірогідним ($p < 0,05$) як при застосуванні ІБП, так і при його комбінації з вінбороном, що може свідчити про зменшення синтезу і вивільнення медіаторів запалення (серотоніну, гістаміну) з ТБ.

Патоморфологічною особливістю нелікованого АА, поряд з утворенням паннусу, дифузною лімфо-гістіоцитарною інфільтрацією і деструкцією кісткової тканини, також було виявлення грануляційної тканини на даному терміні спостереження, що свідчило про хронічний характер запальної відповіді та порушення регенераторних властивостей синовіального епітелію.

При лікованому АА ІБП та ІБП в комбінації з вінбороном патологічні зміни хрящової та кісткової тканини в результаті запальної реакції, супроводжувалися її відбудовою та відновленням функції, про що свідчило поява кислих та сульфатованих глікозаміногліканів. Відновлення кісткової тканини реалізувалося шляхом розростання сполучної тканини і трансформації її в хрящ. СО була гіперплазованою з проліферуючими синовіоцитами як макрофагального, так і секреторного типів.

ГЛАВА 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВИРАЗКОВОЇ ДІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ НПЗЗ-ІНДУКОВАНОМУ УШКОДЖЕННІ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У ЩУРІВ

Для дослідження противиразкової активності КЕП при НПЗЗ-індукованої езофагогостроентероколонопатії (ЕГЕКП) використано «гострі» (ІНД та ДН-індуковані) та субхронічні (МКС, ІБП та АСК-індуковані) моделі НПЗЗ-індукованої ЕГЕКП у щурів-самців масою 200–220 г.

Моделювання НПЗЗ-індукованої ЕГЕКП у щурів-самців обумовлене гендерним детермінізмом фармакологічних ефектів НПЗЗ, у тому числі їх ульцерогенності [20]. За 24 год. до моделювання НПЗЗ-ЕГЕКП щури були позбавлені доступу до їжі з доступом до води *ad libitum* та усуненням явища копрофагії.

У дослідженнях використовували таблетовані лікарські форми досліджуваних НПЗЗ, які подрібнювали та емульгували у воді *pro injectionibus* (ПАТ «Галичфарм», Україна) із додаванням полісорбату Twin-80, що обумовлено хімічною нейтральністю, низькою токсичністю та стійкістю до дії слабких кислот останнього. Водно-полісорбатні суспензії НПЗЗ вводили в/шл за допомогою металевого атравматичного зонду.

Евтаназію тварин проводили шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним «рауш-наркозом».

Гостру ІНД-індуковану ЕГЕКП відтворювали шляхом одноразово в/шл введення шурам ІНД (АТ «Софарма», Болгарія) в дозі 60 мг/кг (6 УД₅₀) [63, 115]. Евтаназію тварин проводили через 4 год. після введення НПЗЗ.

Гостру ДН-індуковану ЕГЕКП відтворювали шляхом одноразово в/шл введення щурам ДН (ПрАТ "Хімфармзавод «Червона зірка»", ТОВ "Фармацевтична компанія «Здоров'я»", Україна) в дозі 50 мг/кг ($UD_{50} = 48$ мг/кг) [64, 115, 240]. Евтаназію тварин проводили через 24 год. після введення НПЗЗ.

Субхронічну МКС-індуковану ЕГЕКП відтворювали шляхом в/шл введення щурам МКС (ТОВ «Астрафарм», Україна) в дозі 30 мг/кг ($2 UD_{50}$) 1 раз/добу впродовж 3 днів за методикою, описаною [115, 128] в модифікації. Евтаназію тварин проводили через 24 год. після останнього введення НПЗЗ.

Субхронічну ІБП-індуковану ЕГЕКП відтворювали шляхом в/шл введення щурам ІБП (ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця»", Україна) в дозі 310 мг/кг (UD_{50}) 1 раз/добу впродовж 3 днів за методикою [25, 115] в модифікації. Евтаназію тварин проводили через 24 год. після останнього введення НПЗЗ.

Субхронічну АСК-індуковану ЕГЕКП відтворювали шляхом в/шл введення щурам АСК (ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця»", Україна) в дозі 150 мг/кг ($0,6 UD_{50}$) 5 разів ($3,1 UD_{50}$) впродовж трьох днів [115, 119]. Евтаназію тварин проводили через 24 год. після останнього введення НПЗЗ.

КЕП (0,16 мл/кг) вводили в/м у профілактичному (при ІНД та ДН ЕГЕКП), лікувально-профілактичному (при ІБП та АСК ЕГЕКП) та лікувальному (при МКС ЕГЕКП) режимах застосування (табл. 12).

КЕП отримано у Державному підприємстві «Міжвідомчий науковий центр (МНЦ) кріобіології і кріомедицини НАН, Національної академії медичних наук (НАМН) та МОЗ України» у вигляді ампульованого препарату **«Кріоцелл-кріоекстракт плаценти»**.

У якості референс-препарату в умовах профілактичного та лікувально-профілактичного режимів застосування обрано ІПП V покоління – **езомепразол** (АТ «Актавіс», Ісландія) в дозі 50 мг/кг в/шл (див. табл. 12). [258]. Щурам контрольної групи за 60 хв до НПЗЗ в/шл вводили воду *pro injectionibus* (ПАТ «Галичфарм», Україна) з розрахунку 0,1 мл / 100 г маси тіла.

Кріозрошення проводили на моделі ДН-індукованої гастропатії за профілактичного режиму застосування КЕП (5 днів до введення НПЗЗ) шляхом одноразового локального вприскування парів рідкого азоту (температура $-120^{\circ}C$) на СОШ протягом 10 с з використанням кріоапарату «Cryo Pro Maxi» (Cortex Technology, Данія).

**Режими застосування КЕП та езомепразолу
на моделі НПЗЗ-ЕГЕКП**

Модель	НПЗЗ (дозовий режим, шлях введення кратність)	Режим застосування КЕП (0,16 мл/кг, в/м); езомепразол (50 мг/кг, в/шл)		
		Профілактичний	Лікувально-профілактичний	Лікувальний
Гостра	ІНД (60 мг/кг, в/шл, одноразово)	1 р/д – 5 днів до введення НПЗЗ	–	–
	ДН (50 мг/кг, в/шл, одноразово)	1 р/д – 5 днів до введення НПЗЗ*	–	–
Субхронічна	МКС (30 мг/кг, в/шл, 1 р/д – 3 дні)	–	–	через 60 хв після кожного введення НПЗЗ та 1 р/д – 2 дні після
Субхронічна	ІБП (310 мг/кг, в/шл, 1 р/д – 3 дні)	–	1 р/д – 2 дні до введення НПЗЗ та через 60 хв після кожного введення НПЗЗ	–
	АСК (150 мг/кг, в/шл, 1 р/д – 5 днів)	–	через 60 хв після кожного введення НПЗЗ	–

Примітка. * – додатково досліджувалась ефективність дії низьких температур за відповідних режимів застосування КЕП.

Препарат КЕП «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» згідно інструкції застосовується у пацієнтів парентерально в разовій дозі 1,8 мл. Відповідно разова доза для щурів становить: $(1,8 \text{ мл} / 70 \text{ кг}) \times 6,35 = 0,16 \text{ мл} / \text{кг}$ маси тіла або відповідно 0,02 мл / 100 г маси тіла щура. Разова доза для мишей становить відповідно: $(1,8 \text{ мл} / 70 \text{ кг}) \times 5,61 = 0,14 \text{ мл} / \text{кг}$ маси тіла або відповідно 0,014 мл / 100 г маси тіла мишей. Перед застосуванням препарату «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» разову дозу (0,16 мл/кг) екстемпорально розводили у 0,9 % р-ні NaCl (ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна) з розрахунку 0,1 мл 0,9 % розчину (р-ну) NaCl / 100 г маси тіла та вводили в/м за 60 хв до НПЗЗ [119].

Технологія отримання КЕП

Донорами плацент виступають здорові породіллі, що повинні бути обстежені аналогічно донорам крові. Плацента заготовлюється після операції кесарів розтин. Препарати підлягають обов'язковому обстеженню на пренатальні інфекції, сифіліс, СНІД, гепатити А, В, С, цитомегаловірусну інфекцію. Перед кріоконсервуванням плаценту відмивають від крові, фрагментують, відділяють амніотичну оболонку та опускають у флакони із 0,2 л 0,9 % розчину (р-ну) KCl, 250 мг канаміцину та 4 мл димексиду.

Фрагменти плацентарної тканини опускають в флакон із 0,5 л 0,9 % р-ну NaCl. Флакон збовтують впродовж 1–2 хв, зливають надосад та доливають новий фізіологічний р-н. Цю процедуру повторюють 5–6 разів.

До диспергованої тканини додають 0,9 % р-ну NaCl (1:2), витримують добу при температурі 4 °С та центрифугують 15–20 хв при 4000 об/хв. Одержаний надосад фільтрують через міліпорові фільтри (діаметр 0,22 мкм), фасують в ампули прозорого скла по 1,8 мл та зберігають у рідкому азоті [48].

Характеристика досліджуваних ЛЗ

З групи НПЗЗ для досліджень нами обрано п'ять найуживаніших препаратів різних хімічних підгруп (похідне саліцилової кислоти – АСК, похідне індолоцтової кислоти – ІНД, похідне арилпропіонової кислоти – ІБП, похідне енолікової кислоти (оксиками) – МКС та похідне арилоцтової кислоти – ДН), які включено до Державного формуляра ЛЗ України (табл. 13) [6].

Таблиця 13

Фармацевтична характеристика досліджуваних ЛЗ та КЕП

Міжнародна непатентована назва	Торгова назва (виробник, країна)	Дозвільні документи	Форма випуску
КЕП	«Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» (ДП «МНЦ кріобіології і кріомедицини НАН, НАМН та МОЗ України», м. Харків, Україна). Придатність 5 р. (зберігання при-196° С).	Сертифікат МОЗ України про державну реєстрацію № 604/11-300200000 від 15.08.2011 р. Серія № 1934 від 27.07.2016 р.	амп. 1,8 мл
АСК	«Ацетилсаліцилова кислота – Дарниця» (ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця», м. Київ, Україна). Придатність 4 р.	Реєстраційне посвідчення: UA/2992/01/02 від 15.01.2015 р. до 15.01.2020 р.	таб. 0,5 г
ІНД	«Індометацин Софарма» (АТ «Софарма», Болгарія). Придатність 2 р.	Реєстраційне посвідчення: UA/2304/03/01 від 05.07.2019 р. необмежене	таб. 0,25 г
ІБП	«Ібупрофен – Дарниця» (ПрАТ "Фармацевтична фірма «Дарниця», м. Київ, Україна). Придатність 2 р.	Реєстраційне посвідчення: UA/2350/01/01 від 18.02.2015 р. до 18.02.2020 р.	таб. 0,2 г
МКС	«Мелоксикам – Астрафарм» (ТОВ «Астрафарм», м. Вишневе, Україна). Придатність 5 р.	Реєстраційне посвідчення: UA/8397/01/01 від 12.07.2013 р. до 12.07.2018 р.	таб. 0,0075 г
ДН	«Диклофенак» (ПрАТ "Хімфармзавод «Червона зірка», ТОВ "Фарм. компанія «Здоров'я», м. Харків, Україна). Придатність 3 р.	Реєстраційне посвідчення: UA/0708/01/01 від 21.03.2019 р. необмежене	таб. 0,05 г
Езомепразол	«Езомепразол» (АТ «Актавіс», Ісландія). Придатність 1,5 р.	Реєстраційне посвідчення: UA/14202/01/02 від 06.03.2015 р. до 06.03.2020 р.	таб. 0,04 г

За селективністю інгібування ізоформ ЦОГ серед досліджуваних НПЗЗ ДН, ІБП та ІНД виступали представниками неселективних інгібіторів ЦОГ, МКС – представляв селективні інгібітори ЦОГ-2, а АСК (низькі дози) та ІНД – селективні інгібітори ЦОГ-1 (табл. 14) [137].

Таблиця 14

Фармакологічна характеристика досліджуваних НПЗЗ [115, 139]

НПЗЗ	ІС	ЕД ₅₀ щури, мг/кг	УД ₅₀ щури, мг/кг	ЛД ₅₀ щури, мг/кг	ТІ = ЛД ₅₀ / ЕД ₅₀	ІПС = ЛД ₅₀ / УД ₅₀	Т _{1/2} , год
АСК	166	98	240	1600	23,5	6,7	0,2
ІНД	60	10	10	47	4,7	4,7	6–12
ІБП	15	48	310	750	15,6	2,4	2
МКС	0,8	1 [139]	15	84	84	5,6	22
ДН	0,7	8	48	370	46,3	7,7	1–2

Примітки:

1. ІС – індекс селективності (ЦОГ-1 / ЦОГ-2);
2. ЛД₅₀ – летальна доза для 50,0 % тварин;
3. УД₅₀ – ульцерогенна доза для 50,0 % тварин;
4. ЕД₅₀ – ефективна доза для 50,0 % тварин за протизапальною активністю;
5. ТІ – терапевтичний індекс;
6. ІПС – індекс переносимості;
7. Т_{1/2} – час напіврозпаду.

Дослідження морфо-функціонального стану ШКТ

Візуально вивчали стан стравоходу, шлунка, тонкого та товстого кишківника – оцінювали здуття, гіперемію СО, набряк, порушення складчастості, геморагії, розраховували ВІ. Функціональний стан ШКТ характеризували за показниками секреторної активності шлунка та інтенсивністю моторно-евакуаторних процесів.

Макроскопічна оцінка слизової оболонки стравоходу, шлунка та кишківника щурів

Евтаназію тварин проводили шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним наркозом. Після лапаротомії по білій лінії живота (*linea alba abdominis*) проводили оцінку розміру шлунка (здуття) та наявність спайкових процесів з суміжними органами, як ознак перфорації. Екстирповані шлунки розкривали по великій кривизні (*curvatura ventriculi major*), промивали у 0,9 % р-ні NaCl та робили знімки за допомогою цифрового фотоапарату Canon PowerShot SX120 IS. Вплив досліджуваних лікарських засобів на стан шлунка оцінювали макроскопічно за наступними критеріями: набряк, гіперемія та наявність крововиливів на поверхні СО. Для кожної групи проводили розрахунок відсоткового складу піддослідних тварин за вказаними ознаками та середнє значення їх виразності, яку оцінювали за наступною шкалою [27, 119]:

- 0 балів – ознака відсутня;
- 1 бал – ознака слабо виражена;
- 2 бали – ознака виражена помірно;
- 3 бали – ознака добре виражена.

Після видалення стравоходу з органомкомплексу його розрізали у повздовжньому напрямку та проводили макроскопічну оцінку структури СО, на предмет наявності змін, виділяючи стадії: М – змінена СО (гіперемія, набряк та ін.) та N (зміні відсутні).

ВІ розраховували як було описано вище (див. табл. 7).

ПВА (%) визначали за формулою 3.1:

$$\text{ПВА} = \frac{(\text{ВІ дослідної групи} - \text{ВІ контрольної групи})}{\text{ВІ контрольної групи}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.1 ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРАЗНОСТІ АНТИУЛЬЦЕРОГЕННОЇ ДІЇ КЕП ПРИ ЕГЕКП, ІНДУКОВАНИЙ НПЗЗ РІЗНИХ ХІМІЧНИХ ГРУП

3.1.1. Макроскопічна оцінка слизової оболонки травного тракту щурів на тлі ІНД-індукованого ульцерогенезу

Проведене дослідження показало, що одноразове введення ІНД в дозі 60 мг/кг призводило до статистично вірогідного ($p < 0,05$) розвитку ерозивно-виразкових ушкоджень шлунка у 100,0 % щурів та тонкої кишки у 57,1 % щурів (табл. 15).

Таблиця 15

Стан СОШ на тлі ІНД -індукованої гастропатії ($M \pm m, n=28$)

Умови досліджу		Показник				
		Здуття	Геморагії	Гіперемія	Набряк	Поруш. складчастості
Інтактні щури (n=7)	Абс. (%)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0	0 [0; 0]
ІНД (n=7)	Абс. (%)	0/7 (0)	7/7* (100)	3/7* (42,9)	0/7 (0)	3/7* (42,9)
	Бали	0	3 [3; 3]*	0 [0; 2]	0	0 [0; 3]
ІНД + КЕП (n=7)	Абс. (%)	0/7 (0)	5/7* (71,4)	0/7# ° (0)	0/7 (0)	0/7# (0)
	Бали	0	1 [0,5; 2,5]* #	0 [0; 0]	0	0
ІНД + Езомепразол (n=7)	Абс. (%)	0/7 (0)	3/7*# (42,9)	3/7 (42,9)	0/7 (0)	0/7# (0)
	Бали	0	0 [0; 2] #	0 [0; 1]	0	0

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки ІНД;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ІНД та езомепразол.

У 57,1% тварин відмічено М-стадію езофагіту (табл. 16). Макроскопічна оцінка стану СОШ показала, що у всіх тварин відмічено численні точкові геморагії (рис. 20 Б), а у 49,2 % щурів відмічено слабо-виражену гіперемію та порушення складчастості

(див. табл. 15). Інтегральна оцінка стану СОШ показала, що ВІ в групі щурів контрольної групи становив 3,5 (див. табл. 16).

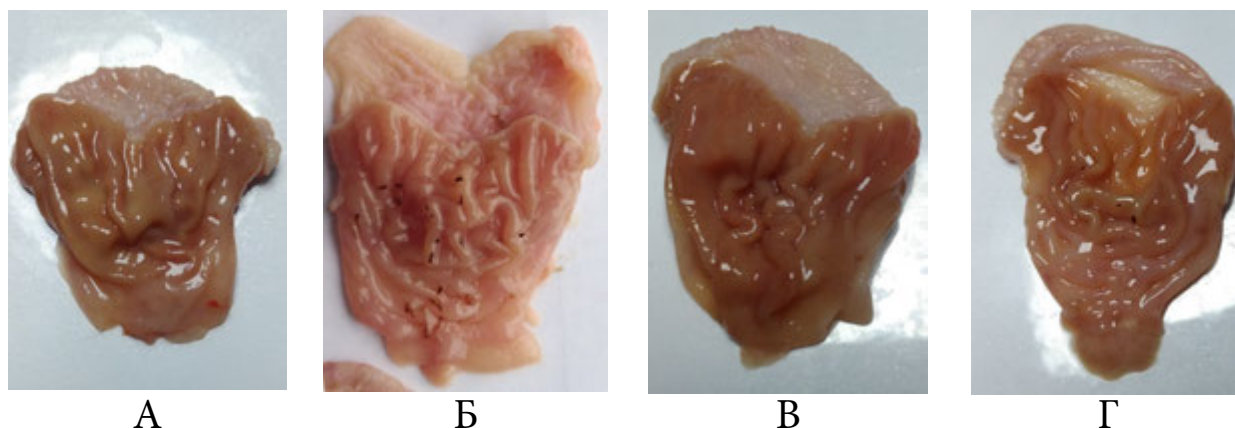


Рис. 20 Стан СОШ при ІНД-індукованій гастропатії

Примітки:

1. А – інтактної тварини;
2. Б – тварини з ІНД -індукованою гастропатією;
3. В – тварини з ІНД-індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП;
4. Г – тварини з ІНД-індукованою гастропатією в умовах корекції езомепразолом.

Оцінка стану СО тонкої кишки показала, що у 57,1 % щурів, яким вводили тільки ІНД відмічалось $11,1 \pm 4,1$ виразок на 10 см довжини, з яких – $7,3 \pm 2,7$ з гемосидерином (див. табл. 16), що вказувало на ушкодження не тільки поверхневого епітелію, а і інтими судин. Перфоративних виразок відмічено не було, що вірогідно обумовлено терміном дослідження, оскільки за 4 год. ІНД не мав настільки деструктивного впливу на кишківник, зокрема через недостатній час для реалізації механізму ентеро-гепатичної рециркуляції метаболітів останнього, що за даними літератури розглядається як один із ключових механізмів ентеротоксичності НПЗЗ [156].

**Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ
на тлі ІНД-індукованого ушкодження (M ± m, n = 28)**

Відділ ШКТ		Стра- вохід	Шлунок			Тонка кишка			Товста кишка					
Показник	Кількість тварин, n		Кількість тварин з М-ступенем ушкод- ження, абс. (%)	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Середній бал в групі	ВІ	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Кількість виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Кількість виразок на 10 см довжини		
		загальне число						з гемосиде- рином	перфоративних	загальне число		з тромбами	перфоративних	
Умови дослідження														
Інтактні щури	7	0 (0)	0 (0)	0	0	0/7 (0)	0	0	0	0/7 (0)	0	0	0	
ІНД	7	4/7 (57,1) *	7/7 (100) *	3,5±0 ,33 *	3,5	4/7* (57,1)	11,1± 4,1 *	7,3 ±2,7 *	0	0/7 (0)	0	0	0	
ІНД + КЕП	7	0/7# (0)	4/7 (57,1) *#	1,9±0 ,34 *#°	1,08	0/7# (0)	0 #°	0 #°	0	0/7 (0)	0	0	0	
ІНД + Езомепразол	7	0/7# (0)	2/7 (28,6) #	0,9±0 ,26 *#	0,26	4/7* (57,1)	3,1 ±1,4 *	1,7 ±,07 *	0	0/7 (0)	0	0	0	

- Примітки: 1. * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;
2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки ІНД;
3. ° – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ІНД та езомепразол.

Профілактичне введення езомепразолу призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) ослаблення ульцерогенної дії ІНД на СОШ, обумовленого, зокрема зниженням кислотності шлункового соку. Так, середній бал візуальної оцінки стану СОШ у 3,9 рази був нижче за показники щурів контрольної групи та становив $0,9 \pm 0,26$ (рис. 20 Г), а ВІ у 13,5 рази був статистично вірогідно нижче ($p < 0,05$) за показники щурів контрольної групи (3,5) та становив 0,26 (див. табл. 16).

Крім того встановлено, що введення езомепразолу чинило ентеропротективну дію, на що вказувала статистично вірогідно ($p < 0,05$) у 3,6 рази нижча середня кількість виразкових дефектів СО тонкої кишки на 10 см довжини (див. табл. 16), проте загальна кількість тварин із ушкодженнями, як і в контролі становила 57,1 %.

Профілактичне в/м введення КЕП призвело, за аналогією з езомепразолом, до ослаблення ульцерогенного впливу на СОШ, проте поступалось за величиною гастропротективної активністю досліджуваному ІПП. Так, на тлі комбінованого застосування ІНД та КЕП геморагії відмічено у 71,4 % щурів, в той час як при застосування ІНД і КЕП тільки у 42,9 % (див. табл. 15). Проте, варто відзначити, що на відміну від щурів, яким профілактично вводили езомепразол у тварин яким в аналогічному режимі вводили КЕП не відмічалась гіперемія СОШ, в той час як у групі зрівняння зазначену ознаку виявлено у 42,9 % тварин (див. табл. 16). Встановлені розбіжності можна пов'язати із підвищенням резистентності СОШ щурів, яким профілактично вводили КЕП до місцевопоздразнюючої дії ІНД.

Інтегральна оцінка стану СОШ показала, що у щурів, яким вводили у профілактичному режимі КЕП виразкові ушкодження зустрічались у двічі частіше ніж у щурів, яким вводили езомепразол та були відмічені у 57,1 % тварин (див. табл. 16), а ВІ у 1,9 рази був нижчим ніж у щурів, яким вводили тільки ІНД, що вказує на гастропротективну активність КЕП, проте зазначена активність у 4 рази поступалась показникам щурів, яким вводили досліджуваний ІПП (рис. 20 В).

Варто відзначити, що на відміну від езомепразолу, на тлі введення КЕП у тварин не відмічалось ушкодження тонкого кишківника, що вказує на виразні ентеропротективні властивості досліджуваного кріоекстракту (див. табл. 16).

3.1.2. Оцінка стану слизової оболонки травного тракту шурів на тлі ДН-індукованого ульцерогенезу

3.1.2.1. Макроскопічна оцінка стану

Проведене дослідження показало, що в/шл введення ДН у дозі 50 мг/кг призвело до ерозивно-виразкового ушкодження СОШ у 100,0 % шурів (табл. 17). Виразне здуття шлунка було відмічене у 71,4 % тварин, геморагії та порушення складчастості – у 100,0 %, а гіперемія СОШ – у 85,7 % тварин (див. табл. 17, рис. 21 Б). Помірне порушення складчастості СОШ (2 [1; 2] бали) у тварин може вказувати на локальне запалення через місцевопоздразнюючу дію ДН та інфільтрацію СО, а також пов'язано із наявністю чисельних виразкових дефектів – ВІ становив 3,9 (див. табл. 18, рис. 21 Б) [35].

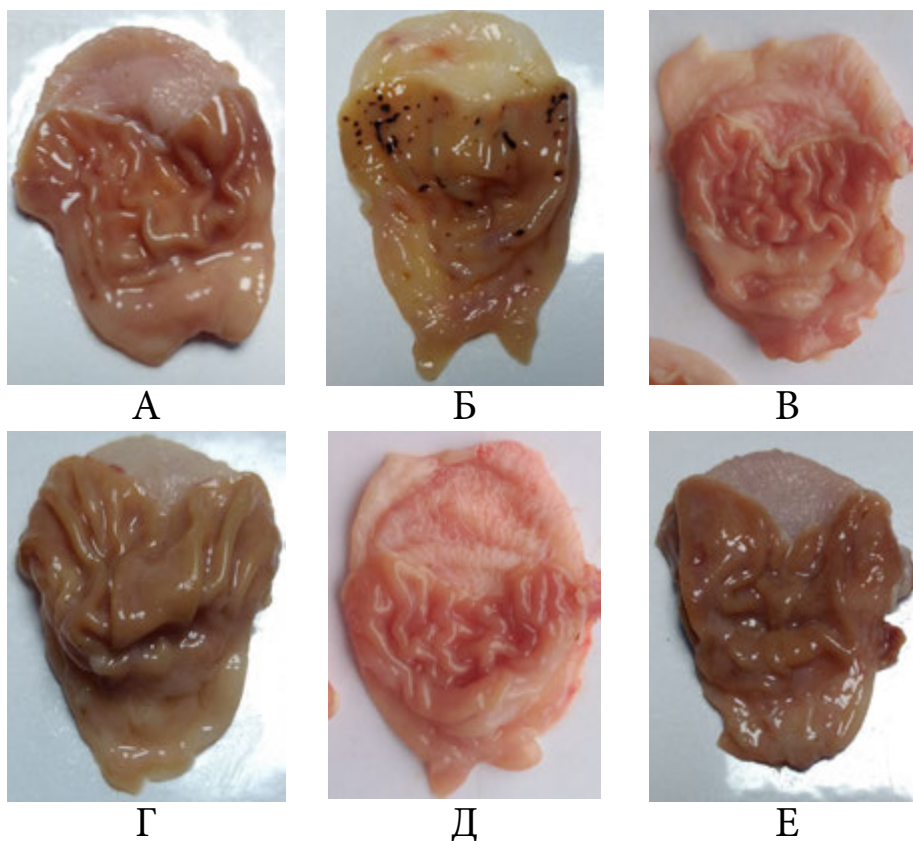


Рис. 21 Стан СОШ при ДН-індукованій гастропатії

Примітки:

1. А – інтактної тварини;
2. Б – тварини з ДН-індукованою гастропатією;
3. В – тварини з ДН-індукованою гастропатією в умовах дії низьких температур;
4. Г – тварини з ДН-індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП;

5. Д – тварини з ДН -індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП та дії низьких температур;
6. Е – тварини з ДН-індукованою гастропатією в умовах корекції езомепразолом.

Таблиця 17

Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СОШ на тлі ДН-індукованої гастропатії (М ± m або Me [LQ; UQ] n=42)

Умови досліджу		Показник				
		Здуття	Геморагії,	Гіперемія	Набряк	Порушення складчастості
Інтактні щури (n=7)	Абс. (%)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0	0	0	0
ДН (n=7)	Абс. (%)	5/7* (71,4)	7/7 (100)	6/7 (85,7)	1/7 (14,3)	7/7 (100)
	Бали	3 [1; 3]*	3 [2; 3]*	1 [1; 1,5]*	0	2 [1; 2]*
ДН + КЕП (n=7)	Абс. (%)	0/7# (0)	4/7 (57,1)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0#	1 [0; 2] #	0#	0	0#
ДН + дія низьких температур (n=7)	Абс. (%)	3/7*§ (42,9)	2/7 (28,6)	7/7 (100)	3/7 (42,9)	7/7 (7)
	Бали	0 [0; 3]	0 [0; 1,5] #	3 [2,5; 3] #§	0 [0; 2,5]	2 [1,5; 2] §
ДН + дія низьких температур + КЕП (n=7)	Абс. (%)	0/7#§" (0)	0/7 (0)	7/7 (100)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0#	0 [0; 0] #§	2 [1,5; 2,0] §"	0	0#"
ДН + Езомепразол (n=7)	Абс. (%)	0/7#§" (0)	2/7 (28,6)	2/7 (28,6)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0#	0 [0; 1,5] #	0 [0; 1,5] "	0	0#"

Примітки:

1. * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;
2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки ДН;
3. § – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ДН та КЕП;
4. " – p < 0,05 відносно показників щурів з ДН-індукованою гастропатією, яким проводили криозрошення СОШ.

Варто відзначити, що введення ДН викликало ураження стравоходу у 42,9% щурів (див. табл. 18).

Вплив КЕП та дії низьких температур на стан проксимальних відділів ШКТ на тлі ДН-індукованої гастропатії (M ± m або Me [LQ; UQ], n=42)

Показник Умови досліджу	Відділ ШКТ		Стравохід	Шлунок	
	К-ть тварин, n	Кількість тварин з М-ступенем ушкодження, абс. (%)	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Середній бал в групі	ВІ
Інтактні щури	7	0 (0)	0 (0)	0	0
ДН	7	3/7* (42,9)	7/7* (100)	3,9 ±0,26*	3,9
ДН + КЕП	7	0/7# (0)	2/7# (28,6)	1,1 ±0,26*#	0,31
ДН + дія низьких температур	7	0/7# (0)	4/7* (51,7)	2,1 ±0,46*#	1,09
ДН + дія низьких температур + КЕП	7	0/7# (0)	1/7*# (14,3)	0,9 ±0,26*#§	0,13
ДН + Езомепразол	7	0/7# (0)	2/7*# (28,6)	1,6 ±0,53*#	0,46

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки ДН;
- § – $p < 0,05$ відносно показників щурів які отримували ДН та КЕП;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та езомепразол.

Застосування КЕП впродовж 5 днів до введення ультрогенної дози ДН супроводжувалось співставним з езомепразолом антиультрогенним ефектом – ВІ становив 0,31, проте у 57,1 % щурів було відмічено наявність геморагій у СОШ (див. табл. 17, рис. 21 В).

Отримані дані вказують, що в умовах курсового превентивного введення КЕП за противиразковою дією співставляється з езомепразолом, проте відомо, що на відміну від КЕП, ІПП здатні нівелювати ульцерогенну дію НПЗЗ навіть за одноразового введення, оскільки здатні ослаблювати ключовий патогенетичний чинник агресії в умовах НПЗЗ-індукованої гастропатії – знижувати кислотність шлункового соку.

Оцінка ефективності дії низьких температур на СОШ в умовах ДН-індукованого ульцерогенезу показала найнижчу противиразкову ефективність – ВІ у 2,4 рази перевищував аналогічний показник у щурів на тлі застосування езомепразолу (див. табл. 17), а виразки шлунка були виявлені у 51,7 % щурів. Привертає увагу, що виразну гіперемію та слабковиражений набряк СОШ (рис. 21 Г) відмічено у 100,0 % щурів, що перевищувало аналогічні показники у тварин контрольної групи (ДН-індукований ульцерогенез без корекції). Виявлені зміни в СОШ обумовлені локальною гіперемією СОШ на дію низьких температур [35].

Найвиразніше нівелювання ульцерогенної дії ДН відмічено на тлі комбінованого превентивного застосування КЕП та дії низьких температур – ВІ у 12,6 разів був нижчим за показники щурів з ДН-індукованим ульцерогенезом без корекції та у 1,5 рази перевищував за ефективністю езомепразол (див. табл. 18). Виразкові ураження СОШ виявлені тільки у 14,3 % тварин, а з числа інших макроскопічних змін відмічена тільки помірна гіперемія (див. табл. 17, рис. 21 Д).

Встановлено, що за величиною ПВА у шлунку на моделі ДН-індукованого ульцерогенезу досліджувані підходи до профілактики ушкодження СОШ доцільно розташувати у наступній послідовності: дія низьких температур + КЕП (ПВА = 96,7 %) > КЕП (ПВА = 92,1 %) = езомепразол (ПВА = 88,2 %) > дія низьких температур (ПВА = 72,1 %).

Макроскопічна оцінка стану дистальних відділів ШКТ показала, що введення ДН призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) ураження СО тонкої та товстої кишки у 42,9 % щурів (табл. 19, табл. 20).

Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СО тонкої кишки на тлі ДН-індукованого ушкодження ($M \pm m, n=42$)

Показник Умови дослідду	К-ть тварин, n	К-ть тварин з виразками, абс. (%)	Кількість виразок на 10 см довжини		
			загальне число	з гемосиде- рином	перфора- тивних
Інтактні щури	7	0/7 (0)	0	0	0
ДН	7	3/7* (42,9)	0 [0; 20]	0 [0; 11]	0
ДН + КЕП	7	0/7 # (0)	0	0	0
ДН + дія низьких температур	7	2/7 (28,6)	0 [0; 9]	0 [0; 8]	0
ДН + дія низьких температур + КЕП	7	2/7 (28,6)	0 [0; 7]	0 [0; 3]	0
ДН + Езомепразол	7	2/7 (28,6)	0 [0; 13]	0 [0; 5]	0

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин.
2. # – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи.

Привертають увагу результати оцінки стану СО товстої кишки у щурів з ДН-індукованим ульцерогенезом – у щурів, яким превентивно вводили езомепразол виразкові дефекти виявлені у 42,9 % щурів (див. табл. 20), аналогічно до показників тварин групи щурів, яким не проводили корекції, що узгоджується з даними про відсутність ефективності у ІПП відносно ДН-асоційованого ураження товстої кишки.

Варто відзначити, що у щурів, яким вводили тільки КЕП або застосовували комбіновано КЕП з дією низьких температур уражень товстої кишки на тлі ДН-асоційованого ульцерогенезу виявлено не було (див. табл. 20).

Для з'ясування механізмів гастропротективної активності КЕП та дії низьких температур проведено біохімічні дослідження гомогенатів СОШ для визначенням стану перекисного окислення ліпідів-антиоксидантної системи та антиоксидантної системи (ПОЛ-АОС), а також вмісту цитопротективних ензимів – ПГ-синтаз та вазоактивних медіаторів – метаболітів NO.

Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СО товстої кишки на тлі ДН-індукованого ушкодження ($M \pm m, n=42$)

Показник Умови досліджу	К-ть тварин, n	К-ть тварин з виразками, абс (%)	Кількість виразок на 10 см довжини		
			загальне число	з тромбами	перфоративних
Інтактні щури	7	0/7 (0)	0	0	0
ДН	7	3/7* (42,9)	0 [0; 21]	0 [0; 9]	0
ДН + КЕП	7	0/7# ° (0)	0	0	0
ДН + дія низьких температур	7	0/7# ° (0)	0	0	0
ДН + дія низьких температур + КЕП	7	0/7# ° (0)	0	0	0
ДН + Езомепразол	7	3/7 (42,9)	0 [0; 29]	0 [0; 22]	0

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки ДН;
3. ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та езомепразол.

Проведене дослідження показало, що введення ульцерогенної дози ДН призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження значення АПІ у 3,6 рази відносно показників інтактних тварин, який становив відповідно $10,5 \pm 0,42$ (табл. 21). Вказані зміни обумовлені оксидативним стресом в СОШ, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) зростання вмісту МДА на $102,5 \pm 11,0\%$ та пригнічення активності каталази на $71,1 \pm 3,3\%$ відносно показників інтактних щурів. Оксидативний стрес є одним із патогенетичних механізмів розвитку НПЗЗ-індукованої гастропатії, що зумовлює доцільність застосування антиоксидантів (мексидол, гіпоксен та ін.) або препаратів з антиоксидантними властивостями [43, 97].

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на біохімічні показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах СОШ щурів, $M \pm m$ (95 % ДІ); $n = 42$

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
	Інтактні щури	ДН	ДН + КЕП	ДН+ кріозрошення	ДН+ КЕП + кріозрошення	ДН + Езомепразол
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
МДА, мкмоль/кг тканини	9,6±0,37 (95 % ДІ: 8,8–10,3)	19,1±0,40* (95 % ДІ: 18,4–19,9)	12,7±0,81*# (95 % ДІ: 10,1–12,8)	15,9±0,59*#§ (95 % ДІ: 14,7–17,0)	11,4±0,69*# ° (95 % ДІ: 11,6–14,4)	10,0±0,44# (95 % ДІ: 9,1–10,9)
Каталаза, мкат/кг тканини	3,6±0,18 (95 % ДІ: 3,2–3,9)	2,0±0,05* (95 % ДІ: 1,9–2,1)	2,8±0,10*# ° (95 % ДІ: 2,6–3,0)	2,7±0,08*# ° (95 % ДІ: 2,5–2,9)	3,6±0,14#§μ (95 % ДІ: 3,3–3,9)	3,3±0,07# (95 % ДІ: 3,1–3,4)
АПІ	38,0±2,97 (95 % ДІ: 32,2–43,8)	10,5±0,42* (95 % ДІ: 9,7–11,3)	23,0±2,11*# ° (95 % ДІ: 18,9–27,1)	17,2±0,84*# ° (95 % ДІ: 15,5–18,8)	32,1±2,08# (95 % ДІ: 28,0–36,2)	33,0±1,03# (95 % ДІ: 30,9–35,0)

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки ДН;
- § – $p < 0,05$ відносно показників щурів які отримували ДН та КЕП;
- μ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та виконували кріозрошення;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та езомепразол.

Наявність доведеної антиоксидантної активності у КЕП [45, 108] дозволяє розглядати його як засіб патогенетичної терапії НПЗЗ-індукованої гастропатії: встановлено, що п'ятиденне профілактичне введення КЕП призвело до послаблення інтенсивності оксидативного стресу в СОШ, викликаного ДН на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) зростання АПІ у 2,2 рази відносно показників щурів з ДН-індукованою гастропатією, переважно за рахунок підвищення активності каталази у СОШ у 1,4 рази.

Аналогічні зміни з боку антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу відмічені на тлі застосування ДН та езомепразолу (VI група), де вміст МДА в СОШ зменшився у 1,9 рази, а активність каталази зросла у 1,7 рази відносно показників щурів з ДН-індукованою гастропатією, проте вказані зміни патогенетично пов'язані саме з кислотосупресивною активністю ІПП, оскільки вони не володіють виразною антиоксидантною активністю.

Проведення кріозрошення СОШ у щурів з ДН-індукованою гастропатією на відміну від застосування КЕП, призвело до менш виразного зростання АПІ (1,6 та 2,2 рази відповідно), що можна пов'язати із активацією прооксидантної системи, обумовленою руйнуванням епітеліоцитів шлунка під дією низьких температур. В той же час профілактичне введення КЕП та проведення кріозрошення щурам з ДН-індукованою гастропатією призвело до найвиразніших змін з боку антиоксидантної системи – активність каталази в СОШ зросла до рівня інтактних щурів та становила відповідно $3,6 \pm 0,14$ мкат/кг тканини, що статистично вірогідно ($p = 0,01$) перевищувало на 28,6 % показники тварин, яким вводили КЕП, але не проводили кріозрошення. За значенням АПІ комбіноване введення ДН та КЕП та подальше проведення кріозрошення практично співставлялось з показниками щурів, яким вводили референс-препарат езомепразол, що становило відповідно $32,1 \pm 2,08$ та $33,0 \pm 1,03$ відповідно. Варто відзначити, що на відміну від езомепразолу, провідним механізмом гастроцитопротективної дії комбінованого введення КЕП та проведення кріозрошення СОШ виступає модуляція прооксидантно-антиоксидантної системи, в той час як дія езомепразолу спрямована на послаблення агресивності шлункового соку.

Оцінка активності ПГ-синтази в СОШ показала (табл. 22), що введення ДН призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) пригнічення її активності на $53,6 \pm 4,8$ % відносно показників інтактних щурів та становила відповідно $8,4 \pm 0,57$ мкмоль/хв/мг білка.

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на окремі біохімічні показники гомогенатів СОШ щурів,
 $M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ]; $n=42$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
	Інтактні щури	ДН	ДН + КЕП	ДН+ кріозрошення	ДН + кріозрошення+ КЕП	ДН + Езомепразол
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Активність ПГ-синтази, мкмоль/хв/мг білка	18,6±0,72 (95 % ДІ: 17,2–20,0)	8,4±0,57 (95 % ДІ: 7,3–9,5) *	17,0±1,2 (95 % ДІ: 15,0–19,0) # °	10,1±0,63 (95 % ДІ: 8,9–11,4) *§ °	20,1±0,67 (95 % ДІ: 18,8–21,5) #§ μ °	12,6±0,78 (95 % ДІ: 11,0–14,1) *#§ μ
Метаболіти NO, ммоль/г тканини	920 [905; 925]	550 [520; 555] *	780 [760; 790] *#	820 [810; 835] *#§ °	940 [905; 950] #§ μ °	710 [700; 715] *#§

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки ДН;
- § – $p < 0,05$ відносно показників щурів які отримували ДН та КЕП;
- μ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та виконували кріозрошення;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та езомепразол.

Відомо, що крім синтезу ПГ, циклооксигеназа першого типу (ЦОГ-1) забезпечує кровопостачання СОШ та дванадцятипалої кишки, а також стимулює утворення бікарбонатів, що виконують гастропротективну та трофічну функції. При застосування НПЗЗ та блокаді ЦОГ-1 всі ці функції порушуються, а синтез ПГ пригнічується за рахунок зниження активності ПГ-синтаз, виснаження їх запасів в тканинах, внаслідок чого розвивається ятрогенна недостатність ПГ [180, 130,].

Введення езомепразолу (VI група), як і проведення кріозрошення (IV група) щурам з ДН-індукованою гастропатією призвели до співставного зростання активності ПГ-синтаз у 1,2 та 1,5 ($p = 0,001$) рази відповідно відносно показників щурів контрольної групи ($8,4 \pm 0,57$ мкмоль/хв/мг білка) та становила $10,1 \pm 0,63$ мкмоль/хв/мг білка та $12,6 \pm 0,78$ мкмоль/хв/мг білка відповідно.

Найвиразніші зміни з боку активності ПГ-синтаз відмічені у щурів з ДН-індукованою гастропатією, яким вводили КЕП – досліджуваний показник зріс у 2,0 рази в групі щурів, яким вводили ДН та КЕП та у 2,4 рази у тварин, яким вводили ДН, КЕП та проводили кріозрошення. Встановлені міжгрупові розбіжності вказують на спроможність КЕП нівелювати пригнічуючий вплив ДН на активність ПГ-синтаз в СОШ, що може виступати одним з механізмів його гастропротективної активності в умовах НПЗЗ-індукованого ульцерогенезу.

Дослідження вмісту метаболітів NO в СОШ (див. табл. 22) показало, що введення ДН призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження їх вмісту на 41,5 % відносно показників інтактних щурів, що узгоджується з літературними даними про здатність НПЗЗ пригнічувати синтез нітрогену монооксиду шляхом інгібування активності NO-синтаз, що призводить до порушення мікроциркуляції та власне ушкоджень СОШ [61, 130, 180].

З NO пов'язують такі процеси, як агрегація тромбоцитів та міграція нейтрофілів через судинну стінку, розслаблення клітин інтими судин, неоангіогенез, неонейрогенез та ін. Саме гіпотеза про гастропротекторну роль NO стала основою для створення нової підгрупи НПЗЗ – CINODs. Важливу роль NO відіграє в забезпеченні моторної функції шлунково-кишкового тракту, а також регуляції надходження жовчі в кишечник. Зокрема, NO знижує моторику шлунково-кишкового тракту, розслабляє сфінктер Одді і нижній стравохідний сфінктер. Тому спроби створити препарат, який би

локально підвищував концентрацію NO в СОШ і компенсував недостатність ПГ є вельми затребуваними на сьогоднішній день [75].

Введення КЕП (III група) та проведення кріозрошення СОШ (IV група) призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зростання вмісту метаболітів NO на 41,8 % та 49,0 % відповідно відносно показників щурів з ДН-індукованою гастропатією, проте найвиразніше зростання вмісту досліджуваного медіатора відмічено на тлі поєднаної дії низьких температур та введення КЕП – рівень метаболітів NO статистично вірогідно ($p < 0,05$) зріс на 70,1 % та становив відповідно 940 [905; 950] ммоль/г тканини.

3.1.3. Дослідження впливу КЕП на стан слизової оболонки травного тракту щурів на тлі мелоксикам-індукованого ульцерогенезу

Проведене дослідження показало, що триразове введення МКС (30 мг/кг) призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) розвитку ерозивно-виразкових уражень СОШ у 100,0 % щурів (табл. 23). Крім того у 42,9 % щурів, яким вводили МКС відмічено наявність виразної гіперемії СОШ (див. табл. 23, рис. 22 Б).

У щурів, яким вводили МКС та КЕП змін з боку СОШ не відмічено, аналогічно як і у щурів, яким вводили МКС та езомепразол, що вказує на співставну гастропротекторну активність КЕП та езомепразолу на моделі МКС-індукованого ураження СО шлунка.

Макроскопічна оцінка стану СО дистальних відділів ШКТ показала (табл. 24, рис. 22), що введення МКС призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) розвитку ерозивно-виразкових уражень тонкої та товстої кишки у 100,0 % щурів. Виразніша множинність виразкових уражень відмічена з боку тонкої кишки – $33,7 \pm 1,7$ виразок / 10 см довжини кишки, з яких $8,9 \pm 1,3$ виразки з гемосидерином, що вказувало на ушкодження судинного русла слизової оболонки та тенденції до розвитку тонкокишкової кровотечі [36].

Стан СОШ на тлі МКС-індукованої гастропатії ($M \pm m$, $n=28$)

Умови досліджу		Показник				
		Здуття	Геморагії	Гіперемія	Набряк	Порушення складчастості
Інтактні щури ($n=7$)	Абс. (%)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0	0	0	0
МКС ($n=7$)	Абс. (%)	7/7* (100)	3/7* (42,9)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	2,3±0,29 (95%ДІ: 1,7-2,8)*	0 [0; 2,5]	0	0	0
МКС + КЕП ($n=7$)	Абс. (%)	0/7# (0)	0/7# (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0	0	0	0
МКС + Езомепразол ($n=7$)	Абс. (%)	0/7# (0)	0/7# (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0	0	0	0

Примітки:

1. – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки МКС;
3. ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС та езомепразол.

Комбіноване нарізне введення МКС та КЕП призвело до статистично вірогідно ($p < 0,05$) нижчої поширеності формування НПЗЗ-індукованих виразкових ушкоджень – виразки тонкої кишки виявлені тільки у 57,1% щурів, а їх множинність статистично вірогідно ($p < 0,05$) поступалась показникам контрольної групи – $7,4 \pm 3,2$ виразки / 10 см довжини кишки. З боку товстої кишки ерозивно-виразкових ушкоджень не виявлено [36].

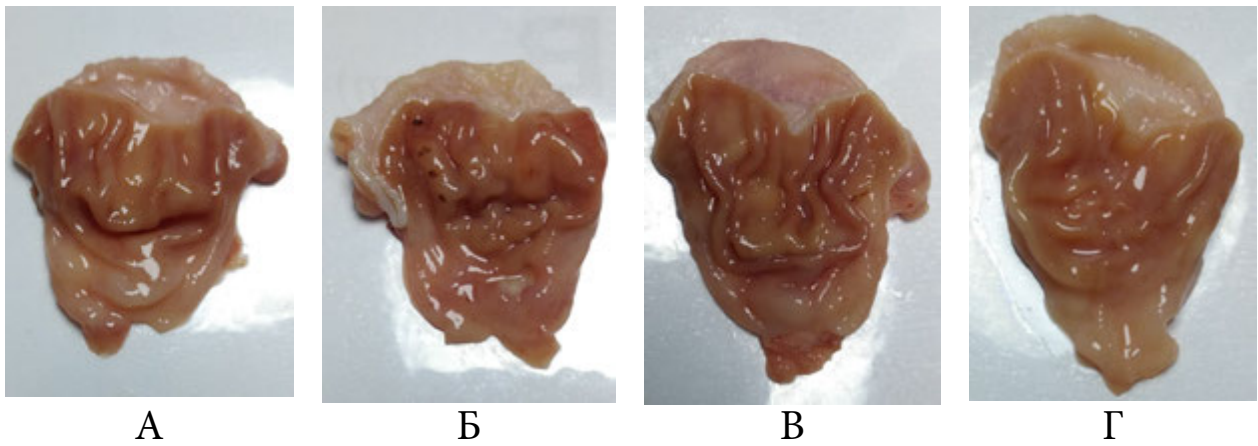


Рис. 22 Стан СОШ при МКС-індукованій гастропатії

Примітки:

1. А – інтактної тварини
2. Б – тварини з МКС-індукованою гастропатією
3. В – тварини з МКС-індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП
4. Г – тварини з МКС-індукованою гастропатією в умовах корекції езомепразолом.

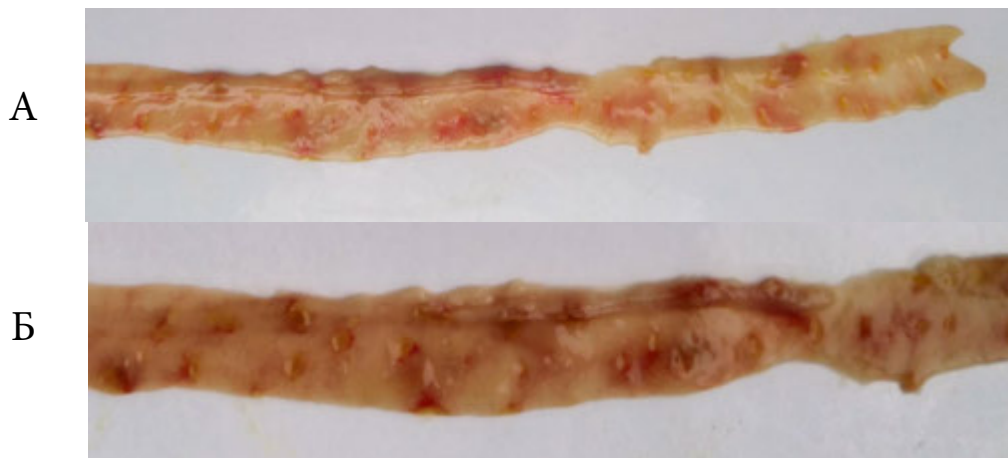


Рис. 23 Стан СО тонкої кишки (А) та товстої кишки (Б) щурів з МКС-індукованою ентеро- та колонопатією.

**Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ
на тлі МКС-індукованого ушкодження (M ± m, n=28)**

001

Відділ ШКТ		Стра- вохід	Шлунок			Тонка кишка				Товста кишка			
Показник	Кількість тварин, n		Кількість тварин з М-ступенем ушкод- ження, абс. (%)	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Середній бал в групі	ВІ	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Кількість виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Кількість виразок на 10 см довжини	
		загальне число						з гемосиде- рином	перфоративних	загальне число		з тромбами	перфоративних
Інтактні щури	7	0 (0)	0 (0)	0	0	0/7 (0)	0	0	0	0/7 (0)	0	0	0
МКС	7	0/7 (0)	5/7* (71,4)	2,1±0 ,34*	1,5	7/7* (100)	33,7± 1,7*	8,9 ±1,3*	0	7/7* (100)	18,3± 1,0*	8,1 ±1,0*	0
МКС + КЕП	7	0/7 (0)	0/7# (0)	0#	0	4/7 (57,1)	7,4±3 ,2 *# °	0#	0	0/7# (0)	0# °	0# °	0 °
МКС + Езомепразол	7	0/7 (0)	0/7# (0)	0#	0	7/7 (100)	22,6± 1,6*#	9,6 ±1,1 *°	0	7/7 (100)	14,7± 1,1#	9,9 ±1,3*	1,7 ±0,5 * #

Примітки:

- * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;
- # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки МКС;
- ° – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували МКС та езомепразол.

3.1.4. Макроскопічна оцінка слизової оболонки травного тракту щурів на тлі ІБП-індукованого ульцерогенезу

Макроскопічна оцінка стану СОШ показала, що триразове введення ІБП по 310 мг/кг призвело до розвитку ерозивно-виразкових змін у 100,0 % щурів (рис. 24 Б). Так, геморагії, набряк та порушення складчастості СОШ мали місце у всіх тварин, а ВІ становив відповідно 2,9 (табл. 25, табл. 26). Слід зазначити, що у 17,3 % тварин також відмічено ураження стравоходу.

Профілактично-лікувальне застосування КЕП призвело до статистично вірогідного ($p = 0,02$) зниження ВІ в 3,7 разів відносно показників тварин, яким вводили тільки ІБП та становив відповідно 0,79 (табл. 26), а ерозивно-виразкові зміни СОШ відмічені лише у 57,1 % тварин [40].

Варто відзначити, що в групі комбінованого застосування ІБП та КЕП практично не відмічено набряку та порушення складчастості СОШ (див. табл. 25), що може вказувати на пригнічення запальних явищ в СО шлунка, індукованих ІБП, які є відображенням гастриту, який за даними літератури може виникати у хворих, які застосовують НПЗЗ [40, 130].

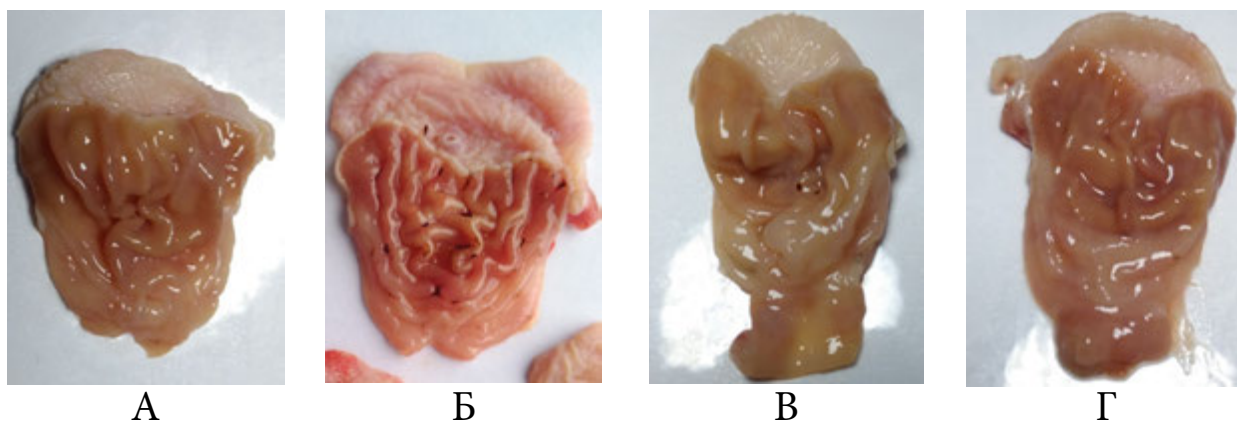


Рис. 24 Стан СОШ при ІБП-індукованій гастропатії

Примітки:

1. А – інтактної тварини;
2. Б – тварини з ІБП-індукованою гастропатією;
3. В – тварини з ІБП-індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП;
4. Г – тварини з ІБП-індукованою гастропатією в умовах корекції езомепразолом.

Стан СОШ на тлі ІБП-індукованої гастропатії (M ± m, n=28)

Умови досліджу		Показник				
		Здуття	Геморагії	Гіперемія	Набряк	Порушення складчастості
Інтактні щури (n=7)	Абс. (%)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]	0 [0; 0]
ІБП (n=7)	Абс. (%)	5/7* (71,4)	7/7* (100)	5/7* (71,4)	7/7* (100)	7/7* (100)
	Бали	1,7±0,5 (95%ДІ: 0,8-2,6)*	3 [2; 3] *	3,0 [1,5; 3,0] *	1 [1; 1] *	2 [2; 2]*
ІБП + КЕП (n=7)	Абс. (%)	0/7# (0)	7/7 * ° (100)	3/7* (42,9)	1/7# (14,3)	0/7# (0)
	Бали	0#	1 [1; 2] ° #	0 [0; 1] #	0 [0; 0] #	0 [0; 0] #
ІБП + Езомепразол (n=7)	Абс. (%)	0/7# (0)	1/7# (14,3)	1/7# (14,3)	1/7 # (14,3)	0/7# (0)
	Бали	0#	0 [0; 0] #	0 [0; 0] #	0 [0; 0] #	0 [0; 0] #

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки ІБП;
3. ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ІБП та езомепразол.

Комбіноване застосування ІБП та КЕП призвело до значного ослаблення всіх явищ ІБП-індукованої гастропатії у щурів – ВІ був нижчим у 3,7 разів (0,79) відносно показників тварин, які не отримували засоби корекції, здуття та порушення складчастості не мали місця, а геморагії, гіперемія та набряк виявлені лише у 14,3 % тварин (див. табл. 25). Встановлені зміни цілком узгоджувались з даними літератури про гастропротективні властивості ІПП в профілактиці та лікуванні НПЗЗ-індукованої гастропатії [3, 122].

Дослідження стану СО тонкої кишки показало, що введення ІБП призвело до розвитку ентеропатії у 100,0 % тварин, на що вказувало формування в середньому $43,7 \pm 2,1$ виразкових дефектів на 10 см довжини кишки (див. табл. 26, рис. 25Б).

**Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ
на тлі ІБП -індукованого ушкодження (M ± m, n=28)**

301

Відділ ШКТ		Стра- вохід	Шлунок			Тонка кишка				Товста кишка			
Показник	Кількість тварин, n		Кількість тварин з М-ступенем ушкодження, абс. (%)	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Середній бал в групі	ВІ	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Кількість виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Кількість виразок на 10 см довжини	
		загальне число						з гемосиде- рином	перфора- тивних	загальне число		з тромбами	перфоративних
Інтактні щури	7	0 (0)	0 (0)	0	0	0/7 (0)	0	0	0	0/7 (0)	0	0	0
ІБП	7	1/7 (14,3)	7/7* (100)	2,9±0 ,34*	2,9	7/7* (100)	43,7± 2,1 *	30,3 ±1,4 *	4,9 ±1,4 *	7/7* (100)	15,0± 1,5 *	8,6 ±0,6 *	1,4 ±0,6
ІБП + КЕП	7	0/7 (0)	4/7# (57,1)	1,4±0 ,43*#	0,79	4/7# (57,1)	9,4 ±4,2 *#	7,7 ±3,5 *#	0,9 ±0,3 *	4/7# (57,1)	3,9 ±1,6 #	2,3 ±0,9 *#	0,1 ±0,1
ІБП + Езомепразол	7	0/7 (0)	1/7 (28,6)	0,4±0 ,14 *#°	0,11	7/7 (100)	26,1± 2,5 *#°	15,4 ±2,1 *#	2,4 ±0,9 *	7/7 (100)	14,1 ±1,2 *°	10,6 ±0,4 *#°	0,7 ±0,3 *

- Примітки: 1. * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;
2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки ІБП;
3. ° – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ІБП та езомепразол.

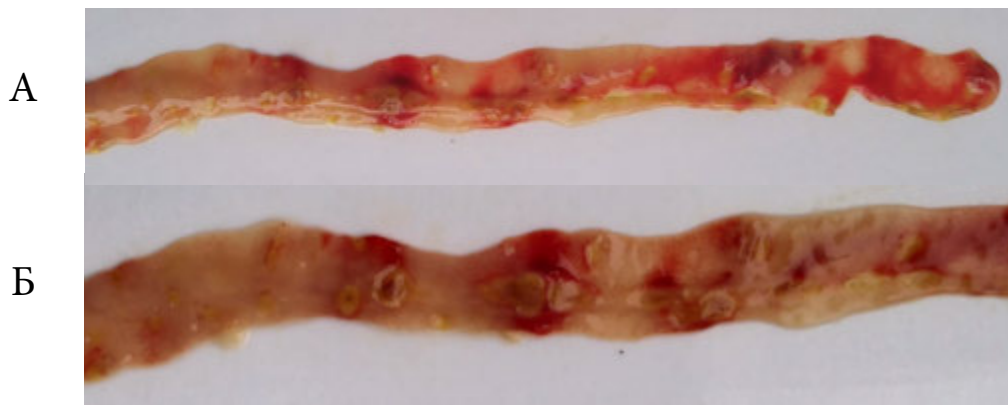


Рис. 25 Стан СО тонкої кишки (А) та товстої кишки (Б) щурів з ІБП - індукованою ентер- та колонопатією

Застосування езомепразолу призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження загального числа виразкових дефектів СО тонкої кишки в 1,7 разів та становило відповідно $26,1 \pm 2,5$ виразок на 10 см довжин, а кількість перфоративних виразок знизилась відповідно вдвічі ($p = 0,02$).

Найвиразніше послаблення ентеротоксичної дії ІБП відмічено на тлі комбінованого застосування з КЕП – виразкові дефекти СО тонкої кишки виявлені лише у 57,1 % тварин (див. табл. 26), а їх множинність була в 4,6 разів нижчою за показники тварин без корекції ($p = 0,02$). Таким чином ентеропротективна активність КЕП на 38,2 % перевищувала аналогічну дію езомепразолу (40,3 %) та становила відповідно 78,5 %.

Характеризуючи стан СО товстої кишки варто відзначити, що трикратне введення ІБП у його ЛД₅₀ (310 мг/кг) призвело до розвитку колонопатії у 100,0 % щурів – загальне число виразкових дефектів в СО становило в середньому $15,0 \pm 1,5$ на 10 см довжин (див. табл. 26).

Профілактично-лікувальне застосування езомепразолу не мало ефекту щодо показників множинності виразкових уражень СО товстої кишки – загальне число виразкових дефектів в СО становило в середньому $14,1 \pm 1,2$ на 10 см довжин, однак призвело до зменшення ($p=0,3$) кількості перфоративних виразок в 2 рази (див. табл. 26).

На тлі застосування КЕП множинність виразкових ушкоджень СО товстої кишки (див. табл. 26) була співставною з показниками ушкоджень в тонкій кишці – 57,1 %, а загальне число виразок в товстій кишці статистично вірогідно ($p < 0,001$) в 3,8 разів була нижчою за показники тварин, які отримували тільки ІБП.

Дослідження показало, що триразове введення ІБП по 310 мг/кг призвело до вірогідного ураження всіх відділів травного тракту – від стравоходу до товстої кишки, проте якщо зміни з боку стравоходу виявлені лише у 14,3 % тварин, то ураження шлунка і кишківника – у 100,0 % тварин.

Ураження СОШ характеризувалось формуванням виразної гіперемії та геморагій у 100,0 % щурів, а також здуттям шлунка у 71,4 % тварин, що опосередковано відображало й ураження тонкої кишки та порушення моторно-евакуаторної активності шлунка. Отримані дані узгоджуються з даними літератури про ульцерогенну дію ІБП в досліджуваній дозі [115].

Порівнюючи за множинністю ураження кишківника варто зазначити, що кількість виразок у тонкій кишці у 2,9 разів перевищувала аналогічні показники у товстій кишці, пропорційно до загальної кількості у 3,5 разів була меншою й кількість перфоративних виразок у товстій кишці, що можна пов'язати з агресивним впливом жовчі на СО тонкої кишки на тлі ослаблення її захисних властивостей при формуванні ІБП-індукованої ентеропатії.

Профілактично-лікувальна ефективність ІПП езомепразолу вірогідно мала місце в проксимальних відділах ШКТ, однак встановлено, що практично не впливала на поширеність виразкових ушкоджень у кишківнику, хоча і мала тенденцію до зниження їх множинності. Це узгоджувалось з літературними даними про здатність ІПП знижувати ульцерогенну дію НПЗЗ виключно у шлунку [55].

Встановлено, що застосування КЕП дещо поступалось за своєю гастропротективною активністю езомепразолу, проте ентеро- і колонопротективна активність досліджуваного екстракту вірогідно перевищувала показник езомепразолу. Так, поширеність ІБП-індукованої як ентеро- так і колонопатії на тлі застосуванні КЕП майже вдвічі була нижчою ніж у щурів, які не отримували препаратів корекції, а множинність виразкових дефектів у тонкій та товстій кишці у 2,7 та 3,6 разів відповідно була нижчою за показники щурів, які отримували езомепразол. Встановлені цитопротективні властивості КЕП по відношенню до СО тонкого та товстого кишківника узгоджуються із літературними відомостями про біологічні властивості досліджуваного екстракту, які цілком вкладаються у патогенез токсичної дії НПЗЗ на ШКТ [45, 108].

3.1.5. Макроскопічна оцінка слизової оболонки травного тракту щурів на тлі АСК-індукованого ульцерогенезу

Проведене дослідження показало, що триденне введення АСК в дозі 150 мг/кг призвело до розвитку ушкоджень усіх відділів ШКТ. Так, М-ступінь ушкодження стравоходу візуально статистично вірогідного ($p < 0,05$) було встановлено у 42,9 % щурів, в той час як у щурів, яким вводили як КЕП так і у щурів, яким вводили езомепразол, ушкоджень СОШ стравоходу виявлено не було (табл. 27). Виявлені ознаки езофагіту можуть вказувати на розвиток гастроезофагеального рефлюксу, що може бути обумовленим як підвищенням кислотності шлункового соку так і порушенням евакуаторної функції шлунка.

Таблиця 27

Стан СОШ на тлі АСК -індукованої гастропатії ($M \pm m, n=28$)

Умови досліджу		Показник				
		Здуття	Геморагії	Гіперемія	Набряк	Порушення складчастості
Інтактні щури (n=7)	Абс. (%)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)	0/7 (0)
	Бали	0	0	0	0	0
АСК (n=7)	Абс. (%)	7/7* (100)	7/7* (100)	7/7* (100)	7/7* (100)	7/7* (100)
	Бали	3 [2; 3]	3 [2; 3]*	3 [3; 3]*	3 [2,5; 3]*	3 [3; 3]*
АСК + КЕП (n=7)	Абс. (%)	0/7# (0)	4/7* (57,1)	2/7# (28,6)	0/7# (0)	0/7# (0)
	Бали	0#	2 [0; 3]*	0 [0; 0,5]	0#	0#
АСК + Езомепразол (n=7)	Абс. (%)	0/7# (0)	4/7* (57,1)	0/7# (0)	3/7*# (42,9)	2/7# (28,6)
	Бали	0#	1 [0; 2]* #	[;]	0 [0; 2] #	0 [0; 1] #

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували тільки АСК;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували АСК та езомепразол.

Макроскопічна оцінка стану шлунка показала, що у щурів, яким вводили тільки АСК виявлено виразне (3 бали за шкалою оцінки) статистично вірогідне ($p < 0,05$) здуття шлунка, геморагії, гіперемію та набряк СОШ з порушенням складчастості у 100,0 % тварин.

Встановлено, що у всіх тварин, яким вводили тільки АСК (контрольна група) виявлені виразкові дефекти СОШ, а середній бал за шкалою [27] становив $3,3 \pm 0,29$ (табл. 28). Це узгоджувалось із даними літератури, що п'ятиразове введення АСК впродовж трьох днів призводить до модельного субхронічного ушкодження ШКТ [119].

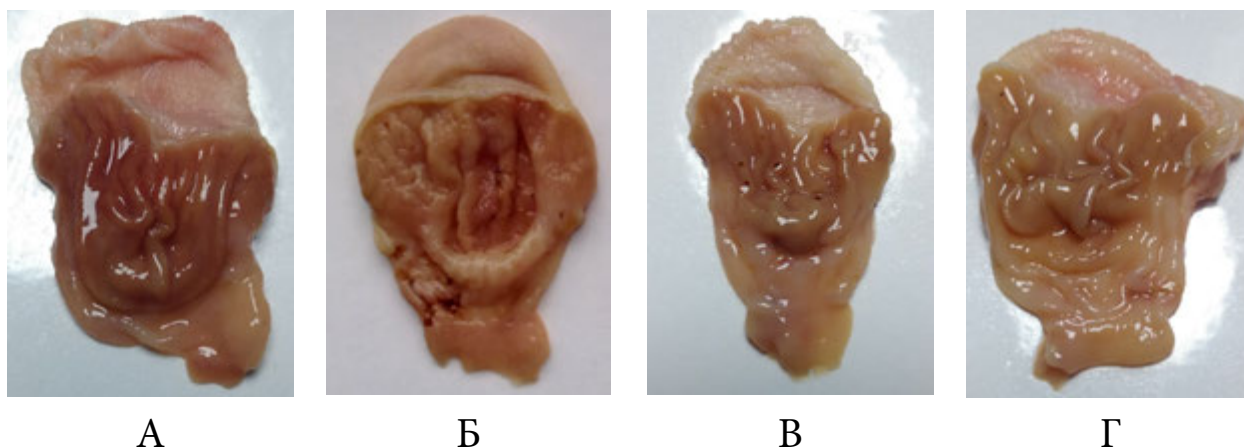
Дослідження стану СО кишківника показало, що окрім субхронічного ушкодження шлунка АСК викликав також ураження тонкого та товстого кишківника у 100,0 % та 57,1 % тварин відповідно. Так, у тонкій кишці АСК викликав в середньому $11,0 \pm 0,9$ виразок на 10 см довжини, а товстій – $5,9 \pm 2,2$ виразки на 10 см довжини (див. табл. 28). Слід відзначити, що у тонкій кишці, на відміну від товстої, виявлено ще й перфоративні виразки середньою кількістю $3,0 \pm 0,8$ на 10 см довжини (див. табл. 28).

Комбіноване застосування АСК та езомепразолу у лікувально-профілактичному режимі призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) ослаблення ульцерогенної дії досліджуваного НПЗЗ. Встановлено, що у щурів, яким вводили АСК та езомепразол (IV група) не відмічалось здуття шлунка та гіперемії СО, а слабковиражний набряк СОШ з порушенням складчастості та поодинокі геморагії відмічені відповідно у 45,2 % та 57,1 % тварин (див. табл. 27, рис. 26 Г).

На тлі комбінованого застосування АСК та КЕП відмічено слабковиражену гіперемію СОШ у 28,6 % щурів та помірноуражені геморагії у 57,1 % щурів, проте на відміну від щурів групи комбінованого застосування АСК та езомепразолу, на тлі введення КЕП не було відмічено набряку та порушення складчастості СОШ (див. табл. 27). Це можна вважати ознакою відсутності запальної реакції у СОШ та пов'язати із протизапальними властивостями КЕП [45, 47].

Крім того, встановлено, що виразкові дефекти СОШ виявлені у 57,1 % щурів на тлі введення АСК та КЕП та у 42,9 % щурів, яким вводили АСК та езомепразол, а ВІ становив відповідно 0,97 та 0,39, що відповідно у 3,4 та 8,5 разів відповідно були нижчі за показники щурів контрольної групи (3,3). Отримані данні узгоджуються з літературними відомостями, що езомепразол володіє виразною

гастропротективною дією, зокрема при ураженнях СОШ, викликаних НПЗЗ, що обумовлено його кислотосупресивною дією та може бути опосередковано взаємодією з ванілоїдними рецепторами типу 1, що за останніми даними розглядається як механізм цитопротекції у ШКТ [184].



А

Б

В

Г

Рис. 26 Стан СОШ при АСК-індукованій гастропатії

Примітки:

1. А – інтактної тварини;
2. Б – тварини з АСК-індукованою гастропатією;
3. В – тварини з АСК-індукованою гастропатією в умовах корекції КЕП;
4. Г – тварини з АСК-індукованою гастропатією в умовах корекції езомепразолом.

Особливої уваги заслуговують результати макроскопічної оцінки стану СО дистальних відділів ШКТ. Встановлено, що комбіноване застосування АСК та езомепразолу в незначній мірі впливало на ульцерогенну дію досліджуваного НПЗЗ у тонкій кишці, а у товстій навіть посилювало ушкодження СО. Так, АСК викликав ушкодження товстої кишки у 57,1 % щурів контрольної групи, а на тіл комбінованого застосування АСК та езомепразолу – у 100,0 % щурів, а середня кількість виразок у 1,8 рази перевищувала аналогічний показник щурів контрольної групи та становила відповідно $10,4 \pm 1,3$ та $5,9 \pm 2,2$ виразок на 10 см довжини відповідно (див. табл. 28).

На тіл комбінованого застосування АСК та КЕП у лікувально-профілактичному режимі введення ушкодження тонкої та товстої кишки виявлено не було, що вказує на наявність цитопротективних властивостей останнього (див. табл. 28).

**Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ
на тлі АСК-індукованого ушкодження (M ± m, n=28)**

601

Відділ ШКТ		Стра- вохід	Шлунок			Тонка кишка				Товста кишка			
Показник	Кількість тварин, n		Кількість тварин з М-ступенем ушкод- ження, абс. (%)	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Середній бал в групі	ВІ	Кількість тварин з виразками, абс. (%)	Кількість виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Кількість виразок на 10 см довжини	
		загальне число						з гемосиде- рином	перфоративних	загальне число		з тромбами	перфоративних
Інтактні щури	7	0 (0)	0 (0)	0	0	0/7 (0)	0	0	0	0/7 (0)	0	0	0
АСК	7	3/7* (42,9)	7/7* (100)	3,3±0 ,29*	3,3	7/7* (100)	11,0± 0,9*	6,0 ±1,0*	3,0 ±0,8*	4/7* (57,1)	5,9 ±2,2*	2,6 ±1,0*	0
АСК + КЕП	7	0/7# (0)	4/7# (57,1)	1,7±0 ,29 *# °	0,97	0/7# ° (0)	0# °	0# °	0*# °	0/7# ° (0)	0 #°	0# °	0
АСК + Езомепразол	7	0/7# (0)	3/7# (42,9)	0,9±0 ,26 *#	0,39	7/7# (100)	7,3 ±1,0* #	3,4 ±1,3*	1,6 ±0,4*	7/7 (100)	10,4± 1,3*	1,7 ±0,5*	0

Примітки:

- * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;
- # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки АСК;
- ° – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували АСК та езомепразол.

3.2 ОЦІНКА ВПЛИВУ ДН ТА КЕП ЗА ЇХ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ НА МОРФОСТРУКТУРНИЙ СТАН СОШ ЩУРІВ ЗА ДАНИМИ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

ІГХ дослідження проводили стандартними методиками. Фрагменти тканин, залиті у 10,0 % буферизованому формаліні, фіксували впродовж 24 год. Після цього проводили матеріал в десяти порціях ізопропілового спирту та 3 порціях парафіну. Готували блоки з послідовним отриманням зрізів завтовшки 4 мкм на скельцях з полі-L-лізиновим покриттям. Зрізи підсушували, депарафінізували та проводили демаскування антигенів за допомогою цитратного буферу в умовах водяної бані при 95,0 °С впродовж 40 хв, після виконували інгібування ендогенної пероксидази 3,0 % розчином перекису водню впродовж 5 хв.

Проліферативну активність клітин оцінювали за допомогою мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену Ki-67 («*ДАКО*», клон *MIB-1*, Данія) та за експресією каспази-3, яку оцінювали за допомогою *CPP32* (*Novocastra*).

Антитіло до Ki-67 наносили на зріз та виконували експозицію впродовж 1 год. на термостолі в умовах «водяної бані» при температурі 30,0 °С. Для візуалізації реакції антиген-антитіло застосовувалась полімерна система детекції *EnVision* («*ДАКО*», Данія), в якості хромогену використовувався діамінобензидин. Контрольне забарвлення ядер виконувалось за допомогою гематоксиліну Майєра. Після кожного з етапів до забарвлення діамінобензидином скельця зі зрізами промивали у трис-буфері з твіном рН 7,1 (*BioOptica*, Італія). Скельця фіксувались *BioMount* (*BioOptica*, Італія).

У препаратах при 400-кратному збільшенні мікроскопа визначали індекс проліферації (ІП) (ядерна мітка Ki-67) та індекс апоптозу (мітка *CPP32* – каспаза-3) у 5 випадково обраних полях зору (≥ 500 клітин) як частку у відсотках позитивно забарвлених ядер епітеліоцитів СОШ в трьох компартментах (I – поверхневий та ямковий епітелій; II – перешийкова зона, III – основа залоз, середня та нижня їх третина до базальних відділів) [26].

Антитіла Ki-67 реагують з проліферуючими клітинами, які перебувають в G_1 , S, M, G_2 стадіях клітинного циклу. Підраховували кількість Ki-67 позитивних клітин, загальну кількість клітин та розраховували ІП_{Ki-67} за формулою 3.2:

$$\text{ІП}_{\text{Ki-67}} = \left(\frac{N_{\text{Ki-67}}}{N_n} \right) \times 100 \%, \text{ де} \quad (3.2)$$

де $\text{ІП}_{\text{Ki-67}}$ – індекс проліферації, %;

$N_{\text{Ki-67}}$ – кількість Ki-67 позитивних клітин;

N_n – загальна кількість клітин в полі зору.

Експресію СРР32 – каспази-3 оцінювали за бальною шкалою позитивної гістохімічної реакції в клітинах за шкалою:

0 балів – реакція відсутня;

1 бал – ознака слабо виражена (до 30 % позитивно реагуючих клітин);

2 бали – ознака помірно виражена (31–60 % клітин);

3 бали – ознака добре виражена (більше 60% забарвлених клітин).

Проведене ІГХ дослідження показало (рис. 27), що на тлі розвитку ДН-індукованої гастропатії у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження проліфераційної активності епітеліоцитів СОШ на 45,5 % відносно показників інтактних тварин, а ІП відповідно становив 0,06 % (рис. 28).

Профілактичне застосування КЕП призвело до нівелювання актипроліферативної дії ДН на епітелій СОШ. Так, ІП становив 0,10 %, що статистично вірогідно ($p < 0,001$) на 40,0 % перевищувало показники щурів з ДН-індукованою гастропатією (рис. 29).

Варто відзначити, що введення КЕП інтактним щурам практично не впливало на проліферативну активність епітеліоцитів СОШ, що вказує на відсутність у нього туморогенного потенціалу.

Дослідження процесів апоптозу в СОШ показало (табл. 29), що введення ДН викликало активацію процесів апоптозу в СОШ щурів. На це вказувало зростання експресії рецепторів каспази-3 (СРР32) – найвиразніше у шийкових мукоцитах та пілоричних екзокриноцитах, де рівень експресії сягав трьох балів (3 [2; 3] та 3 [2,5; 3] бали відповідно). Експресія СРР32 у поверхневих епітеліоцитах ямок та валиків та головних екзокриноцитах становила відповідно 2 [1,5; 2,0] та 2 [1,5; 2,0] бали.

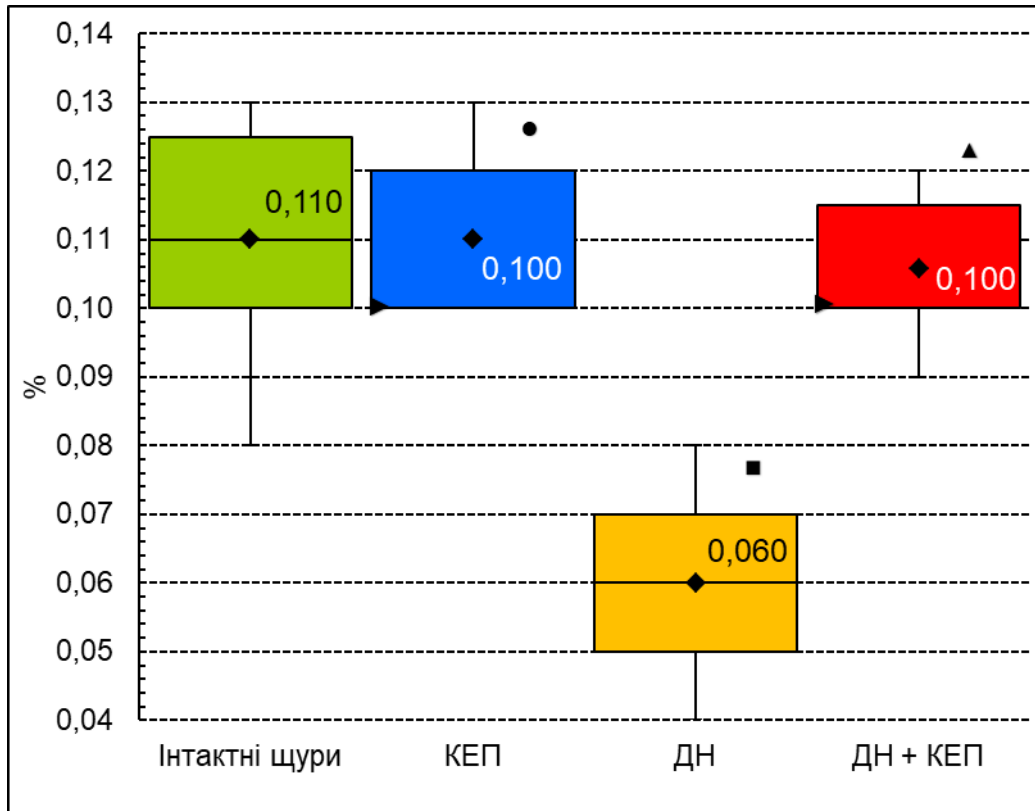


Рис. 27 Вплив КЕП та ДН на проліфераційну активність епітеліоцитів СОШ щурів (ІП за Ki-67)

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю.
3. Вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
4. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана (▶ – медіана дорівнює 25 (75) перцентилю).
5. ◆ – середнє значення;
6. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
7. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
8. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН.

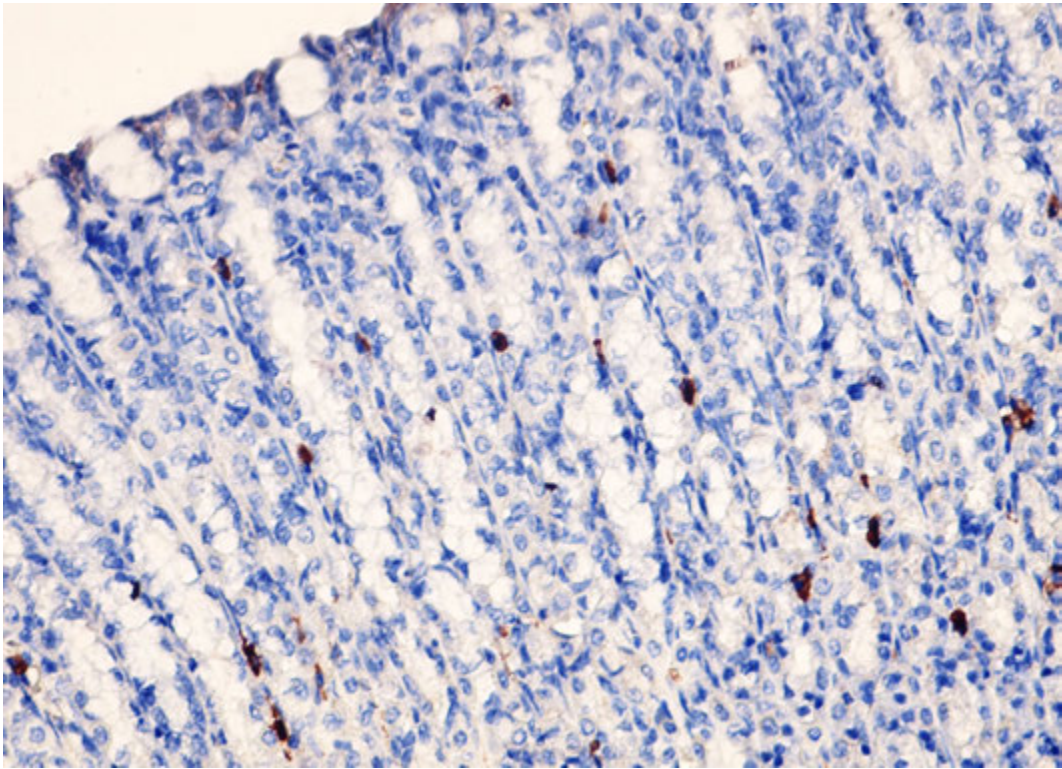


Рис. 28 Слабка експресія маркеру Кі-67. Група ІІІ (ДН), 28 день.
ІГХ-маркування Кі-67, ×200

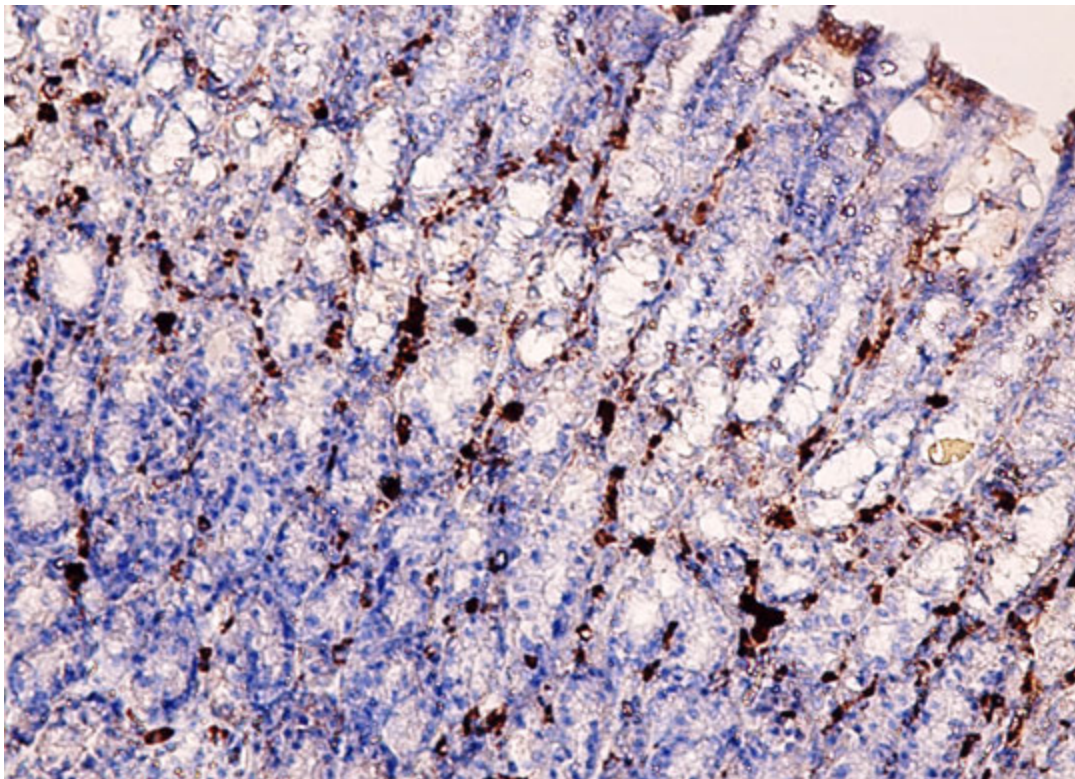


Рис. 29 Сильна експресія маркеру Кі-67. Група ІV (ДН+КЕП),
28 день. ІГХ -маркування Кі-67, ×200

Як відомо, стимуляція процесів апоптозу епітеліоцитів СОШ є одним з механізмів ульцерогенної дії НПЗЗ [26, 138]. На теперішній час встановлена велика кількість маркерів для визначення апоптозу, одними з них є каспази. Каспаза-3 відноситься до ефекторних каспаз, експресія яких свідчить про незворотність апоптозних змін [26, 138].

Таблиця 29

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на експресію рецепторів каспази-3 (CPR32) в епітеліоцитах СОШ (Me [LQ; UQ]; n=28)

Епітеліоцити СОШ	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	КЕП	ДН	ДН + КЕП
<i>n</i>	7	7	7	7
Поверхневі епітеліоцити ямок та валиків	0 [0; 0]	0 [0; 0] $p_{1-2} > 0,05$	2 [1,5; 2,0] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	0 [0; 0] $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} < 0,001$
Шийкові мукоцити	0 [0; 0]	0 [0; 0] $p_{1-2} > 0,05$	3 [2; 3] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	1 [0,5; 1,5] $p_{1-4} = 0,01$ $p_{2-4} = 0,01$ $p_{3-4} = 0,003$
Головні екзокриноцити	0 [0; 0]	0 [0; 0] $p_{1-2} > 0,05$	2 [1,5; 2] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	0 [0; 0] $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} < 0,001$
Парієтальні екзокриноцити	0 [0; 0]	0 [0; 0] $p_{1-2} > 0,05$	1 [1; 1] $p_{1-3} = 0,004$ $p_{2-3} = 0,004$	0 [0; 0] $p_{1-4} > 0,05$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} = 0,004$
Пілоричні екзокриноцити	1 [0; 1]	0 [0; 0] $p_{1-2} = 0,04$	3 [2,5; 3] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	0 [0; 0] $p_{1-4} = 0,04$ $p_{2-4} > 0,05$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки:

1. Індексами $1, 2, 3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

На тлі комбінованого застосування ДН та КЕП експресія CRR32 статистично вірогідно ($p < 0,05$) знизилась до рівня інтактних шурів та становила відповідно 0 [0; 0] балів у поверхневих епітеліоцитах ямок та валиків та головних, парієтальних і пілоричних екзокриноцитах. Активність CRR32 на рівні 1 [0,5; 1,5] балів виявлено тільки у шийкових мукоцитах.

Відомо, що індукція процесів апоптозу – один з головних механізмів порушення тканинного гомеостазу при НПЗЗ-індукованого ульцерогенезу. При цьому має місце підвищення експресії білків-активаторів апоптозу (Bax та Bak) та пригнічення білків-супресорів апоптозу (Bcl-2 та BclxL) [26].

Так за даними літератури [26, 158, 206, 200, 239] молекулярні механізми НПЗЗ-індукованого апоптозу (на прикладі ІНД) припускають два основні шляхи: мітохондріальний (внутрішній) та рецепторний (зовнішній).

При мітохондріальному шляху зміна проникності цитоплазматичної мембрани та подальше підвищення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} активізує апоптоз-індуковані транскрипційні фактори, які ініціюють експресію білка-стимулятора апоптозу p53, транслокацію та активацію Bax, що веде до дисфункції мітохондрій, вивільненню цитохрому C з послідовною активацією каспаз-9 та каспаз-3 – безпосереднього індуктора апоптозу [26, 158, 200, 206, 239].

Зовнішній шлях ініційований при контакті Fas-ліганда апоптозу з відповідним рецептором, олігомеризацією останнього і активацією каспази-8, яка або активує каспазу-3, або знову через мітохондріальний шлях призводить до апоптозної загибелі [26]. НПЗЗ, блокуючи механізми «виживання» клітини, впливають на проліферацію епітеліоцитів та знижують здатність епітелію до репарації [26]. Про це свідчить зменшення кількості клітин, що знаходяться в S-періоді клітинного циклу та збільшенням числа клітин в періодах G_0/G_1 , що підтверджує зниження експресії ядерного антигену проліферуючих клітин PCNA, бромдеоксиуридинової мітки BrdU та зменшення індексу Ki-67 [26, 158, 200, 206, 239].

3.3 ДОСЛІДЖЕННЯ ШЛУНКОВОЇ СЕКРЕЦІЇ ЩУРІВ НА ТЛІ ЗАСТОСУВАННЯ ДН ТА МКС ЗА ЇХ НАРІЗНОГО ВВЕДЕННЯ З КЕП

Дослідження секреторної активності шлунка

Шлункову секрецію досліджували за методикою Shay H.A. (1945 р.) [234]. Протягом 24 год. щури були позбавлені доступу до їжі. Після лапаротомії по білій лінії живота наркотизованим щурам накладали лігатуру на пілоричний сфінктер шлунка після чого щурам через орогастральний зонд одразу вводили НПЗЗ та пошарово ушивали операційну рану. Тварини групи негативного контролю отримували в/шл еквіоб'ємну кількість води *pro injectionibus* (рис. 30).

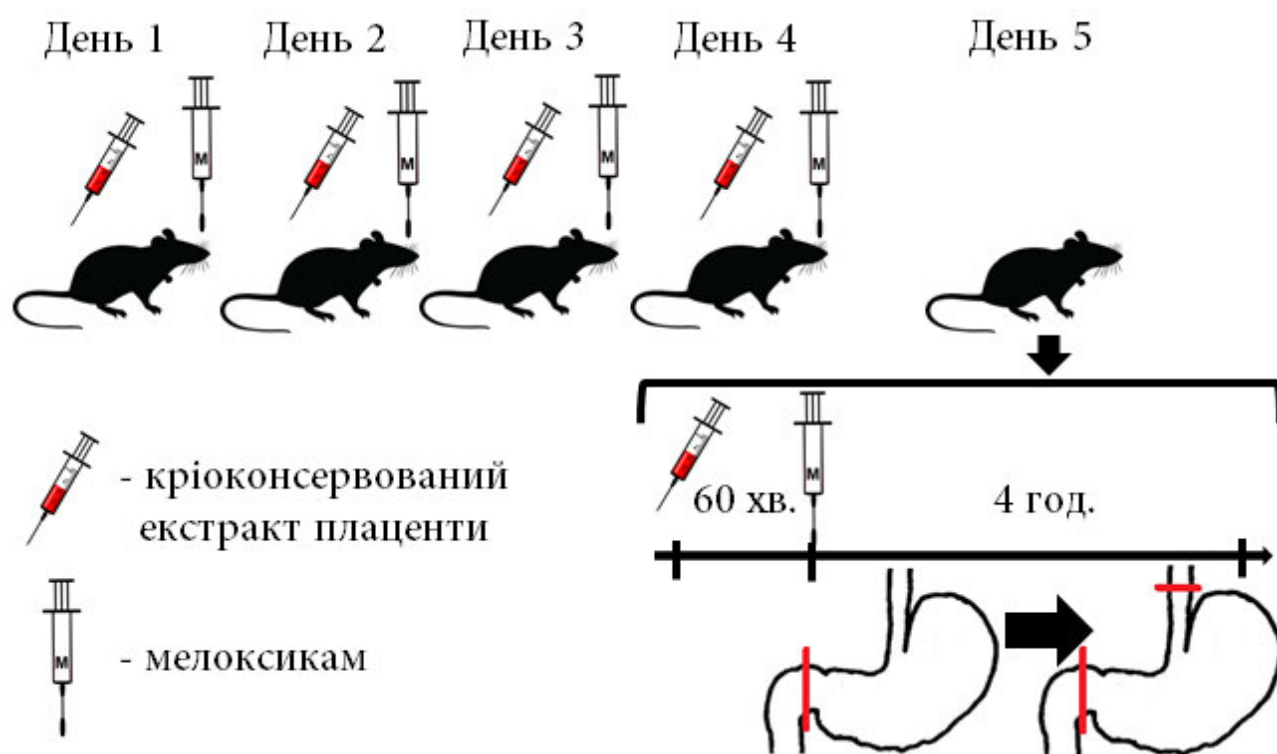


Рис. 30 Дизайн дослідження впливу НПЗЗ та КЕП стан шлункової секреції (на прикладі МКС)

Через 4 години проводили релапаратомію під інгаляційним наркозом та накладали лігатуру на кардіальний сфінктер (див. рис. 30) після чого тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації, проводили екстирпацію шлунка та збір його вмісту у пробірки [30, 234].

Інтенсивність секреції шлункового соку оцінювали за об'ємом шлункового соку у мл на 100 г маси тварини (мл / 100 г). В одержаному соці вимірювали загальну та вільну кислотність (концентрацію HCl) шляхом титрування шлункового соку за методикою Michaelis L. 0,1 N розчином гідроксиду натрію (NaOH) у присутності індикаторів фенолфталеїну та бромтимолового синього. Кислотність виражали кількістю мл 0,1 N р-ну NaOH, необхідного для нейтралізації 100 мл шлункового соку. Зв'язану кислотність визначали за різницею між показниками загальної та вільної кислотності [30, 57, 95].

При дослідженні впливу КЕП та НПЗЗ (ДН та МКС) на секреторну активність шлунка піддослідних тварин розділяли на 6 груп:

- I (негативний контроль) – щури (n=7), яким впродовж 5 днів перед лапаротомією в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (1 мл/100 г), а після – одноразово в/шл воду *pro injectionibus*;
- II – щури (n=7), яким впродовж 5 днів перед лапаротомією в/м вводили КЕП (0,16 мл/кг), а після – одноразово в/шл воду *pro injectionibus*;
- III – щури (n=7), яким впродовж 5 днів перед лапаротомією в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (1 мл/100 г) та ДН (8,0 мг/кг) в/шл, а після – одноразово ДН (8,0 мг/кг) в/шл;
- IV – щури (n=7), яким впродовж 5 днів перед лапаротомією в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (1 мл/100 г) та МКС (1,0 мг/кг) в/шл, а після – одноразово МКС (1,0 мг/кг) в/шл;
- V – щури (n=7), яким впродовж 5 днів перед лапаротомією в/м вводили КЕП (0,16 мл/кг) та ДН (8,0 мг/кг) в/шл, а після – одноразово ДН (8,0 мг/кг) в/шл;
- VI – щури (n=7), яким впродовж 5 днів перед лапаротомією в/м вводили КЕП (0,16 мл/кг) та МКС (1,0 мг/кг) в/шл, а після – одноразово МКС (1,0 мг/кг) в/шл.

Проведене дослідження показало, що введення як ДН так і МКС призвело до гіперсекреції шлункового соку – об'єм шлункового соку статистично вірогідного зріс ($p = 0,003$ та $p = 0,005$ відповідно) на $15,8 \pm 4,1$ % та $31,6 \pm 7,3$ % відповідно, відносно показників інтактних тварин (табл. 30).

Привертає увагу, що крім гіперсекреції шлункового соку МКС викликав зростання загальної кислотності ($p = 0,002$) на $7,7 [7,7; 16,6]$ % відносно показників інтактних тварин. Слід зазначити, що попри зростання рівня загальної кислотності МКС не викликав зрушень з боку співвідношення вільної та зв'язаної кислотності, яке співставлялось з показниками інтактних тварин та становило $1,4 [1,3; 1,5]$ та $1,3 [1,1; 1,4]$ відповідно.

**Вплив ДН та МКС за їх нарізного введення з КЕП
на показники шлункової секреції у щурів (Me [LQ; UQ], n=42)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту						
	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група	
	Інтактні щури	КЕП, 0,16 мл/кг	ДН, 8 мг/кг	МКС, 1 мг/кг	ДН + КЕП	МКС + КЕП	
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7	
Об'єм шлункового соку, мл/100 г маси тварин	1,3 [1,3; 1,4]	1,3 [1,3; 1,3]	1,5 [1,5; 1,6] *#	1,8 [1,5; 1,9] *#	1,3 [1,3; 1,3] §	1,3 [1,2; 1,3] °	
Кислотність шлункового соку, мл 0,1 N NaOH / 100 мл	Загальна	130 [126; 131]	132 [132; 135] *	151 [149; 151] *#	141 [140; 147] *#	135 [133; 137] *§	130 [129; 131] # °
	Вільна	75 [74; 76]	48 [47; 49] *	91 [88; 92] *#	80 [76; 82] #	60 [59; 62] *#§	53 [52; 54] *# °
	Зв'язана	56 [50; 58]	85 [85; 87] *	59 [58; 61] #	62 [60; 67] *#	73 [71; 78] *#§	77 [76; 78] *# °
Співвідношення вільна / зв'язана кислотність	1,4 [1,3; 1,5]	0,6 [0,5; 0,6] *	1,5 [1,5; 1,6] #	1,3 [1,1; 1,4] #	0,8 [0,8; 0,8] *#§	0,7 [0,7; 0,7] *# °	

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
- § – $p < 0,05$ відносно показників щурів які отримували ДН;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС.

На відміну від МКС та ДН введення КЕП не викликало змін з боку об'ємних показників секреторної активності шлунка та показників загальної кислотності (див. табл. 30), проте призводило до статистично вірогідного ($p = 0,002$) зниження співвідношення вільної та загальної кислотності у 2,3 рази відносно значень щурів інтактної групи. Вказане зниження обумовило статистично вірогідне ($p = 0,002$) зниження вільної кислотності на 36,0 [38,4; 32,8] % та зростання рівня зв'язаної кислотності ($p = 0,002$) на 55,4 [51,3; 72,0] % відносно показників інтактних тварин та становили 48 [47; 49] мл 0,1 N NaOH / 100 мл та 85 [85; 87] мл 0,1 N NaOH / 100 мл відповідно (див. табл. 30).

Підвищена секреція шлункового соку є одним з провідних механізмів ульцерогенезу, тому вивчення впливу КЕП на зазначений фізіологічний процес є важливим етапом при доклінічному вивченні гастропротекторних властивостей. Проведене дослідження показало, що п'ятиразове введення МКС щурам без змодельованих хворобливих станів у дозі, яка дорівнює ED_{50} як за протизапальною так і за знеболюючою активністю (1 мг/кг) призводить до зрушень в бік посилення агресивності шлункового соку – зростання рівня вільної кислотності на тлі гіперсекреції.

Комбіноване застосування як ДН та КЕП так МКС та КЕП призвело до нівелювання НПЗЗ-індукованої гіперсекреції шлункового соку (див. табл. 30). Так, об'єм шлункового соку на тлі введення МКС та КЕП становив 1,3 [1,2; 1,3] мл/100 г маси тварин, що співставлялось з показниками інтактних тварин (1,3 [1,3; 1,4] мл/100 г). Крім того встановлено, комбіноване нарізне введення МКС та КЕП не викликало змін з боку загальної кислотності шлункового соку, проте відмічалось статистично вірогідне ($p = 0,002$) зниження співвідношення вільної та зв'язаної кислотності на $43,0 \pm 3,0$ % відносно показників щурів, які отримували тільки МКС, за притаманним КЕП механізмом, описаним вище.

Як похідні слабких органічних кислот, більшість НПЗЗ у кислому середовищі шлунка знаходяться в неіонізованій формі, тому здатні проникати через клітинні мембрани в цитозоль. Через зниження вмісту ПГЕ1 відбувається зниження секреції бікарбонатів і слизу та посилення кислотопродукції. Це посилює дисбаланс факторів «захисту» та «агресії», сприяє утворенню виразок і пояснює певний профілактичний ефект потужних антисекреторних та гастропротекторних засобів [21, 32, 90].

3.4 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ДН ТА МКС ЗА ЇХ НАРІЗНОГО ВВЕДЕННЯ З КЕП НА МОТОРНО-ЕВАКУАТОРНІ ПРОЦЕСИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ МИШЕЙ

Дослідження моторно-евакуаторних процесів

Вивчення евакуаторної функції шлунка та моторної функції кишечника визнали за методом Коорман G.P. та Kennis H.M. (метод «міток») [196]. Протягом 24 год. миші були позбавлені доступу до їжі без обмеження питної води. КЕП та досліджувані НПЗЗ вводили впродовж 5 днів. Через 30 хв після останнього введення НПЗЗ всім тваринам в/шл вводили по 0,5 мл контрастної маси (10,0 % суспензія активованого вугілля у 1,0 % крохмальному гелі). Через 40 хв тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним наркозом. У дослідних та контрольних тварин вимірювали (у см) абсолютну довжину кишківника та шляху (у см), пройденого контрастною масою по ньому, а перистальтику ШКТ оцінювали як % довжини кишківника, пройденого контрастною масою, по відношенню до абсолютної довжини останнього, який розраховувався за формулою 3.3:

$$ПА = \left(\frac{L_{\text{к.}}}{L_{\text{абс.}}} \right) \times 100 \%, \quad (3.3)$$

де: ПА – перистальтична активність, %;

$L_{\text{к}}$ – довжина кишківника, пройденого контрастною масою, см;

$L_{\text{абс.}}$ – абсолютну довжину кишківника, см.

При дослідженнях впливу КЕП та НПЗЗ (ДН та МКС) на моторно-евакуаторні процеси піддослідних тварин розділяли на 6 груп:

- I (негативний контроль) – миші (n=7), яким впродовж 5 днів перед дослідженням в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (1 мл/100 г);
- II – миші (n=7), яким впродовж 5 днів в/м вводили КЕП (0,14 мл/кг);
- III – миші (n=7), яким впродовж 5 днів перед дослідженням в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (1 мл/100 г) та ДН (8,0 мг/кг) в/шл;
- IV – миші (n=7), яким впродовж 5 днів перед дослідженням в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (0,1 мл / 10 г) та МКС (1,0 мг/кг) в/шл;
- V – миші (n=7), яким впродовж 5 днів перед дослідженням в/м вводили КЕП (0,14 мл/кг) та ДН (8,0 мг/кг) в/шл;
- VI – миші (n=7), яким впродовж 5 днів перед дослідженням в/м вводили КЕП (0,14 мл/кг) та МКС (1,0 мг/кг) в/шл.

Дослідження впливу ДН, МКС та КЕП на моторно-евакуаторну активність шлунка показало, що ДН та МКС викликав у щурів підвищення евакуаторної функції шлунка та моторної активності кишківника у мишей (табл. 3.4.). Так, у інтактних мишей ПА становила $57,1 \pm 1,14$ (95 % ДІ: 54,9–59,4) %. У тварин, яким вводили КЕП аналогічний показник був статистично вірогідно нижче ($p < 0,05$) і склав $42,6 \pm 1,04$ (95 % ДІ: 40,5–44,6)%. У мишей, яким протягом 5 днів вводили ДН в дозі 8 мг/кг відзначено статистично вірогідне ($p < 0,05$) збільшення ПА до $67,7 \pm 4,41$ (95 % ДІ: 65,0–70,5)%, що вказувало на посилення моторики шлунково-кишкового тракту, що можна розцінювати як ознаку розвитку ДН-індукованого ураження травного тракту у тварин. На тлі введення МКС відмучено статистично вірогідне ($p < 0,05$) збільшення відносної довжини кишківника, пройденої контрастом на 18,9 % відносно показників інтактних тварин, що узгоджувалось з даними літератури про здатність НПЗЗ викликати гіпермоторику шлунка [153, 161, 162, 236].

У групі мишей, які отримували комбіновано ДН і КЕП показник ПА склав $60,3 \pm 1,30$ (95 % ДІ: 57,7–62,8) %, що зіставлялося з ПА інтактних тварин. На тлі комбінованого застосування МКС та КЕП встановлено ослаблення МКС-індукованої гіпермоторики шлунка. На це вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) зменшення довжини кишківника, пройденої контрастом на 12,3 % відносно показників тварин, які отримували тільки МКС. Отримані результати вказують на здатність КЕП нівелювати МКС-індуковану гіпермоторику шлунка, що співставлялось із показниками мишей, які отримували тільки КЕП – ПА статистично вірогідно знижувалась ($p < 0,05$) на 14,5 % відносно показників інтактних тварин.

**Вплив ДН та МКС за їх нарізного введення з КЕП
на моторно-евакуаторну функцію шлунка у мишей (M ± m (95 % ДІ), n=42)**

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту					
	I група	II група	III група	IV група	V група	VI група
	Інтактні щури	КЕП 0,14 мл/кг	ДН, 8 мг/кг	МКС, 1 мг/кг	ДН + КЕП	МКС + КЕП
<i>n</i>	7	7	7	7	7	7
Загальна довжина кишківника, см	57,9±1,84 (95 % ДІ: 54,2–61,5)	60,6±1,32 (95 % ДІ: 58,0–63,2)	60,1±1,84 (95 % ДІ: 56,5–63,8)	61,4±0,57 (95 % ДІ: 60,3–62,3)	59,7±0,87 (95 % ДІ: 58,0–61,4)	58,9±1,18 (95 % ДІ: 56,5–61,2)
Довжина кишківника, пройдена контрастом, см	33,1±1,47 (95 % ДІ: 30,2–36,0)	25,8±0,79 (95 % ДІ: 24,2–27,3) *	40,7±1,57 (95 % ДІ: 37,7–43,8) * #	46,7±0,92 (95 % ДІ: 44,9–48,5) * #	36,0±0,80 (95 % ДІ: 34,4–37,5) * #§	37,5±0,82 (95 % ДІ: 35,8–39,1) * # °
ПА, %	57,1±1,14 (95 % ДІ: 54,9–59,4)	42,6±1,04 (95 % ДІ: 40,5–44,6) *	67,7±4,41 (95 % ДІ: 65,0–70,5) * #	76,0±1,41 (95 % ДІ: 73,2–78,8) * #	60,3±1,30 (95 % ДІ: 57,7–62,8) * #§	63,7±1,32 (95 % ДІ: 61,1–66,3) * # °

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
- § – $p < 0,05$ відносно показників щурів які отримували ДН;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС.

ГЛАВА 4

ОЦІНКА ВПЛИВУ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ НА ОКРЕМІ КЛАС- СПЕЦИФІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НПЗЗ

Найбільш значущими, за клінічного застосування, властивостями НПЗЗ є їх протизапальний та знеболюючий ефекти. Беручи до уваги відомості про триетапність запального процесу нами поставлено задачу провести дослідження кожного компоненту запалення окремо, відповідно – альтерації, ексудації та проліферації за допомогою загальноприйнятих гострих експериментальних моделей для оцінки впливу КЕП на вказані ефекти НПЗЗ.

При дослідженні впливу КЕП та НПЗЗ на процеси альтерації на моделі альтеративного запалення шкіри у щурів нами використано МКС. Вивчення фази ексудації проведено на двох моделях – ЦОГ-опосередкованому карагеніновому та ЛОГ-опосередкованому зимозановому набряках кінцівки у щурів, що дозволило охарактеризувати окремі медіаторні механізми реалізації ПЗА за комбінованого застосування КЕП та ДН. Вплив НПЗЗ та КЕП на проліферативну фазу запалення досліджували на моделі «ватної гранульоми» у щурів, використовуючи ІНД.

Знеболюючу активність КЕП та НПЗЗ вивчали на моделі вісцерального болю у мишей, використовуючи ІБП.

Оцінка протизапальної активності

Дослідження протизапальної активності проводили оцінюючи вплив на окремі компоненти запального процесу – атиальтеративну дію (АаД) – планіметричні дослідження при оцтовокисло-декстранових виразках шкіри у щурів, антиексудативну дію (онкометричні дослідження) та антипроліферативну дію (модель «ватної гранульоми» у щурів).

4.1 Вивчення впливу КЕП НА АНТИАЛЬТЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ МКС

Модель гострого альтеративного запалення (оцтовокисло-декстранові виразки шкіри у щурів)

Вплив КЕП на антиальтеративну дію НПЗЗ вивчали на моделі асептичного запалення шкіри і підшкірної клітковини у щурів, яка дозволяє простежити ефективність лікування при альтеративному запаленні. Альтеративну фазу запалення викликали підшкірним (п/ш) введенням в попередньо депільованій ділянці спини 1,0 мл 9,0 % р-ну оцтової кислоти з одночасним в/о введенням 6,0 % р-ну декстрану в дозі 300 мг/кг на тварину, що викликає коагуляційний некроз тканин, внаслідок чого виникають функціонально-трофічні порушення та відбувається формування трофічних виразкових дефектів [59]. День введення оцтової кислоти та декстрану вважали нульовим («0») днем експерименту.

КЕП застосовували в/м в лікувально-профілактичному режимі: введення розпочинали за 5 днів до моделювання запальні-дегенеративного процесу (2 ін'єкції з інтервалом 3 дні) та продовжували (3 ін'єкції з інтервалом 3 дні, перша – через 6 год після введення оцтової кислоти і декстрану) до формування максимальної площі виразки (7 день експерименту).

НПЗЗ (МКС у дозі 9,1 мг/кг, яка дорівнює його ED_{50} за антиексудативною активністю) вводили в/шл з інтервалом у 2 дні, розпочинаючи за 5 днів до моделювання запально-дегенеративного процесу та впродовж 7 днів після введення оцтової кислоти і декстрану – усього 7 ін'єкцій (рис. 31) [12].

Антиальтеративну активність оцінювали планіметрично за площею виразок у динаміці на 7, 12, 17, 22 та 27 доби дослідження [141]. Для визначення площі оцтовокисло-декстранових виразок у щурів на 7, 12, 17, 22 та 27 день експерименту до ранової поверхні прикладали прозору плівку та наносили контур рани після чого плівку оцифровували шляхом сканування та визначали її площу у mm^2 за допомогою загальнодоступного програмного забезпечення BioVision 4.0 в середовищі Microsoft Windows (США).

За результатами вимірювань площі ранових дефектів розраховували антиальтеративну активність [104, 141]:

АаД визначали за формулою 4.1:

$$AaD = \left(\frac{S_k - S_d}{S_k} \right) \times 100 \%, \quad (4.1)$$

де AaД – антиальтеративна дія, %;

S_k – площа дефекту у щурів контрольної групи, мм²;

S_d – площа дефекту у щурів дослідно групи, мм².

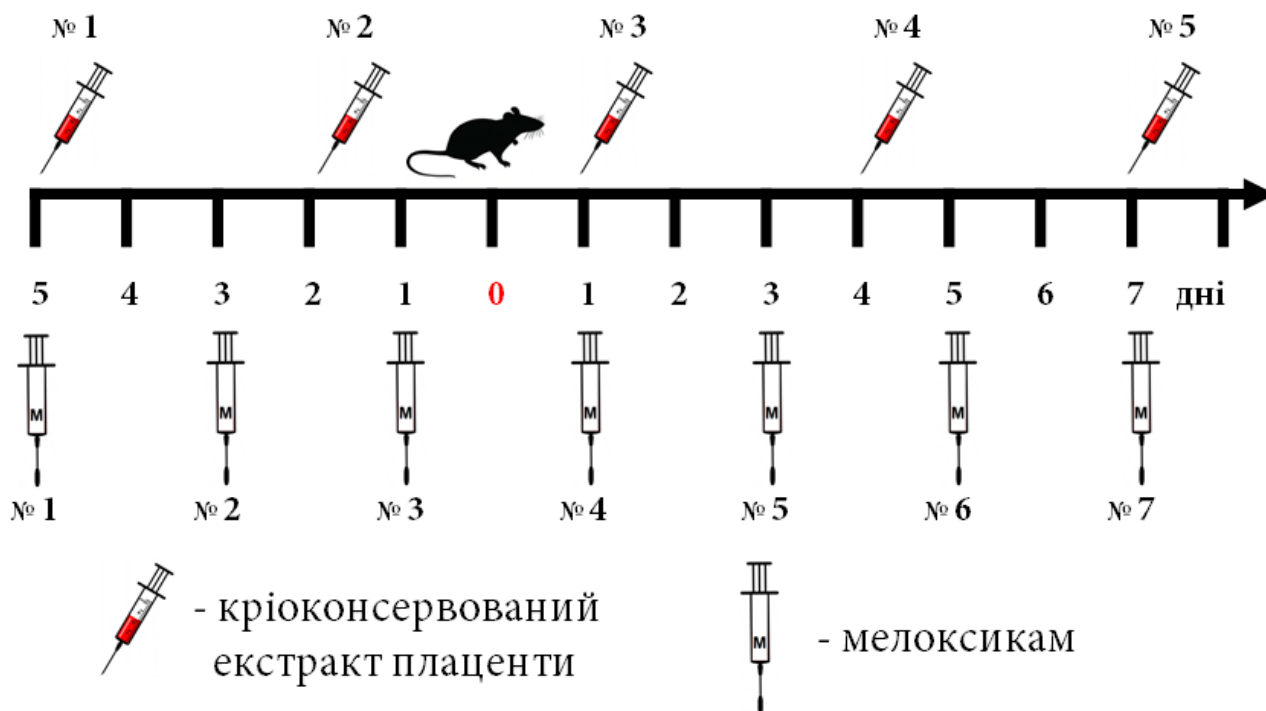


Рис. 31 Схема дослідження антиальтеративної активності КЕП та МКС на моделі оцтовокисло-декстранових виразок шкіри у щурів

Проведене дослідження показало, що підшкірне введення оцтової кислоти з одночасним введенням декстрану призводить до формування некротичних виразок у 100,0 % щурів на 7 добу експерименту з середньою сумарною площею 317,1 мм² після чого відбувається поступове загоєння шкірних дефектів. Так, на 27 день експерименту площа некротичних виразок у щурів контрольної групи зменшилась до 60,0 мм², проте у жодної особини ще не відмічено повного загоєння у вказаний строк (табл. 32) [185].

Серед груп щурів з оцтовокисло-декстрановими виразками шкіри, яким проводили лікування (II–IV групи) на 7 день експерименту найменшу AaД відмічено на тлі застосування МКС (13,5 %), який поступався показникам щурів групи монотерапії КЕП (18,6 %). Виявлені антиальтеративні властивості КЕП узгоджувались із даними літератури про його здатність стимулювати репаративні процеси та протизапальні властивості [45, 47].

Найвиразніша АаД на 7 день експерименту відмічено на тлі комбінованого застосування МКС та КЕП – площа некротичних виразок статистично вірогідно ($p < 0,05$) в 1,3 рази була меншою за показники щурів контрольної групи, а АаД становила 23,9 %, що у 1,8 рази перевищувало показники групи монотерапії МКС.

Вищенаведені дані вказують на здатність КЕП за лікувально-профілактичного режиму введення чинити АаД на моделі асептичного запалення шкіри і підшкірної клітковини у щурів. Виявлена АаД МКС узгоджуються з даними [12]. Так, в роботі [59] встановлено, що ДН не впливав на процеси загоєння оцтово-декстранових виразок у щурів на 8 день експерименту.

Подальші спостереження в динаміці показали, що динаміка загоєння некротично-виразкових дефектів шкіри у щурів всіх груп мало лінійний характер і площа дефекту скорочувалась в середньому на 8,7 % (значення за показниками тварин контрольною групою) кожні послідуєчі 5 днів, відповідно на 12, 17, 22 та 27 дні експерименту (рис. 32).

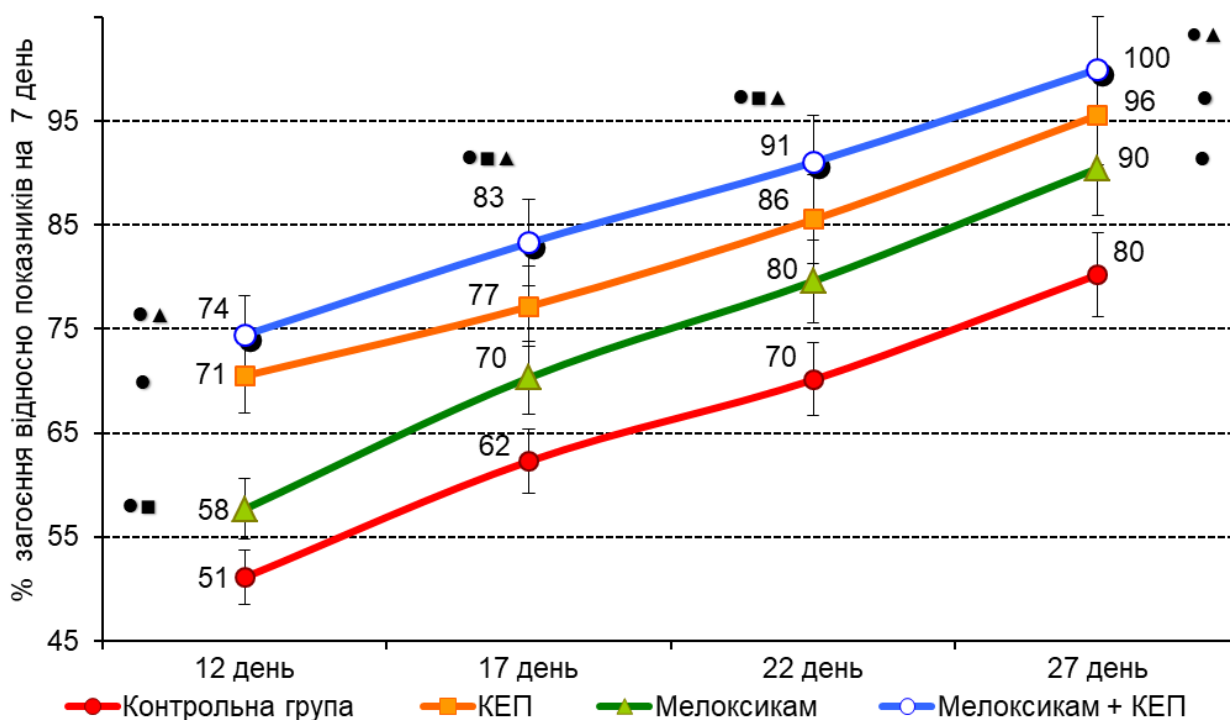


Рис. 32 Вплив КЕП та МКС на динаміку загоєння некротичних виразок шкіри у щурів, %

Примітки:

1. ● – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи;
2. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
3. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС.

**Вплив КЕП та МКС на динаміку площі некротичних виразок шкіри у щурів, мм²
($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n = 28$)**

Умови експерименту	n	Термін дослідження							К-ть тварин із загоєними ранами на 27 день, абс. (%)
		7 день		12 день	17 день	22 день	27 день		
		мм ²	АаД				мм ²	АаД	
Контрольна група	7	317,1±14,1 (95 % ДІ: 289,4–344,8)	–	152,9±3,6 (95 % ДІ: 145,8–159,9)	118,6±3,4 (95 % ДІ: 111,9–125,2)	92,9±5,2 (95 % ДІ: 82,6–103,1)	60,0 [55,0; 70,0]	–	0/7 (0)
КЕП	7	257,1±4,2 (95 % ДІ: 248,9–265,4)*	18,9%	75,7±6,9 (95 % ДІ: 62,3–89,1) * §	58,6±5,1 (95 % ДІ: 48,6–68,5) * §	37,1±2,9 (95 % ДІ: 31,5–42,7) * §	0,0 [0,0; 25,0]* §	81,4%	4/7 (57,1)
МКС	7	274,3±6,5 (95 % ДІ: 261,6–287,0)* #	13,5%	115,7±5,7 (95 % ДІ: 104,5–126,9) * # §	81,4±3,4 (95 % ДІ: 74,8–88,1) * # §	55,7±3,7 (95 % ДІ: 48,5–62,9) * # §	30,0 [0,0; 50,0]* §	58,1%	3/7 (42,9)
МКС + КЕП	7	241,4±5,5 (95 % ДІ: 230,6–252,3)* # °	23,9%	61,4±2,6 (95 % ДІ: 56,3–66,5) * ° §	40,0±3,1 (95 % ДІ: 34,0–46,0) * # ° §	21,4±2,6 (95 % ДІ: 16,3–26,5) * # ° §	0,0 [0,0; 0,0]* ° §	100,0%	7/7 (100)

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС;
- § – $p < 0,05$ відносно показників на 7 добу експерименту (T – критерій Вілкоксона).

Це дозволяє стверджувати, що за лікувально-профілактичного режиму застосування, як МКС так і КЕП, чинять вплив саме на значення вихідних показників площі дефектів у пікові строки формування оцтово-декстранових виразок шкіри у щурів (7–8 доба) після чого відбувається їх природня регресія. Це вказує на доцільність профілактичного режиму застосування КЕП для досягнення АаД у ранні строки запально-дегенеративних процесів [185].

Дослідження площі виразкових дефектів шкірних покривів у щурів на 27 день експерименту показало, що на тлі монотерапії МКС повне загоєння оцтово-декстранових виразок відмічене у 42,9 % тварин, а середні площа дефектів у тих щурів, де вони залишились, у 2,0 рази була нижчою за показники тварин контрольної групи та становила 30,0 мм² та 60,0 мм² відповідно.

АаД КЕП на 27 день експерименту становила 81,4 %, що у 1,4 рази перевищувало показники щурів групи монотерапії МКС, а повне загоєння виразкових дефектів шкіри відмічене у 57,1 % тварин.

Найвиразніша АаД на 27 день експерименту відмічено на тлі комбінованого лікувально-профілактичного застосування МКС та КЕП (див. табл. 32) – повне загоєння виразкових дефектів шкіри відмічено у 100,0 % щурів, що у 1,7 рази перевищує показники щурів групи монотерапії МКС та у 1,2 рази перевищує показники групи монотерапії КЕП. Отримані данні пропорційно узгоджувались із вихідними показниками площі оцтово-декстранових виразок шкіри у щурів на 7 день експерименту.

4.2 ОЦІНКА ВПЛИВУ КЕП НА АНТИЕКСУДАТИВНУ АКТИВНІСТЬ ДН

Моделі запальних процесів у щурів

Враховуючи різноплановість природного стимулювання запального процесу, в якості флогогенів нами обрано 6,0 % р-н декстрану, 9,0 % р-н оцтової кислоти, 1,0 % р-н λ -карагеніну, 2,0% суспензії зимозану та ПАФ [119].

При дослідженнях протизапальної дії НПЗЗ та КЕП піддослідних тварин у всіх серіях експериментів розділяли на чотири групи: I – інтактні щури (n=7), II (контроль) – щури з модельною патологією (оцтовокисло-декстранові виразки шкіри або набряк кінцівки) без лікування (n=7), III – щури (n=7), ліковані НПЗЗ, IV – щури (n=7), ліковані НПЗЗ та КЕП (0,16 мл/кг маси тіла, в/м). НПЗЗ вводили в/шл у вигляді стабілізованої водної суспензії на полісорбаті Twin-80 [115, 119].

Моделі гострого ексудативного запалення (карагеніновий та зимозановий набряк лапи у щурів)

Гостре ексудативне запалення індукували субплантарним введенням у праву задню лапу щурів 0,1 мл 1,0 % водного розчину λ -карагеніну («Sigma», США) або 2,0% суспензії зимозану («Sigma», США) [119].

λ -карагенін – сульфатизований полісахарид, виділений з ірландського моху *Chondrus*. У перші 30–90 хв у патогенезі запалення беруть участь гістамін та серотонін, в інтервалі між 1,5–2,5 год. – кініни, а між 2,5–5,5 год. – ПГ [58, 119]. Зимозан – біополімер оболонки дріжджових клітин *Saccharomyces cerevisii*, в основному що складаються з ліпополісахаридів. У патогенезі зимозанового набряку провідна роль належить ЛТ, що активують каскад запальних процесів [119].

Антиексудативну дію оцінювали за величиною набряку кінцівки, який оцінювали онкометрично через 30, 60, 120 та 180 хв після введення флогогену за допомогою водного плетизмометру [58].

Онкометричні дослідження

Розвиток запальної реакції оцінювали за динамікою об'єму кінцівки (у мл), яку визначали за допомогою електронних ваг (*Radwag WLC 0.2/C/1, Польща*) та ємкості з рідиною (рис. 33). Об'єм кінцівки визначали за об'ємом рідини, яку виміщувала кінцівка при зануренні [168].

У якості рідини обрано воду. Враховуючи, що за температури 14–17°C щільність води становить 0,998–0,999 г/мл, об'ємні показники зануреної кінцівки тварини умовно прирівнювали значення маси води, що виміщувалась: 1 г = 1 мл.

Протизапальну активність (ПЗА, %) в динаміці карагенін/зимозан-індукованого набряку кінцівки у щурів розраховували за формулою 4.2:

$$\text{ПЗА} = \Delta V_n \text{ дослідної групи} - \Delta V_n \text{ контрольної групи} \quad (4.2)$$

де: ПЗА – протизапальна активність, %;

ΔV_n – приріст об'єму ушкодженої кінцівки щурів в день n відносно вихідних показників, %.



Рис 33 Визначення об'єму кінцівки у щурів.
Позначення: 1 – електронні ваги, 2 – ємкість з водою.

4.2.1 Онкометрична характеристика антиексудативної активності КЕП та ДН на моделі карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів

Проведене дослідження показало, що субплантарне введення λ -карагеніну призводить до статистично вірогідного ($p = 0,018$) збільшення об'єму ушкодженої кінцівки вже через 30 хв на $29,2 \pm 3,3$ % відносно вихідних показників та становив відповідно $2,04 \pm 0,06$ мл (табл. 33). Запальний процес у стопі щурів супроводжувався характерним збільшенням її об'єму, який зберігався у щурів контрольної групи впродовж усього терміну дослідження з максимальною виразністю на 120–180 хв після введення флогогену, що узгоджувалось з даними літератури [39, 119]. Так дослідження показало, що на 120 хв після введення λ -карагеніну у щурів контрольної групи об'єм кінцівки статистично вірогідно ($p < 0,05$) перевищував вихідні показники на $75,0 \pm 6,4$ %, а на 180 хв – перевищував вихідні показники на $62,0 \pm 4,2$ % ($p < 0,05$) (рис. 34).

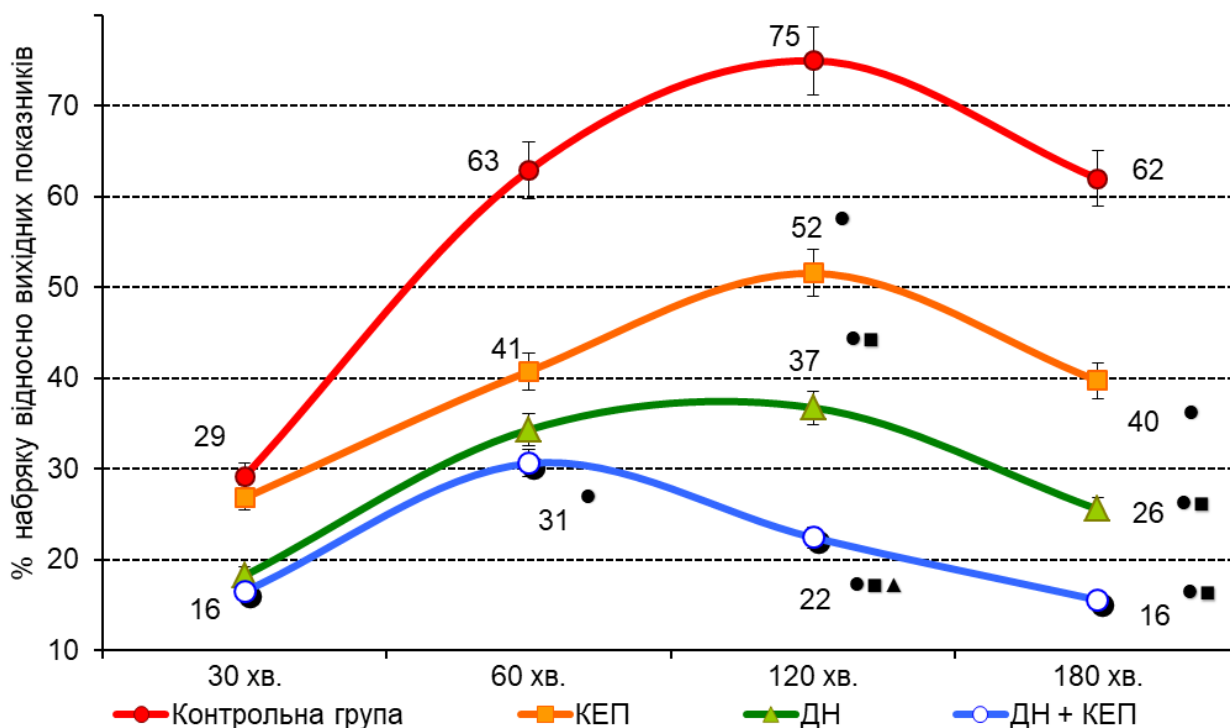


Рис. 34 Вплив КЕП та ДН на динаміку карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів, %

Примітки:

1. ● – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи;
2. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
3. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН.

**Вплив КЕП та ДН на динаміку карагенін-індукованого набряку кінцівки
у щурів ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=28$)**

Умови експерименту	n	Строк дослідження								
		Фон	30 хв		60 хв		120 хв		180 хв	
		Об'єм кінцівки, мл	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %
Контрольна група	7	1,59±0,05 (95 % ДІ: 1,49–1,69)	2,04±0,06 (95 % ДІ: 1,93–2,15) §	–	2,29±0,03 (95 % ДІ: 2,22–2,35) §	–	2,57±0,04 (95 % ДІ: 2,49–2,65) §	–	2,56±0,04 (95 % ДІ: 2,48–2,63) §	–
КЕП	7	1,56±0,04 (95 % ДІ: 1,47–1,64)	1,97±0,06 (95 % ДІ: 1,85–2,09) §	2,4	2,17±0,06 (95 % ДІ: 2,06–2,28) * §	22,2	2,19±0,07 (95 % ДІ: 2,05–2,32) * §	23,4	2,17±0,05 (95 % ДІ: 2,07–2,27) *	22,3
ДН	7	1,57±0,05 (95 % ДІ: 1,47–1,67)	1,84±0,06 (95 % ДІ: 1,72–1,97) §	11,0	2,10±0,08 (95 % ДІ: 1,95–2,25) * §	28,6	2,10±0,08 (95 % ДІ: 1,95–2,25) * # §	38,3	1,97±0,07 (95 % ДІ: 1,83–2,11) * #	36,4
ДН + КЕП	7	1,57±0,05 (95 % ДІ: 1,47–1,67)	1,83±0,06 (95 % ДІ: 1,71–1,95) §	12,7	2,04±0,06 (95 % ДІ: 1,93–2,15) * §	32,3	2,04±0,06 (95 % ДІ: 1,93–2,15) * # ° §	52,6	1,81±0,07 (95 % ДІ: 1,68–1,95) § * #	46,4

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН;
- § – $p < 0,05$ відносно вихідних (фон) показників (T – критерій Вілкоксона).

Превентивне введення КЕП за 60 хв до λ -карагеніну практично не чинило антиексудативної дії на 30 хв спостереження – об'єм кінцівки у вказані строки практично співставлявся із показниками щурів контрольної групи (див. рис. 34).

Так збільшення об'єму кінцівки у щурів, яким вводили КЕП та λ -карагеніну на 30 хв становив $26,8 \pm 3,2$ % відносно вихідних показників (табл. 33). Проте в подальшому у щурів тієї ж групи відмічались розбіжності у динаміці запального процесу, порівняно із щурами контрольної групи.

Так, на 60 хв у щурів, яким вводили КЕП та λ -карагенін об'єм кінцівки статистично вірогідно ($p < 0,05$) зріс на $40,7 \pm 4,7$ %, на 120 хв – на $51,5 \pm 1,7$ % відносно вихідних показників, а на 180 хв протизапальна активність КЕП становила 22,3 %.

Превентивне введення ДН в дозі 8 мг/кг спричиняло антиексудативну дію вже на 30 хв після введення λ -карагеніну – протизапальна активність становила 11,0 %, що у 4,6 рази перевищувала аналогічні показники в ті самі строки у щурів, яким вводили КЕП. На 60 хв спостереження ДК співставлявся за ПЗА з КЕП, яка становила відповідно 28,6 % та 22,2 %, однак на 120 хв та 180 хв ДН перевищував КЕП за ПЗА відповідно у 1,6 рази в обидва строки спостереження [39].

Комбіноване нарізне введення КЕП та ДН перед λ -карагеніном на 30 хв та 60 хв спостереження практично не відрізнялось за величиною ПЗА від групи монотерапії ДН та становила відповідно 12,7 % та 32,3 % (див. рис. 34). Проте на 120 хв спостереження у групі комбінованого застосування КЕП та ДН відмічено найвиразнішу ПЗА серед щурів усіх досліджуваних груп – 52,6 %, що у 2,2 рази перевищувало показники групи монотерапії КЕП та у 1,4 рази поступалось показникам щурів групи монотерапії ДН.

На 180 хв спостереження у щурів, яким вводили ДН та КЕП ПЗА становила 46,4 %, а об'єм ушкодженої кінцівки ($1,81 \pm 0,07$ мл) практично співсталявся із вихідними показниками до введення λ -карагеніну ($1,57 \pm 0,05$ мл).

Найбільшою цінністю моделі карагенін-індукованого гострого ексудативного запалення є змога припустити механізм дії речовин, ПЗА яких досліджується, оскільки в різні часові проміжки у процесі запалення провідну роль відіграють різні медіатори запалення [119].

Виявлена відсутність ПЗА КЕП на 30 хв спостереження на нашу думку пов'язана із коротким проміжком часу від його застосування,

оскільки за даними [45] досліджуваний кріоекстракт володіє ранозагоюючою активністю, а наші власні попередні дослідження показали, що КЕП чинить виразну антиальтеративну дію на моделі оцтово-декстранових виразок у щурів при його введенні за 5 днів до моделювання запально-дегенеративного процесу (2 ін'єкції з інтервалом 3 дні). Зважаючи, що репаративні процеси тісно пов'язані із процесами альтерації, яка є компонентом, спільно з ексудацією та проліферацією, процесу запалення, можна припустити, що за інших умов експерименту (тривалішого профілактичного введення) КЕП, вказаний екстракт чинив би інший вплив на перебіг карагенін-індукованого запалення. Зазначені умови варто розцінювати як обмеження вказаного дослідження через його дизайн.

Комбіноване застосування ДН та КЕП мало співставну з монотерапією ДН за виразністю ПЗА – 32,3 % та 28,6 % відповідно, проте застосування тільки КЕП значно поступалось за вказаною активністю – ПЗА становила 22,2 %, що дозволяє припустити, що КЕП має менший вплив на продукування гістаміну та серотоніну у вогнищі запалення, а при комбінованому застосування ДН та КЕП вплив на вказані медіатори запалення чинить переважно досліджуваний НПЗЗ.

Особливу увагу привертає динаміка запального процесу на 120–180 хв дослідження (пік запального процесу). Встановлено, що на 120 хв спостереження превентивне застосування тільки КЕП проявляло ПЗА на рівні 22,3 %, що в 1,6 рази поступалось за вказаною активністю ДН. В той же час на тлі комбінованого застосування ДН та КЕП ПЗА становила 52,6 %, що дозволяє припустити, що через 4 год після введення КЕП (за 60 хв до ДН, відповідно за 120 хв до л-карагеніну) чинить супресивну дію на кініни, оскільки саме вони виступають провідними медіаторами запалення в проміжку 1,5–2,5 год. після введення флогогену [119].

В простагландинний період (2,5–5,5 год.) карагенін-індукованого запалення відмічено аналогічні розбіжності – на тлі комбінованого застосування КЕП та ДН відмічена найвиразніша проміж досліджуваних груп ПЗА, яка становила 46,4 %, що дозволяє припустити ще й супресивну дію КЕП, як і ДН на продукцію ПГ.

Отримані данні узгоджуються та доповнюють дані Гріщенко М.В. та співав. про механізми протизапальної дії КЕП [47]. Так, механізм протизапальної впливу КЕП, вочевидь, пов'язаний із дією гормонів, що містяться в ньому, – прогестерону, естрадіолу, пролактину, гонадотропіну та ін. Вони можуть впливати на «клітини запалення»

(лейкоцити, тканинні макрофаги, фібробласти, тучні клітини, ендотеліоцити), кістковий мозок, мікроциркуляцію як безпосередньо (через специфічні рецептори), так і опосередковано через медіатори й відповідні рецептори для останніх. В обох випадках цей вплив опосередковується змінами концентрацій внутрішньоклітинних циклічних нуклеотидів, ферментних систем, іонів, функціонування іонних транспортних систем та ін. Так, естрогени збільшують кількість моноцитів в крові і їх продукцію в кістковому мозку, проліферацію макрофагів та їх функціональну активність. Естрадіол гальмує синтез макрофагами макрокортину, який пригнічує утворення прозапальних медіаторів з АК (аналогічно до НПЗЗ) та ейкозаноїдів, що діють головним чином за рахунок лейкоцитарної інфільтрації. Крім того, гормони є індукторами біосинтезу ряду ферментних білків, які, в свою чергу, мають істотне значення в саморегуляції лейкоцитарної інфільтрації при запаленні [47]. Фібробласти мають рецептори для естрогенів і реагують на дію гормонів підвищенням синтезу білків. Крім того, статеві гормони, зокрема естрогени, стимулюють проліферацію фібробластів. Одночасно статеві гормони через вазоактивні медіатори і модулятори запалення регулюють мікроциркуляцію і підвищують судинну проникність, що є сприятливою умовою лейкоцитарної інфільтрації вогнища запалення [47]. Крім того КЕП властивий виразний антиоксидантний ефект, і його протизапальну дію можна пов'язано з усуненням прозапальної модуляції реакцій системи крові активними формами кисню та продуктами перекисного окислення ліпідів внаслідок стимуляції фізіологічної антиоксидантної системи [47, 108].

Отже, КЕП модулює перебіг запалення, яке, як відомо, є поєднанням реакцій системи крові, мікроциркуляторного русла та сполучної тканини [47].

4.2.2 Онкометрична характеристика антиексудативної активності КЕП та ДН на моделі зимозанового набряку кінцівки у щурів

Дослідження показало, що субплантарне введення 2,0 % суспензії зимозану призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) збільшення об'єму ушкодженої кінцівки вже через 30 хв на $28,1 \pm 5,4$ % відносно вихідних показників та становив $2,01 \pm 0,06$ мл (табл. 34). В той же час у щурів, яким превентивно вводили КЕП (III та IV групи) зростання об'єму кінцівки статистично вірогідно ($p < 0,05$) у 2,5 рази було меншим ніж у тварин контрольної групи та становило відповідно $11,3 \pm 6,5$ % у щурів III групи (рис. 35) [38].

Варто зазначити, що ПЗА на тлі застосування КЕП та на тлі комбінованого застосування КЕП та ДН практично співставлялись та становили 16,9 % та 16,8 % відповідно. В той же час монотерапія ДН у 2,6 рази поступалась за ПЗА показникам щурів, яким вводили КЕП та становила 7,5 %, проте ці розбіжності не досягали рівня статистичної значущості (див. рис. 35).

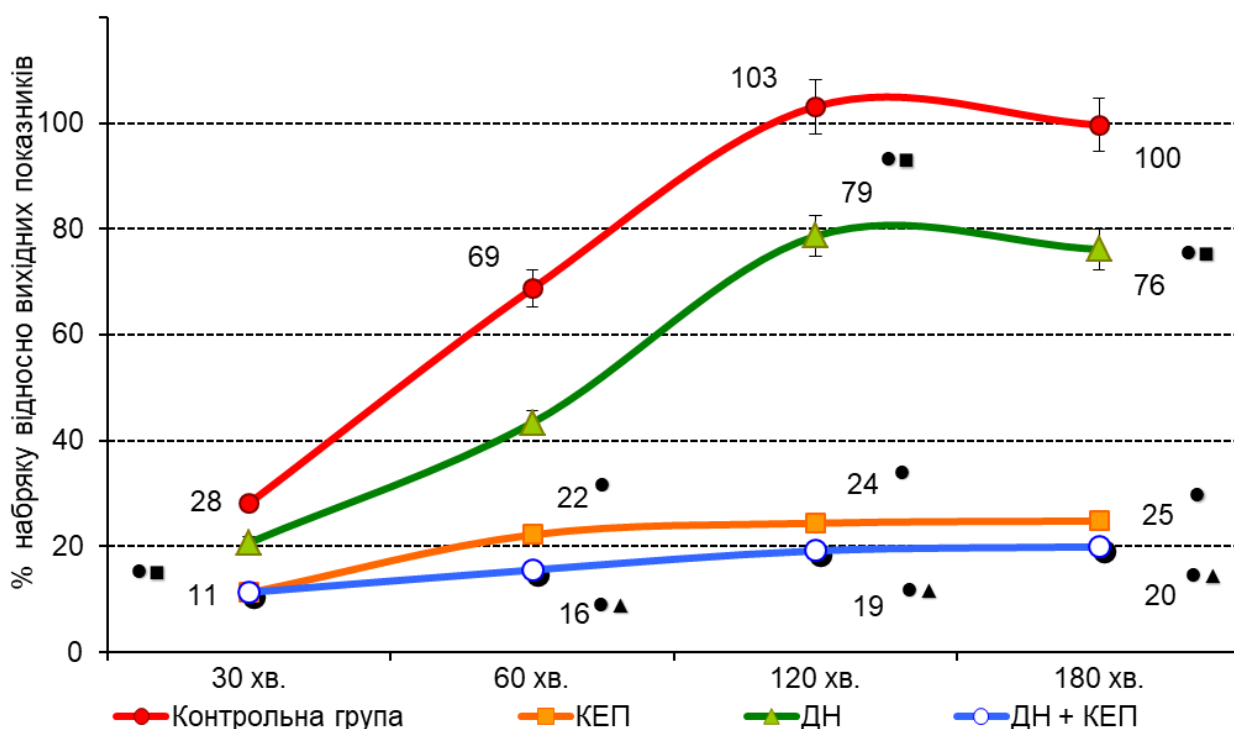


Рис. 35 Вплив КЕП та ДН на динаміку зимозан-індукованого набряку кінцівки у щурів, %

Примітки:

1. ● – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи;
2. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
3. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН.

**Вплив КЕП та ДН на динаміку зимозан-індукованого набряку кінцівки
у щурів ($M \pm m$ (95 % ДІ), $n=28$)**

Умови експерименту	n	Строк дослідження								
		Фон	30 хв		60 хв		120 хв		180 хв	
		Об'єм кінцівки, мл	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %	Об'єм кінцівки, мл	ПЗА, %
Контрольна група	7	1,59±0,07 (95 % ДІ: 1,44–1,73)	2,01±0,06 (95 % ДІ: 1,90–2,13) §	–	2,64±0,09 (95 % ДІ: 2,47–2,82) §	–	3,19±0,05 (95 % ДІ: 3,10–3,28) §	–	3,11±0,05 (95 % ДІ: 3,01–3,21) §	–
КЕП	7	1,53±0,05 (95 % ДІ: 1,43–1,63)	1,69±0,06 (95 % ДІ: 1,57–1,80) * #	16,9	1,86±0,04 (95 % ДІ: 1,78–1,93) * #§	46,5	1,89±0,03 (95 % ДІ: 1,82–1,95) * #§	78,8	1,89±0,07 (95 % ДІ: 1,74–2,03) * #	74,8
ДН	7	1,56±0,06 (95 % ДІ: 1,45–1,67)	1,86±0,04 (95 % ДІ: 1,78–1,93) * §	7,5	2,21±0,07 (95 % ДІ: 2,08–2,35) * §	25,4	2,76±0,08 (95 % ДІ: 2,59–2,92) * §	24,5	2,71±0,07 (95 % ДІ: 2,58–2,85) * §	23,5
ДН + КЕП	7	1,56±0,06 (95 % ДІ: 1,43–1,68)	1,71±0,06 (95 % ДІ: 1,6–1,83) *	16,8	1,79±0,06 (95 % ДІ: 1,68–1,89) * ° §	53,2	1,84±0,04 (95 % ДІ: 1,77–1,92) * ° §	84,0	1,84±0,08 (95 % ДІ: 1,68–2,00) * °	79,7

Примітки:

- * – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи;
- # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;
- ° – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН;
- § – $p < 0,05$ відносно вихідних (фон) показників (T – критерій Вілкоксона).

Подальші дослідження в динаміці показали, що у щурів контрольної групи відмічалось стрімке зростання об'єму ушкодженої кінцівки та досягали свого максимуму на 120–180 хв – приріст об'єму становив $103,1 \pm 8,6$; та $99,6 \pm 11,7$ % відповідно відносно фонових показників.

ПЗА ДН впродовж 60–180 хв мала стабільну величину на рівні 23,5–25,4 %, що узгоджується з літературними відомостями, що НПЗЗ впливають на ЦОГ-опосередкований шлях метаболізму АК (див. рис. 35) і в незначній мірі впливають на ЛОГ-опосередкований шлях, який є ключовим у розвитку зимозан-індукованого запалення [38, 119].

Найвиразніша та практично співставна ПЗА відмічена на тлі застосування КЕП та комбінованого застосування ДН та КЕП. Так, на 60 хв ПЗА становила ($p < 0,05$) 46,5 % та 53,2 % відповідно у щурів яким вводили КЕП та у щурів яким вводили КЕП та ДН, на 120 хв – 78,8 % та 84,0 %, а на 180 хв – 74,8 % та 79,7 % відповідно (див. табл. 34).

Отримані данні вказують на ЛОГ-опосередкований механізм ПЗА КЕП, оскільки дослідження показало, що в пікові строки спостереження (120–180 хв) інгібування ексудації на тлі застосування досліджуваного кріоекстракту статистично вірогідно ($p < 0,05$) у 3 < рази перевищувало аналогічні показники щурів, яким вводили тільки інгібітор ЦОГ ДН.

4.3 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КЕП НА АНТИПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ ІНД

Модель хронічного проліферативного запалення («ватна гранульома» у щурів)

Дослідження проведено на моделі «ватної гранульоми» [119]. Попередньо наркотизованим щурам в асептичних умовах підшивали під шкіру спини стерильну ватну кульку масою 15 мг. Досліджувані речовини вводили за 1 год до операції, а далі щоденно 1 раз на добу протягом 7 днів. Контрольні тварини в цей час отримували еквіоб'ємну кількість 0,9 % р-ну NaCl. На 8 добу експерименту під неінгаляційним наркозом імплантовану кульку з утвореною навколо неї грануляційною тканиною видаляли і висушували при $t^{\circ} = 55^{\circ} \text{C}$ до постійної маси, визначали масу грануляційної тканини (в мг).

Антипроліферативну активність (АПА, %) речовин розраховували за формулою 4.3:

$$\text{АПА} = \left(\frac{M_{\text{к}} - M_{\text{д}}}{M_{\text{к}}} \right) \times 100 \%, \quad (4.3)$$

де АПА – антипроліферативна активність;

$M_{\text{к}}$ – середня маса грануляційної тканини у щурів контрольної групи;

$M_{\text{д}}$ – середня маса грануляційної тканини щурів дослідної групи.

Дослідження АПА показало, що маса сухої грануляційної тканини, яка утворилась у інтактних щурів становила 42,0 [40,5; 44,0] г (рис. 36).

На тіл семиденного застосування КЕП маса грануляційної тканини, що утворювалась на ватній кульці статистично вірогідно ($p < 0,005$) на 9,5% була нижчою за показники інтактних щурів та становила 38,0 [34,0; 39,0] г.

Введення ІНД призвело до статистично вірогідного ($p < 0,005$) зменшення маси грануляційної тканини у ватній кульці на 16,7 %, що вказує на виразні антипроліферативні властивості досліджуваного НПЗЗ.

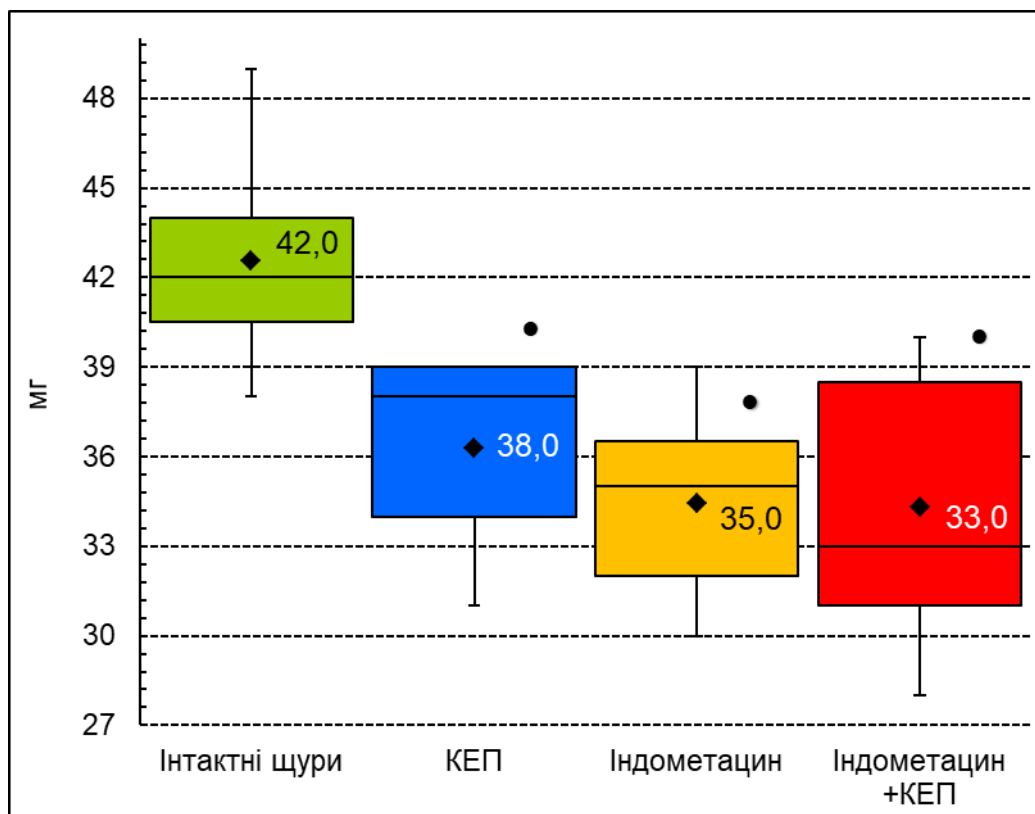


Рис. 36 Вплив КЕП та ІНД на утворення грануляційної тканини у щурів з ватною гранульою

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю.
3. Вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
4. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
5. ♦ – середнє значення;
6. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів.

На тлі комбінованого застосування ІНД та КЕП суха маса грануляційної тканини, яка утворювалась на ватній кульці статистично вірогідно ($p < 0,005$) була нижчою за показники не тільки інтактних щурів, а і нижча, ніж у тварин, яким вводили окремо ІНД та КЕП і становила відповідно 33,0 [31,0; 38,5] г, що на 21,4 % було нижче за показники інтактних щурів.

4.4 ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЛИВУ КЕП НА АНАЛГЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ ІБП

Модель вісцерального болю від хімічного подразнення («оцтово-кислі корчі» у мишей)

Вісцеральні больові відчуття викликали в/о введенням хімічного подразника – 0,75 % р-ну оцтової кислоти (пусковим моментом виступає білкова деструкція мембран) із розрахунку 0,1 мл / 10 г маси тіла вводили через 60 хв [13, 119] після в/шл введення НПЗЗ (ІБП). КЕП (0,16 мл/кг) вводили в/м за 60 хв до НПЗЗ. Введення р-ну оцтової кислоти сприяє загальній активації ноцицептивної системи та місцевому вивільненню брадикініну, гістаміну, серотоніну, ПГ та ЛТ [119], яке призводить до розвитку больових поведінкових реакцій, які проявлялись у вигляді характерних торсійних реакцій (больових «корчів») – бокових згинань тулуба, витягувань задніх кінцівок та прогинанням спини, тертя животом по підлозі, вилизувань живота, мимовільних скорочень черевних м'язів живота, які чергуються з їх розслаблення. Впродовж 20 хв після в/о введення оцтової кислоти підраховували кількість корчів. Антиноцицептивну активність (АНЦА, %) розраховували за формулою 4.4 [119]:

$$\text{АНЦА} = \left(\frac{\text{КК}_к - \text{КК}_д}{\text{КК}_к} \right) \times 100 \%, \quad (4.4)$$

де: АНЦА – антиноцицептивна активність, %;
КК_к – середня кількість корчів у мишей контрольної групи;
КК_д – середня кількість корчів у мишей дослідної групи.

При дослідженні АНЦА на моделі вісцерального болю, індукованого оцтовою кислотою, піддослідних тварин розділяли на 4 групи: I (контроль) – миші (n = 7) з оцтовокислими корчами, яким в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (0,1 мл / 10 г маси тіла) та в/шл воду *pro injectionibus* (ПАТ «Галичфарм», Україна) з розрахунку 0,1 мл / 10 г маси тіла, II – миші (n = 7) з оцтовокислими корчами, яким в/м вводили КЕП (0,14 мл/кг маси тіла) та воду *pro injectionibus*, III – миші (n = 7) з оцтовокислими корчами, яким в/м вводили 0,9 % р-н NaCl (0,1 мл / 10 г маси тіла) та ІБП (170 мг/кг, в/шл), IV – миші (n = 7) з оцтовокислими корчами, яким в/м вводили та КЕП (0,14 мл/кг маси тіла) та ІБП (170 мг/кг, в/шл) [115].

Дослідження показало, що в/о введення 0,75 % р-ну оцтової кислоти призводить до розвитку $35,6 \pm 1,5$ корчів впродовж 20 хв (рис. 4.3).

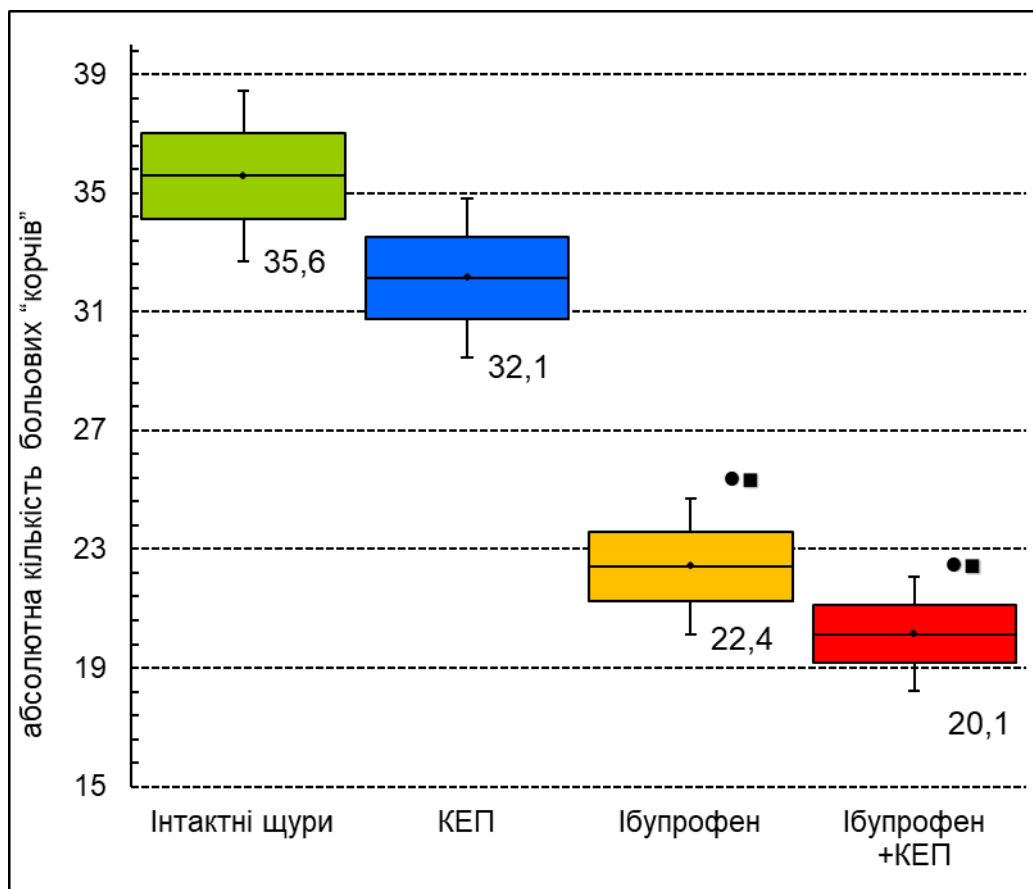


Рис. 4.4 Вплив КЕП на аналгетичну активність ІБП на моделі вісцерального болю у мишей.

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного.
3. Вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
4. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП.

Застосування ІБП призвело до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження кількості оцтових корчів на 36,9 % відносно показників мишей контрольної групи. На тлі комбінованого застосування ІБП та КЕП відмічено статистично вірогідне ($p < 0,05$) відносно показників тварин контрольної групи зниження кількості корчів на 43,4 %.

ГЛАВА 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕРАПЕВТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ТА БЕЗПЕЧНОСТІ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ ТА КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ РЕВМАТОЇДНОМУ АРТРИТІ У ЩУРІВ

Встановлена здатність КЕП знижувати ульцерогенну дію НПЗЗ та відомості про дозозалежність фармакологічної активності останніх спонукала нас до дослідження лікувальних властивостей ДН при застосуванні в умовах клінічного еквіваленту РА – АА у щурів (див. главу 2), оскільки виникало припущення, що механізмом ПВА активності КЕП може виступати зниження біодоступності та відповідно терапевтичної ефективності НПЗЗ.

Лікування АА проводилось з 14 по 28 день. ДН застосовували щоденно в/шл в дозі 8,0 мг/кг. КЕП по 0,16 мл/кг маси тіла вводили в/м з інтервалом 2 дні (усього 5 ін'єкцій), відповідно на 14, 17, 20, 23 та 26 дні, що відповідало інструкції до його клінічного застосування – в/м по 1,8 мл з інтервалом 2–3 доби курсом 1–5 ін'єкцій.

На «0» (вихідні показники), 14 та 28 дні експерименту проводили онкометричні дослідження, оцінку больової чутливості (електроімпульсне подразнення, механічне подразнення за Рендаллом-Селітто та визначення спонтанної больової реакції («тест інвалідності»). На 28 добу експерименту тварин виводили з експерименту, відбирали зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові, проводили розтин для макроскопічної оцінки стану внутрішніх органів та забору зразків тканин для патоморфологічного дослідження (шлунок).

Піддослідних тварин розділяли на чотири групи: I – інтактні щури (n=7), II (контроль) – щури (n=7) без лікування, III – щури (n=7), ліковані ДН (8,0 мг/кг), IV – щури (n=7), ліковані ДН (8,0 мг/кг) та КЕП (0,16 мл/кг маси тіла, в/м). ДН вводили в/шл в дозі, яка дорівнювала ED_{50} за протизапальною активністю – 8 мг/кг у вигляді емульсії на полісорбаті Twin-80 [115, 119]. Зазначена доза відповідає разовій дозі для людини 88 мг (1,25 мг/кг), що узгоджується з клінічними рекомендаціями про використання ДН у хворих по 75–100 мг/добу при його тривалому застосуванні та у 1,7 рази нижче за його максимальну добову дозу 150 мг [69].

5.1 ОЦІНКА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ТА ЗНЕБОЛЮЮЧОЇ ДІЙ ДН ПРИ КОМБІНОВАНОМУ ЗАСТОСУВАННІ З КЕП НА МОДЕЛІ АД'ЮВАНТНОГО АРТРИТУ У ЩУРІВ

Проведене дослідження протизапальної дії ДН при комбінованому застосуванні з КЕП показало (табл. 35), на 14 день експерименту у щурів з АА відмічено збільшення ($p < 0,05$) об'єму ушкодженої кінцівки в середньому у 2 рази відносно вихідних показників, що узгоджувалось з даними літератури про пік запальної реакції експериментального РА у щурів [111, 119, 170]. Монотерапія ДН щурів а АА призвела до зменшення ($p = 0,01$) на 28 добу експерименту об'єму ушкодженої кінцівки на 33,8% відносно показників на 14 добу, що на 36,1 % перевищувало ($p = 0,01$) вихідні показники («0» день експерименту). Отримані дані про виразність ПЗА ДН узгоджуються з даними літератури [72, 119].

Комбіноване застосування ДН та КЕП призвело до найвиразніших змін з боку об'ємних показників ушкодженої кінцівки у щурів з АА. Так, на 28 добу експерименту об'єм кінцівки зменшився ($p = 0,01$) на 42,5 % відносно показників на 14 день, що лише на 14,4 % перевищувало ($p = 0,01$) вихідні показники.

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що комбіноване застосування ДН та КЕП володіє більш виразною ПЗА ніж монотерапія вказаним НПЗЗ на моделі АА у щурів. На це вказує на 8,7 % виразніше зменшення об'єму ушкодженої кінцівки щурів на тлі введення ДН та КЕП, ніж на тлі введення тільки ДН (див. табл. 35).

**Вплив КЕП та ДН на величину набряку кінцівки
у щурів з АА, мл ($M \pm m$, 95 % ДІ, $n=28$)**

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + ДН + КЕП	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
«0» день	1,53±0,06 (95 % ДІ: (1,41–1,65))	1,59±0,06 (95 % ДІ: (1,48–1,68))	1,54±0,07 (95 % ДІ: (1,40–1,68))	1,59±0,06 (95 % ДІ: (1,46–1,71))	0,5 [3,7%]	0,6 [2,7%]	1,0 [1,1%]	0,6 [2,8%]
14 день	1,56±0,04 (95 % ДІ: (1,47–1,64)) $p_{д0} = 0,3$ [1,9%] ^{д2}	3,21±0,07 (95 % ДІ: (3,08–3,35)) $p_{д0} = 0,009$ [102,7%] ^{д2}	3,17±0,07 (95 % ДІ: (3,04–3,30)) $p_{д0} = 0,009$ [105,6%] ^{д2}	3,16±0,14 (95 % ДІ: (2,89–3,42)) $p_{д0} = 0,009$ [99,1%] ^{д2}	<0,001 [106,4%]	0,7 [1,3%]	0,7 [1,8%]	0,9 [0,5%]
28 день	1,59±0,03 (95 % ДІ: (1,52–1,65)) $p_{д0} = 0,02$ [3,7%] ^{д0} $p_{д14} = 0,09$ [1,83%] ^{д14}	2,99±0,07 (95 % ДІ: (2,84–3,13)) $p_{д0} = 0,01$ [88,3%] ^{д2} $p_{д14} = 0,01$ [7,11%] ^{д14}	2,10±0,20 (95 % ДІ: (1,70–2,50)) $p_{д0} = 0,01$ [36,1%] ^{д0} $p_{д14} = 0,01$ [33,8%] ^{д14}	1,81±0,05 (95 % ДІ: (1,72–1,90)) $p_{д0} = 0,01$ [14,4%] ^{д0} $p_{д14} = 0,01$ [42,5%] ^{д14}	<0,001 [88,3%]	0,001 [29,7%]	<0,001 [39,2%]	0,2 [13,6%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексми $д_0$, $д_{14}$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Дослідження знеболюючої активності

Знеболюючу активність вивчали в умовах індукованої та спонтанної больових реакцій у щурів. Індукцію больових відчуттів проводили електричним струмом (електроімпульсне подразнення слизової оболонки прямої кишки у щурів), термічним чинником (тест теплової імерсії хвоста), хімічним чинником («оцтово-кислі корчі» у мишей) та механічним подразненням (тензоалгозиметрія за Рендаллом-Селітто). Спонтанну больову реакцію вивчали в «тесті інвалідності» у щурів. Аналгетичну активність оцінювали за

величиною порогу больової чутливості (ПБЧ) або тривалістю латентного періоду больової реакції (ЛПБР).

Перед розподілом тварин на групи проводили їх рандомізацію за індивідуальною больовою чутливістю, яку визначали в тесті відсмикування хвоста за дії термічного подразника (тест теплової імерсії хвоста) та відбирали для подальших досліджень тварин, ЛПБР в яких відповідав діапазону [7–12] с [92].

Термічне подразнення у щурів викликали шляхом зануренням хвоста (tail immersion test) лабораторних тварин на 3 см у воду зі сталою $t = 52,0 \pm 0,2$ °C у лабораторний стакан (400 мл) довкола якого циркулювала вода для підтримання заданої температури води всередині ємкості за допомогою водяної бані [119, 151]. Тест теплової імерсії хвоста ґрунтується на спинальному флексорному рефлексі, який виникає у відповідь на занурення хвоста у підігріту воду. Перед тестуванням тварину фіксували в індивідуальному плексигласовому пеналі за Когана О.Х. Величину больового відчуття реєстрували за тривалістю (с) латентного періоду відсмикування хвоста у відповідь на термічне подразнення (рис. 37).

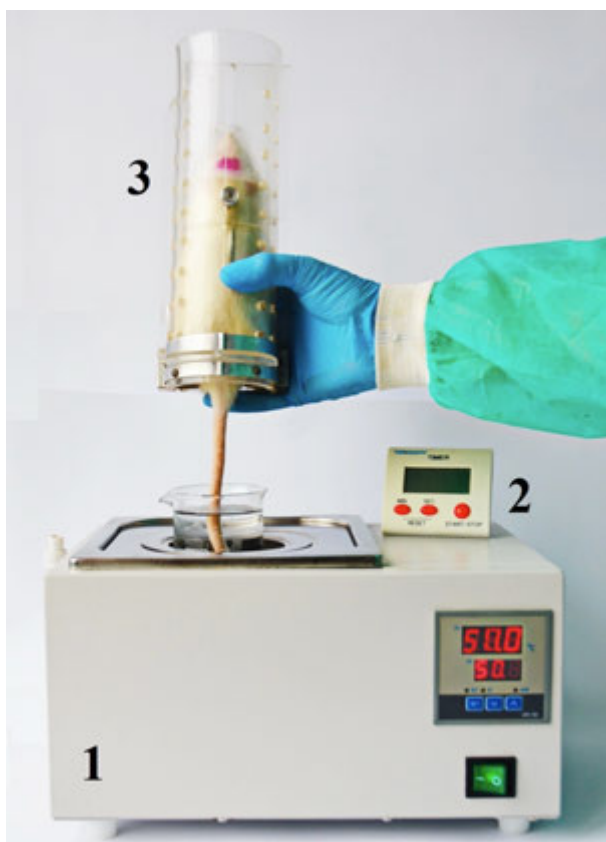


Рис. 37 Визначення ЛПБР у щурів при термічному подразненні.
Позначення: 1 – водяна баня, 2 – таймер, 3 – плексигласовий пенал.

Механічне подразнення за Рендаллом-Селітто (Randall-Selitto test)

Дослідження проводили за допомогою механічного тензоалгозиметра (рис. 38) «Paw Pressure Analgesia Meter DAQ 37215» (Ugo Basile, Італія).



Рис. 38 Визначення ПБЧ у щурів при механічному подразненні.
Позначення: 1 – платформа тензоалгозиметра, 2 – рухомий вантаж.

ПБЧ визначали за максимальним механічним тиском (у грамах) на дорзальну поверхню задньої кінцівки при наростаючій силі компресії зі швидкістю 39,2 г/с, який викликає рефлекторне висмикування кінцівки. Максимально-можлива величина тиску від приладу – 375 г (25 см).

Визначення ПБЧ проводили тричі із послідуочим розрахунком середнього арифметичного показника для кожної тварини. [221].

Дослідження знеболюючої активності ДН та КЕП при механічному подразненні кінцівки за Рендаллом-Селітто показало, що на 14 день експерименту у щурів з АА відмічається статистично вірогідне ($p < 0,05$) зниження ПБЧ в середньому на 50,5 % відносно вихідних показників (табл. 36).

Вплив КЕП та ДН на ПБЧ при механічному подразненні кінцівки за Рендаллом-Селітто у щурів з АА, г ($M \pm m$, 95 % ДІ, $n=28$)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + ДН + КЕП	p_{2-1}	p_{3-2}	p_{4-2}	p_{4-3}
«0» день	319±11 (95 % ДІ: (297–340))	314±7 (95 % ДІ: (301–328))	311±9 (95 % ДІ: (293–330))	316±8 (95 % ДІ: (300–331))	0,7 [1,4%]	0,8 [0,9%]	0,9 [0,2%]	0,7 [1,4%]
14 день	313±6 (95 % ДІ: (302–324)) $p_{д0} = 0,3$ [3,1%] ^{д2}	153±4 (95 % ДІ: (145–161)) $p_{д0} = 0,009$ [53,1%] ^{д2}	157±5 (95 % ДІ: (147–167)) $p_{д0} = 0,009$ [46,7%] ^{д2}	154±6 (95 % ДІ: (142–166)) $p_{д0} = 0,009$ [51,6%] ^{д2}	<0,0001 [51,1%]	0,5 [2,8%]	<0,9 [0,9%]	0,7 [1,8%]
28 день	309±3 (95 % ДІ: (302–315)) $p_{д0} = 0,2$ [3,1%] ^{д0} $p_{д14} = 0,3$ [1,4%] ^{д14}	191±9 (95 % ДІ: (174–209)) $p_{д0} = 0,009$ [40,6%] ^{д0} $p_{д14} = 0,009$ [25,2%] ^{д14}	227±6 (95 % ДІ: (215–240)) $p_{д0} = 0,009$ [26,7%] ^{д0} $p_{д14} = 0,009$ [44,5%] ^{д14}	259±12 (95 % ДІ: (235–282)) $p_{д0} = 0,009$ [12,9%] ^{д0} $p_{д14} = 0,009$ [67,6%] ^{д14}	<0,0001 [38,0%]	<0,001 [18,7%]	<0,0001 [35,1%]	0,04 [13,8%]

Примітки:

1. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексми $д_0$, $д_{14}$ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Монотерапія ДН призвела до зростання на 28 добу експерименту ПБЧ у щурів з АА на 44,5 % відносно 14 дня та становив 227 ± 6 г за механічного подразнення кінцівки. Комбіноване застосування ДН та КЕП призвело до виразнішого збільшення ПБЧ при механічному подразненні кінцівки у щурів з АА. Так, на 28 добу експерименту ПБЧ статистично вірогідно ($p < 0,05$) зріс на 67,6 % відносно показників на 14 добу, що лише на 12,9 % було нижче ($p < 0,05$) за показники інтактних тварин у відповідний термін.

Спонтанна больова реакція («тест інвалідності»)

Інтенсивність спонтанної больової реакції визначали за допомогою приладу «Тестер інвалідності» (*Incapacitance Tester MkV*, «Linton Instrumentation», Великобританія). Піддослідну тварину поміщали у спеціальну фіксувальну плексигласову камеру (рис. 39) і витримували там протягом 5 хв для адаптації.

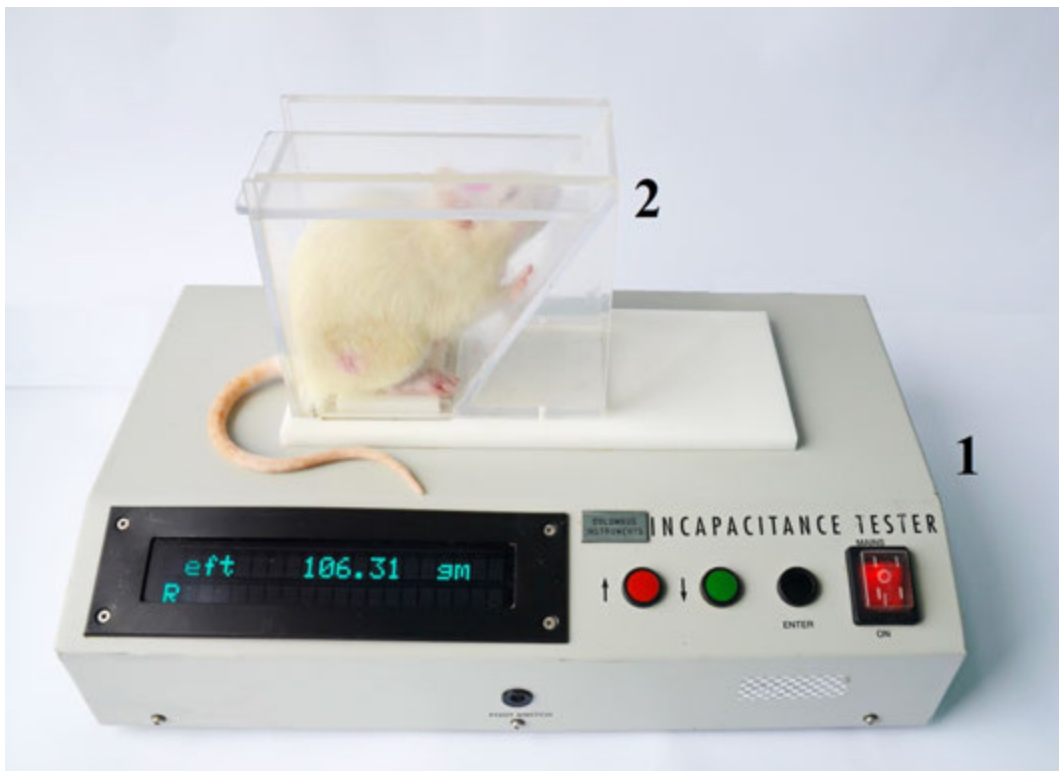


Рис. 39 Визначення інтенсивності спонтанної больової реакції
Позначення: 1 – тестер інвалідності, 2 – похила плексигласова камера.

При цьому задні кінцівки щура мають знаходитись на навантажувальних пластинах приладу, кожна окремо, а передні кінцівки – на похилій передній стінці камери [103]. Таким чином вся маса тварини перерозподіляється через задні кінцівки на вагові датчики «Тестера інвалідності». Перерозподіл маси тіла тварини вимірювали тричі з інтервалом у 5 с та фіксували середнє значення маси тіла, що припадає на праву та ліву кінцівки окремо. Далі розраховували індекс інвалідності (II) за формулою 5.1 [103]:

$$\Pi = \left(\frac{M_{\text{пошкодженої кінцівки}}}{M_{\text{пошкодженої кінцівки}} + M_{\text{інтактної кінцівки}}} \right), \quad (5.1)$$

де Π – індекс інвалідності (ум. од.);

M – маса тіла тварини, що розподіляється на пошкоджену або на інтактну кінцівку, г

Аналгетичну активність (АНА) визначали за здатністю досліджуваних засобів зменшувати інтенсивність спонтанної больової реакції у тварин, що виявлялось збільшенням Π , у порівнянні з вихідними даними (формула 5.2), та виражали у відсотках:

$$A_{\text{НА}} = \frac{\Pi_2 - \Pi_1}{\Pi_1} \quad (5.2)$$

де АНА – аналгетична активність у %;

Π_1 – значення Π у щурів контрольної групи;

Π_2 – значення Π у лікованих щурів.

Дослідження впливу КЕП та ДН на інтенсивність спонтанної больової реакції у щурів з АА показало, що на 14 добу експерименту у щурів контрольної групи (АА без лікування) відмічалось статистично вірогідне ($p = 0,009$) зниження інтенсивності спонтанної больової реакції на 38,7 % відносно вихідних показників (табл. 37).

Так на 14 добу у щурів контрольної групи Π становив $0,291 \pm 0,007$, що обумовлено розвитком запального процесу, індукованого введенням ПАФ. Монотерапія ДН щурів з АА призвела до статистично вірогідного ($p = 0,01$) збільшення на 28 добу експерименту Π на 40,0 % відносно показників на 14 добу, що узгоджувалось зі зниженням активності запального процесу. Комбіноване застосування ДН та КЕП призвело до ще більшого зростання Π у щурів з АА на 28 добу експерименту, відповідно на 51,9 % ($p = 0,009$) відносно показників на 14 добу, що практично співставлялось з показниками інтактних тварин.

Таблиця 37

**Вплив КЕП та ДН на інтенсивність спонтанної больової реакції
у щурів з АА, ум. од. (M ± m, 95 % ДІ, n=28)**

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + ДН + КЕП	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₄₋₃
«0» день	0,477 ±0,004 (95 % ДІ: (0,469– 0,486)	0,474 ±0,004 (95 % ДІ: (0,465– 0,484)	0,472 ±0,006 (95 % ДІ: (0,460– 0,483)	0,475 ±0,004 (95 % ДІ: (0,467– 0,483)	0,7 [0,6%]	0,7 [0,6%]	0,9 [0,5%]	0,6 [0,8%]
14 день	0,481 ±0,003 (95 % ДІ: (0,475– 0,487) p _{д0} = 0,2 [0,8%] ^{д2}	0,291 ±0,007 (95 % ДІ: (0,277– 0,305) p _{д0} = 0,009 [38,7%] ^{д2}	0,292 ±0,01 (95 % ДІ: (0,273– 0,311) p _{д0} = 0,009 [37,1%] ^{д2}	0,298 ±0,01 (95 % ДІ: (0,276– 0,319) p _{д0} = 0,009 [37,3%] ^{д2}	<0,0001 [39,5%]	0,9 [0,2%]	0,6 [2,3%]	0,7 [2,1%]
28 день	0,486 ±0,005 (95 % ДІ: (0,466– 0,486) p _{д0} = 0,4 [0,2%] ^{д0} p _{д14} = 0,3 [1,03%] ^{д14}	0,302 ±0,009 (95 % ДІ: (0,285– 0,319) p _{д0} = 0,009 [36,3%] ^{д0} p _{д14} = 0,06 [3,93%] ^{д14}	0,408 ±0,023 (95 % ДІ: (0,364– 0,353) p _{д0} = 0,01 [13,4%] ^{д0} p _{д14} = 0,01 [40,0%] ^{д14}	0,425 ±0,008 (95 % ДІ: (0,436– 0,468) p _{д0} = 0,01 [4,8%] ^{д0} p _{д14} = 0,009 [51,9%] ^{д14}	<0,0001 [36,5%]	<0,0001 [35,0%]	<0,0001 [49,5%]	0,09 [10,7%]

Примітки:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
5. Індексами д₀, д₁₄ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

Електроімпульсне подразнення

Больове подразнення у щурів викликали шляхом електроімпульсного подразнення слизової оболонки прямої кишки від електростимулятора лабораторного «ЕСЛ-2», який генерував прямокутні П-подібні електричні імпульси з параметрами: частота – 100 Гц, тривалість – 5 мс та затримка – 5 мс [24, 131].

Для дослідження щура фіксували в модифікованому індивідуальному плексигласовому пеналі за Когана О.Х. таким чином, щоб задні кінцівки тварини спирались на металеву пластину, розміщену на дні внутрішньої поверхні пеналу, яка виконувала функцію електроду (рис. 40) [65].

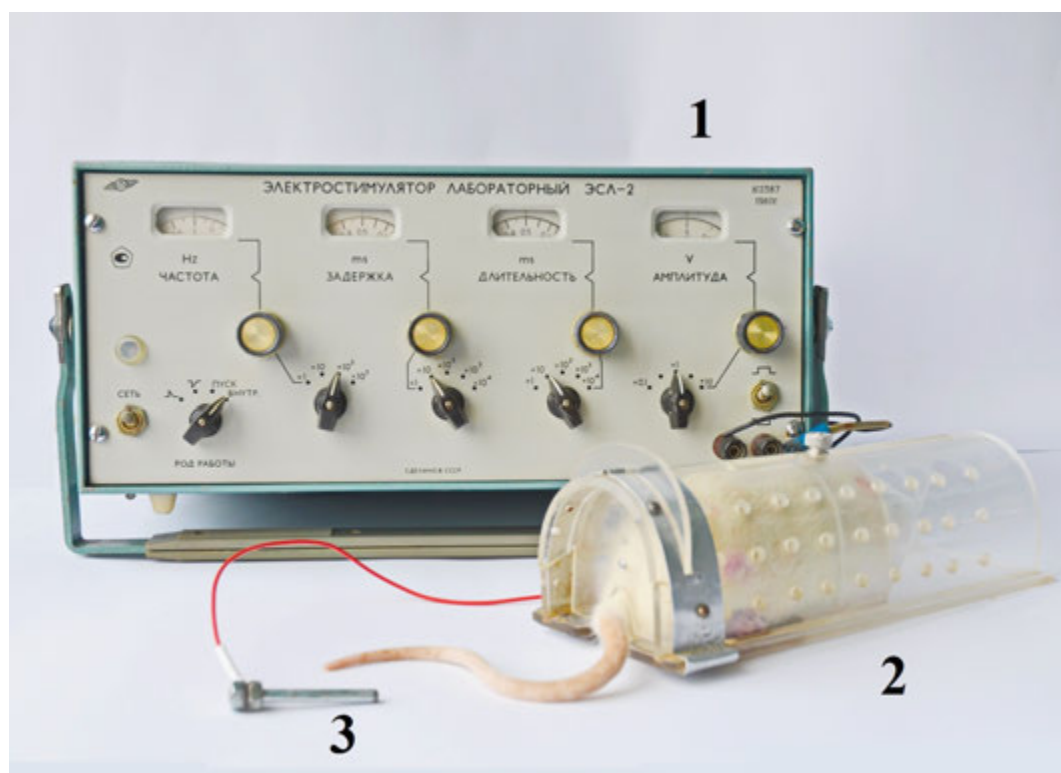


Рис. 40 Визначення ПБЧ у щурів при електроімпульсному подразненні.

Позначення: 1 – електростимулятор, 2 – плексигласовий пенал, 3 – електрод.

Другий електрод електричного ланцюга мав вигляд металевого стрижня діаметром 0,5 см та довжиною 4 см вводили у пряму кишку щура. За ПБЧ приймали таку напругу (В) електричного струму, яка викликала ноцицептивну реакцію у щурів, яку визначали за вокалізацією [24, 119, 131].

Дослідження ПБЧ від електроімпульсного подразнення проводили на моделі АА у щурів. Піддослідних тварин розділяли на чотири групи: I – інтактні щури (n=7), II (контроль) – щури з АА (n=7) без лікування, III – щури з АА (n=7), ліковані ДН (8,0 мг/кг), IV – щури з АА (n=7), ліковані ДН (8,0 мг/кг) та КЕП (0,16 мл/кг маси тіла, в/м).

Дослідження показало, що у щурів на тлі розвитку АА на 14 добу експерименту відзначалось статистично вірогідне ($p < 0,05$) зниження ПБЧ в середньому на 50,7 % (табл. 38).

Таблиця 38

Вплив КЕП та ДН на ПБЧ при електроімпульсному подразненні у щурів з АА, В ($M \pm m$, 95 % ДІ, n=28)

Строк	I (1) група	II (2) група	III (3) група	IV (4) група	Рівень статистичної вірогідності [%]			
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА + ДН	АА + ДН + КЕП	p ₂₋₁	p ₃₋₂	p ₄₋₂	p ₄₋₃
«0» день	6,1±0,22 (95 % ДІ: (5,7–6,5))	6,0±0,25 (95 % ДІ: (5,5–6,5))	6,3±0,34 (95 % ДІ: (5,6–7,0))	6,1±0,28 (95 % ДІ: (5,6–6,7))	0,8 [1,2%]	0,5 [4,8%]	0,7 [1,2%]	0,7 [2,3%]
14 день	6,1±0,28 (95 % ДІ: (5,6–6,7)) p _{д0} = 0,4 [1,2%] ^{д2}	3,1±0,21 (95 % ДІ: (2,7–3,6)) p _{д0} = 0,009 [47,6%] ^{д2}	2,9±0,14 (95 % ДІ: (2,6–3,1)) p _{д0} = 0,009 [54,5%] ^{д2}	3,1±0,17 (95 % ДІ: (2,7–3,4)) p _{д0} = 0,009 [50,0%] ^{д2}	<0,0001 [48,8%]	0,3 [9,1%]	0,8 [2,3%]	0,4 [7,5%]
28 день	6,2±0,24 (95 % ДІ: (5,7–6,7)) p _{д0} = 0,4 [2,4%] ^{д0} p _{д14} = 0,3 [1,2%] ^{д14}	3,9±0,14 (95 % ДІ: (3,6–4,1)) p _{д0} = 0,009 [35,7%] ^{д0} p _{д14} = 0,01 [22,7%] ^{д14}	6,1±0,23 (95 % ДІ: (5,6–6,5)) p _{д0} = 0,3 [3,4%] ^{д0} p _{д14} = 0,009 [112,5%] ^{д14}	6,9±0,17 (95 % ДІ: (6,6–7,3)) p _{д0} = 0,02 [12,8%] ^{д0} p _{д14} = 0,009 [125,6%] ^{д14}	<0,0001 [37,9%]	<0,0001 [57,4%]	<0,0004 [79,6%]	0,01 [14,1%]

Примітки:

1. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників;
2. [%] – значення розбіжностей показників у відсотках;
3. Індексами 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
4. Індексами д₀, д₁₄ вказано строки дослідження, з показниками яких проведено зрівняння в динаміці.

У щурів, лікованих ДН на 28 добу експерименту відмічено збільшення ПБЧ практично до рівня вихідних показників

($6,1 \pm 0,23$ В), в той час, як у нелікованих тварин (контрольна група) зазначений показник в аналогічні терміни дослідження був на 35,7 % нижче показників до моделювання АА.

У щурів, лікованих ДН та КЕП на 28 добу експерименту відмічено статистично вірогідне зростання ($p < 0,05$) ПБЧ на 125,6 % відносно показників на 14 день, що перевищувало показники щурів групи монотерапії ДН (112,5 %) (див. табл. 38).

5.2 ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІКУВАЛЬНОГО ЕФЕКТУ ДН ТА КЕП ЗА ДИНАМІКОЮ ГЕМАТОЛОГІЧНИХ ТА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ЩУРІВ З АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ

Гематологічні дослідження

Зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові після декапітації тварин відбирали у пробірки з попередньо внесеним антикоагулянтом (2-х заміщеною калійною сіллю етилен-діаміно-тетраоцтової кислоти – K_2 EDTA). Плазму відділяли центрифугуванням впродовж 15 хв при 3000 об/хв.

Для отримання сироватки кров відбирали у скляні пробірки без антикоагулянту та витримували при кімнатній температурі (20–26 °С) до повного відділення сироватки, яку відбирали у пробірку й центрифугували впродовж 15–20 хв при 3000 об/хв.

Гематологічні дослідження проводили із визначенням наступних показників:

1. еритроцити, $\times 10^{12}/л$;
2. гемоглобін, г/л;
3. тромбоцити, $\times 10^9/л$;
4. швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), мм/год.;
5. лейкоцити, $\times 10^9/л$ з лейкоцитарною формулою (гранулоцити, лімфоцити, моноцити, %).

Біохімічні дослідження

Матеріалом дослідження виступали цільна кров та гомогенати СОШ. Для отримання гомогенату СОШ перфузували холодним (+ 4 °С) ізотонічним 1,15 % розчином КСІ та гомогенізували при 3000 об/хв (тефлон-скло) у середовищі буферного розчину при співвідношенні 1:10 (маса/об'єм: наважка 250 мг + 2,25 мл 1,15 % розчину КСІ), отримуючи 10,0 % гомогенат.

Постядерний супернатант отримували шляхом центрифугування гомогенату СОШ впродовж 30 хв при 600 g з подальшим відбором аліквот у мікропробірки «Eppendorf». Депротеїнізований екстракт отримували додаванням до гомогенату тканини СОШ трихлортової кислоти (0,6 М) з подальшою нейтралізацією 5,0 М калію карбонатом.

1. **Вміст МДА в сироватці крові** визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. [147] та виражали у мкмоль/л. **Вміст МДА у СОШ** виражали у мкмоль/кг тканини.
2. **Активність каталази (КФ 1.11.1.6) у СОШ** визначали спектрофотометрично за методом Корольок М.А. та співав. [79] та виражали у мкат/кг тканини. [67] АПІ розраховували за формулою 2.2.
3. **Вміст метаболітів NO у СОШ** визначалась спектрофотометричним методом [121]. Активність NO-синтаз виражали у ммоль/г тканини
4. **Активність супероксиддисмутази (СОД) в сироватці крові (КФ 1.15.1.1.)** визначали спектрофотометрично за методом Костюка В. А. та співав. [80], який ґрунтується на інгібуванні реакції окислення кверцетину, за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 406$ нм. Активність СОД виражали у % інгібування окислення кверцетину
5. **Активність ПГ-синтази (КФ 1.14.99.1) у СОШ** визначали спектрофотометрично за зміною концентрації окисленої форми донору електронів адреналіну. Реакцію ініціювали додаванням спиртового розчину 0,19 мМ АК та реєстрували через 1 хв за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 782$ нм Активність ПГ-синтази виражали в мкмоль АК, окислених 1 мг білка за 1 хв – мкмоль/хв/мг білка [67].
6. **Вміст серомукоїду в сироватці крові** визначали спектрофотометрично за методом Weimer H.E. та Moshin R.J., який полягає у осадженні білків сироватки крові 1,8 М розчином перхлорної кислоти (HClO_4), виділенні серомукоїду з фільтрату за допомогою фосфорно-вольфрамової кислоти та подальшому кількісному визначенні за різницею світлопоглинання при

довжині хвилі $\lambda = 260$ нм і $\lambda = 280$ нм. Вміст серомукоїду виражали у ммоль/л [67].

7. **Вміст С реактивного білка (С-РБ) в сироватці крові** визначали за ступенем аглютинації та помутніння згідно інструкції використання латексного діагностичного тесту для виявлення С-реактивного білка в сироватці крові «СРБ латекс-тест» (ТОВ НВЛ «Гранум», Україна) та виражали у мг/л [67].
8. **Активність аланін-амінотрансферази (АлАт) в сироватці крові (КФ 2.6.1.1)** визначали спектрофотометрично за методом Reitman S. та Frankel S., який ґрунтується на тому, що внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією АлАТ, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. Визначення базується на вимірюванні оптичної щільності 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та піровиноградної кислот в лужному середовищі. Вимірювання проводили при довжині хвилі $\lambda = 530$ (500–560) нм та виражали у мкмоль/(мл×год). Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «АлАТ (Райтмана-Френкеля з калібратором)» (ТОВ НВП "Філісім-Діагностика", Україна) [67].
9. **Активність аспартат-амінотрансферази (АсАт) в сироватці крові (КФ 2.6.1.1)** визначали спектрофотометрично за методом Reitman S. та Frankel S., який ґрунтується на тому, що внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке відбувається під дією АсАТ, утворюються L-глутамінова та щавелевооцтова кислоти, остання самовільно декарбоксилується з утворенням піровиноградної кислоти. Активність АлАт виражали у мкмоль/(мл×год). Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «АсАТ (Райтмана-Френкеля з калібратором)» (ТОВ НВП "Філісім-Діагностика", Україна) [67].
10. **Активність гама-глутамілтранспептидази (ГГТП) в сироватці крові** визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на тому, що під дією ГГТП глутаміновий залишок з гамма-L-(+)-глутаміл-4-нітроаналіда переходить на дипептидний акцептор – гліцилгліцин. При цьому вилучається хромоген-п-нітроанілін. Оптичну щільність реакційного розчину вимірюють при довжині хвилі $\lambda = 405$ (400–430) нм після гальмування ензиматичної реакції ацетатною кислотою. Активність ГГТП виражали у Од/л. Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «ГГТП» (ТОВ НВП "Філісім-Діагностика", Україна) [67].
11. **Активність лужної фосфатази (ЛФ) в сироватці крові** визначали спектрофотометричним методом, який ґрунтується на властивості ЛФ гідролізувати ефірний зв'язок у β -гліцерофосфаті з відщепленням фосфатної кислоти. Вміст фосфору, що утворився, визначають за реакцією

з молібденовим реактивом у присутності аскорбінової кислоти. Продукт реакції – молібденовий синій, інтенсивність забарвлення якого прямопропорційна кількості фосфору. Активність ЛФ виражали у мкмоль/л. Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «Лужна фосфатаза» (ТОВ НВП "Філісім-Діагностика", Україна) [67].

12. **Вміст загального білка в сироватці крові** визначали спектрофотометричним методом за біуретовою реакцією, яка полягає в тому, що в лужному середовищі йони двоцвального купруму (CuSO_4) взаємодіють із білками з утворенням комплексу фіолетового кольору. Концентрацію білка визначали спектрофотометрично за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 546$ нм та виражали у г/л. Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «Загальний білок» (ТОВ НВП "Філісім-Діагностика", Україна). Вміст загального білка у **гомогенаті СОШ** виражали у мкг/мг тканини. Кількісне співвідношення білкових фракцій плазми крові визначали нефелометричним методом з використанням фосфатних буферів, який ґрунтується на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують альбуміни і глобуліни з утворенням суспензії, ступінь каламутності якої визначали за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 625$ (590–700) нм та виражали у г/л. Дослідження проводили із використанням наборів для біохімічних досліджень «Білкові фракції» (ТОВ НВП "Філісім-Діагностика", Україна) [67].
13. **Вміст загальних ліпідів в сироватці крові** визначали спектрофотометрично за кольоровою реакцією з сульфосфосфоганіліновим реактивом, яка ґрунтується на тому, що продукти розпаду ненасичених жирних кислот, що утворюються після кислотного гідролізу ліпідів, взаємодіють з фосфоганіліновим реактивом з утворенням забарвлених комплексів, що мають максимум поглинання при довжині хвилі $\lambda = 530$ нм. Ліпідні екстракти отримували за методом Bligh E.G. та Dyer W.I. [157]. Фосфоліпіди фракціонували за методом Svetashev V.I. та Vaskovsky V.E., шляхом двовимірної мікротонкошарової хроматографії [241]. Фосфоліпіди ідентифікували за методом [250] та виражали їх вміст за рівнем неорганічного фосфору у г/л [57].
14. **Вміст РНК та ДНК у СОШ** визначали спектрофотометрично за методикою Спірина А.С. [125], яка ґрунтується на реакції з хлорною кислотою та виражали в мкг/мл.

Проведене дослідження показало, на 28 день експерименту на тлі розвитку системного аутоімунного запалення у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання ШОЕ у 4,5 рази, та кількості лейкоцитів у 2,4 рази відносно показників інтактних щурів та становили відповідно 18,0 [15,5; 22,5] мм/год та $16,4 \pm 0,9 \times 10^9$ /л (рис. 41, 42) [42].

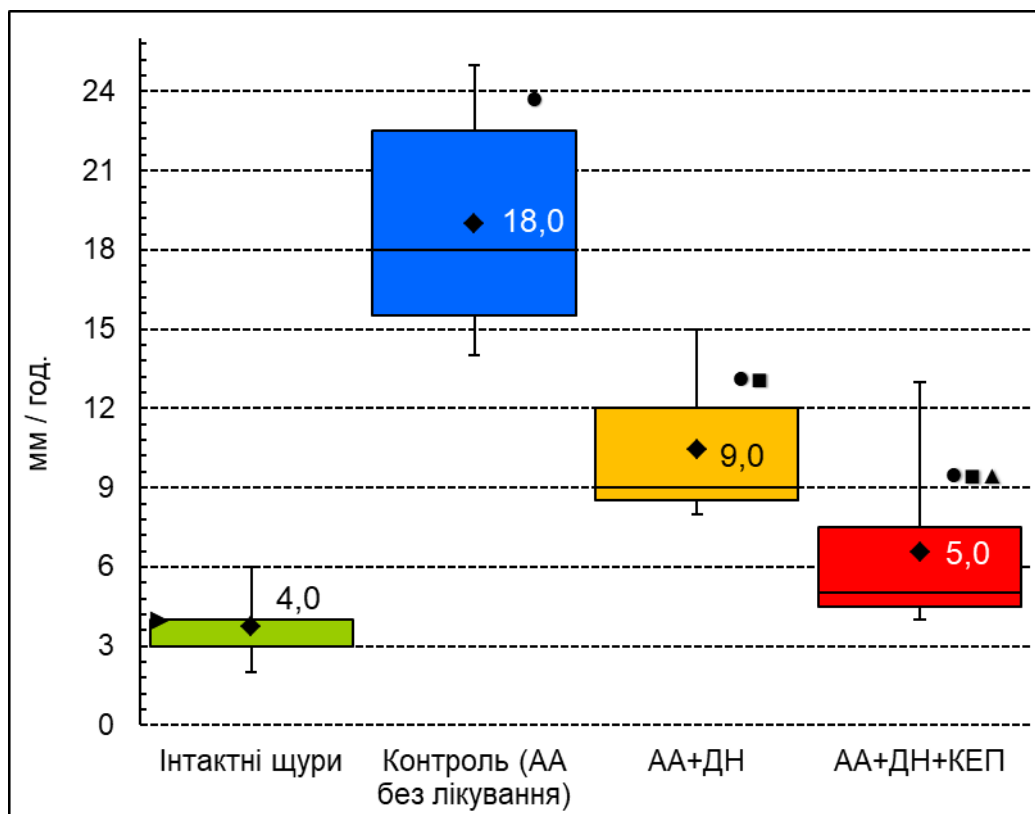


Рис. 41 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на ШОЕ в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю.
3. Вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
4. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана (▶ – медіана дорівнює 25 (75) перцентилю).
5. ◆ – середнє значення;
6. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
7. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
8. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, лікованих ДН.

Монотерапія ДН призвела до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження ШОЕ на 50,0 % та кількості лейкоцитів на 29,4 % ($p < 0,01$) відносно показників щурів контрольної групи. Комбіноване застосування ДН та КЕП призвело до найвиразнішої регресії гематологічних показників запалення – ШОЕ знизилась на 72,2 % ($p < 0,001$), а кількість лейкоцитів – зменшилась на 54,8 % ($p < 0,001$) відносно показників щурів з АА без лікування (див. рис. 41, рис. 42).

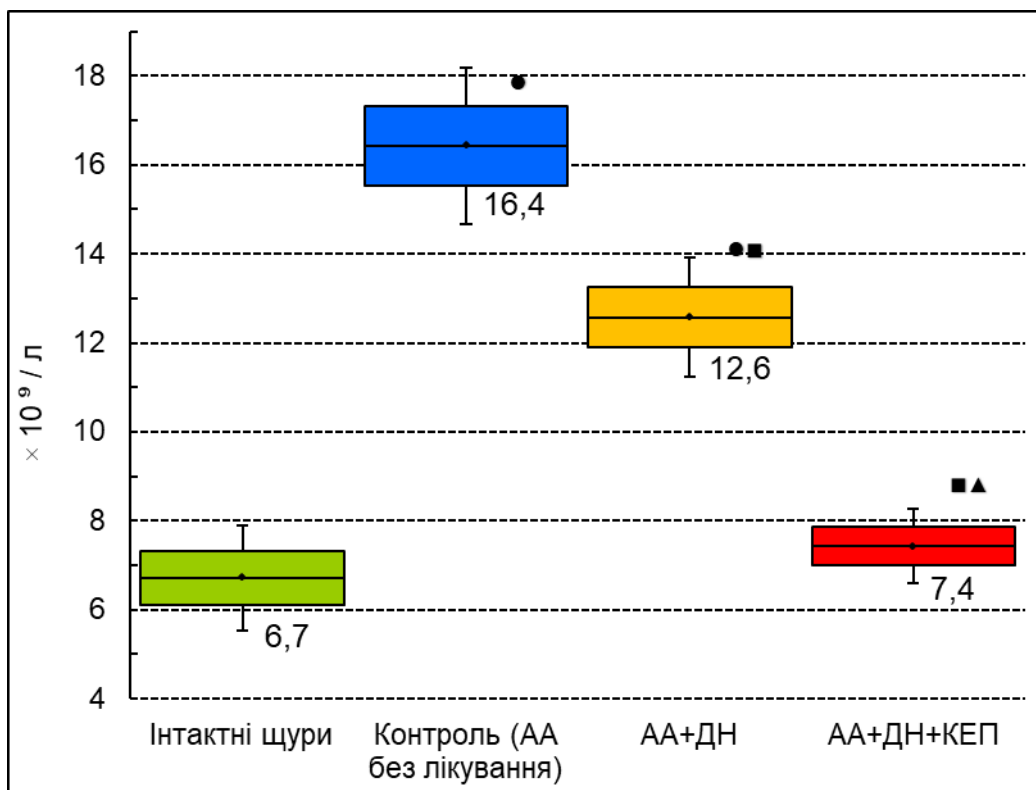


Рис. 42 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на кількість лейкоцитів в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, лікованих ДН.

Оцінка змін з боку лейкоцитарної формули показала, що на тлі розвитку АА у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання долі гранулоцитів у 2,1 рази та пропорційне зниження кількості лімфоцитів ($p < 0,001$) в 1,6 рази відносно показників інтактних щурів (табл. 39) [42].

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники лейкоцитарної формули периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту (М ± m (95 % ДІ), n = 28)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА +ДН	АА +ДН +КЕП
n	7	7	7	7
Гранулоцити, %	21,9±0,91 (95 % ДІ: 20,1–23,6)	46,4±1,04 (95 % ДІ: 44,4–48,5) p ₁₋₂ < 0,001	33,4±1,80 (95 % ДІ: 29,9–37,0) p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001	24,1±1,81 (95 % ДІ: 20,6–27,7) p ₁₋₄ = 0,3 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,01
Лімфоцити, %	70,6±0,72 (95 % ДІ: 69,2–72,0)	43,6±1,13 (95 % ДІ: 41,4–45,8) p ₁₋₂ < 0,001	56,7±1,19 (95 % ДІ: 54,4–59,0) p ₁₋₃ < 0,001 p ₂₋₃ < 0,001	63,9±0,91 (95 % ДІ: 62,1–65,6) p ₁₋₄ < 0,001 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,001
Моноцити, %	7,6±0,65 (95 % ДІ: 6,3–8,8)	10,0±1,41 (95 % ДІ: 7,2–12,8) p ₁₋₂ = 0,14	9,9±2,29 (95 % ДІ: 5,4–14,4) p ₁₋₃ = 0,36 p ₂₋₃ = 0,96	12,0±1,65 (95 % ДІ: 8,8–15,2) p ₁₋₄ = 0,03 p ₂₋₄ = 0,38 p ₃₋₄ = 0,46

Примітки:

- Індексом 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
- p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Застосування ДН та комбіновано нарізно ДН з КЕП призводило до відновлення пропорційності лейкоцитарної формули – на тлі комбінованого застосування ДН та КЕП долі гранулоцитів практично співставлялась з показниками інтактних тварин та становили відповідно 24,1 ± 1,8 % та 21,9 ± 0,9 % (див. табл. 39).

Оцінка вмісту еритроцитів та гемоглобіну показала, що розвиток АА у щурів супроводжується статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням вмісту гемоглобіну на 14,7 % щодо показників інтактних щурів і склало відповідно $121,0 \pm 3,08$ г/л, а також зниженням кількості еритроцитів на 28,8 %.

Монотерапія ДН призвела до статистично вірогідного збільшення рівня гемоглобіну ($p < 0,01$) на 8,6 %, а також збільшення кількості еритроцитів ($p = 0,01$) на 19,3 % щодо показників тварин контрольної групи.

Комбіноване застосування ДН і КЕП призвело до повного нівелювання ознак анемії хронічного запалення – рівень гемоглобіну та еритроцитів статистично вірогідно ($p < 0,001$) збільшився на 17,6 % і 36,8 % відповідно щодо показників щурів з АА без лікування (табл. 40).

Виявлені зміни узгоджуються з даним літератури, що анемія при РА вважається симптомом основного запального захворювання [22, 23, 160, 225]. Хоча запалення відіграє домінуючу роль в патогенезі цього виду анемії, участь в її розвитку можуть брати й інші чинники, такі як хронічна втрата крові з виразкових дефектів СО, викликаних прийомом НПЗЗ. Відповідно, поширеність анемії безпосередньо пов'язана з тяжкістю основного захворювання і тривалістю прийому нестероїдних препаратів [224].

Результати ряду досліджень показали, що розвиток анемії при РА може бути пов'язано зі здатністю прозапальних цитокінів порушувати утворення еритроцитів [224]. Одним з механізмів цього може бути перерозподіл заліза – зниження кількості Fe^{2+} , необхідного для синтезу гему в сироватці крові при достатньому його вмісті в депо. Під впливом прозапальних цитокінів – ІЛ1 і ФНП- α відбувається надмірна активація сидерофагів, при якій посилюється фагоцитоз і блокується їх здатність передачі заліза в еритроблестах [160, 225, 224]. ІЛ6 є основним індуктором синтезу гепсидину, що є негативним регулятором як вивільнення заліза з макрофагів, так і всмоктування заліза в тонкій кишці.

Таким чином проблема хронічного запалення – це надпродукція гепсидину, який порушує нормальний метаболізм заліза, що в кінцевому підсумку призводить до розвитку анемії [22, 23, 224].

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень гемоглобіну та кількість еритроцитів і тромбоцитів периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту (M ± m (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ]; n = 28)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА +ДН	АА +ДН +КЕП
n	7	7	7	7
Гемоглобін, г/л	141,9±2,23 (95 % ДІ: 137,5–146,2)	121,0±3,08 (95 % ДІ: 126,1–136,8) p ₁₋₂ < 0,001	131,4±2,72 (95 % ДІ: 126,1–136,8) p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ = 0,03	142,3±3,75 (95 % ДІ: 134,9–149,6) p ₁₋₄ = 0,9 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ = 0,04
Еритроцити, ×10 ¹² /л	8,0 [5,5–9,1]	5,7 [4,9–6,2] p ₁₋₂ = 0,07	6,8 [6,3–7,1] p ₁₋₃ = 0,3 p ₂₋₃ = 0,01	7,8 [7,6–8,5] p ₁₋₄ = 0,4 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,001
Тромбоцити, ×10 ⁹ /л	178 [175–179]	189 [188–191] p ₁₋₂ < 0,001	180 [179–182] p ₁₋₃ = 0,06 p ₂₋₃ < 0,01	173 [171–175] p ₁₋₄ = 0,048 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,01

Примітки:

- Індексми 1, 2, 3 вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
- p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Біохімічні дослідження периферичної крові щурів з АА (контрольна група) показало статистично вірогідне (p < 0,001) збільшення вмісту МДА на 53,7 % щодо показників інтактних тварин (рис. 43), що вказує на активацію ПОЛ, що ймовірно обумовлено розвитком системного запального процесу.

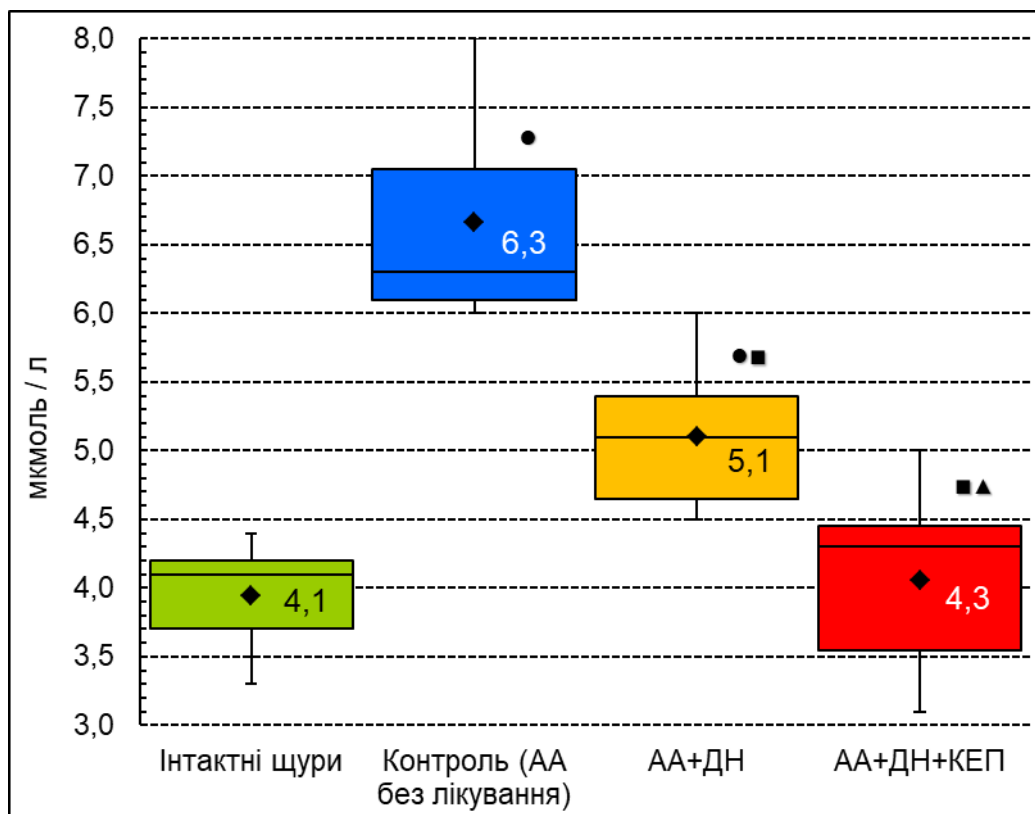


Рис. 43 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень МДА в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ◆ – середнє значення;
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
7. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА лікованих ДН.

Як відомо продукти ПОЛ сприяють агрегації тромбоцитів, зменшенню синтезу ПГ з антикоагулянтною дією, формуванню синдрому цитолізу, виходу факторів згортання крові та пригніченню поділу та регенерації клітин [67]. МДА виступає ендогенним альдегідом, який є клініко-лабораторним маркером оксидативного стресу та широко застосовується для контролю ефективності лікування цілого ряду захворювань – РА, остеоартриту, ішемічної хвороби серця та ін. [100].

Монотерапія ДН щурів з АА привела до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження рівня МДА на 19,0 % щодо показників тварин

контрольної групи в аналогічні терміни дослідження. Комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжувалося більш виразним зниженням інтенсивності процесів ПОЛ на що вказувало зменшення вмісту МДА у щурів з АА на 31,7 % щодо показників щурів з АА без лікування, що в 1,7 разів перевищувало аналогічно спрямовані зміни на тлі застосування тільки ДН.

Слід зазначити, що у тварин з АА, яким вводили ДН та КЕП рівень МДА на 28 день експерименту практично зіставлявся з показниками інтактних щурів і становив 4,3 [3,6; 4,5] мкмоль/л (див. рис. 43), що вказує на нівелювання ознак АА-індукованого оксидативного стресу та може розцінюватися як один з механізмів лікувальної дії досліджуваних препаратів.

Встановлена активація ПОЛ у щурів на тлі розвитку АА узгоджувалася з паралельним виснаженням АОС на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження рівня СОД на 27,9% щодо показників інтактних тварин (рис. 44).

Як відомо, СОД спільно з іншими ферментами АОС (каталаза, церулоплазмін, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза та ін.) Виступають невід'ємним компонентом ПОЛ-АОС. Оцінка функціонального стану АОС визначає рівень компенсаторної та адаптивної відповіді організму в умовах можливого розвитку ОС.

Моноterapia ДН щурів з АА привела до статистично вірогідного ($p = 0,03$) підвищення рівня СОД на 20,4 % щодо показників нелікованих тварин (II група), проте дане значення (59,0 % інгібування окислення кверцетину) все ж на 13,2 % було нижче показників тварин без АА (68,0 [64,0; 76,5] %).

На тлі комбінованого застосування ДН та КЕП нами відзначено статистично вірогідне ($p = 0,01$) підвищення рівня СОД на 30,6 % щодо значень у щурів контрольної групи, що лише на 5,9 % було нижче показників інтактних щурів і вказувало на найбільш виражене відновлення активності АОС.

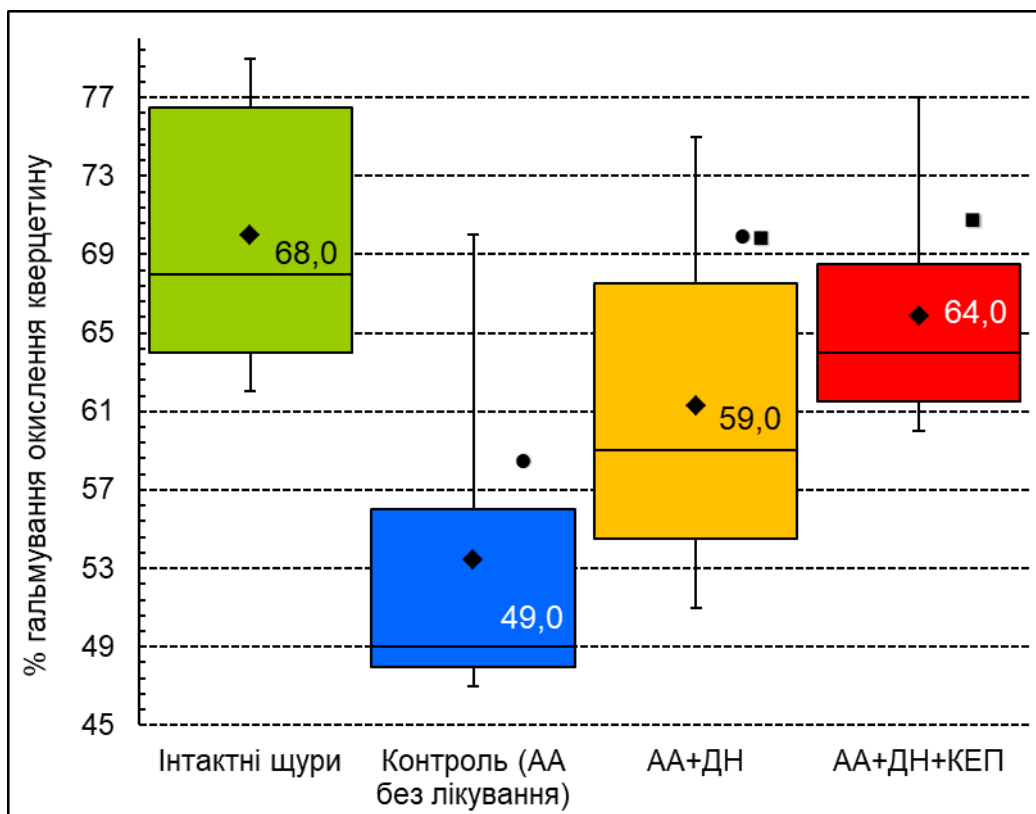


Рис. 44 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень СОД в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування.

Для оцінки стану сполучнотканинних структур у щурів на тлі розвитку АА нами досліджувався рівень серомукоїду, оскільки саме ця група глікопротеїнів надходить в плазму крові при руйнуванні, деградації або пошкодженні сполучної тканини. Крім того, серомукоїди прийнято розглядати як гострофазні маркери запалення, які можуть слугувати індикатором вираженості запального процесу оскільки їх період життя становить близько 5 днів [183].

Встановлено, що на 28 день експерименту у щурів з АА відзначено статистично вірогідне ($p < 0,001$) зростання рівня серомукоїду в 2,2 рази відносно показників інтактних щурів (рис. 45).

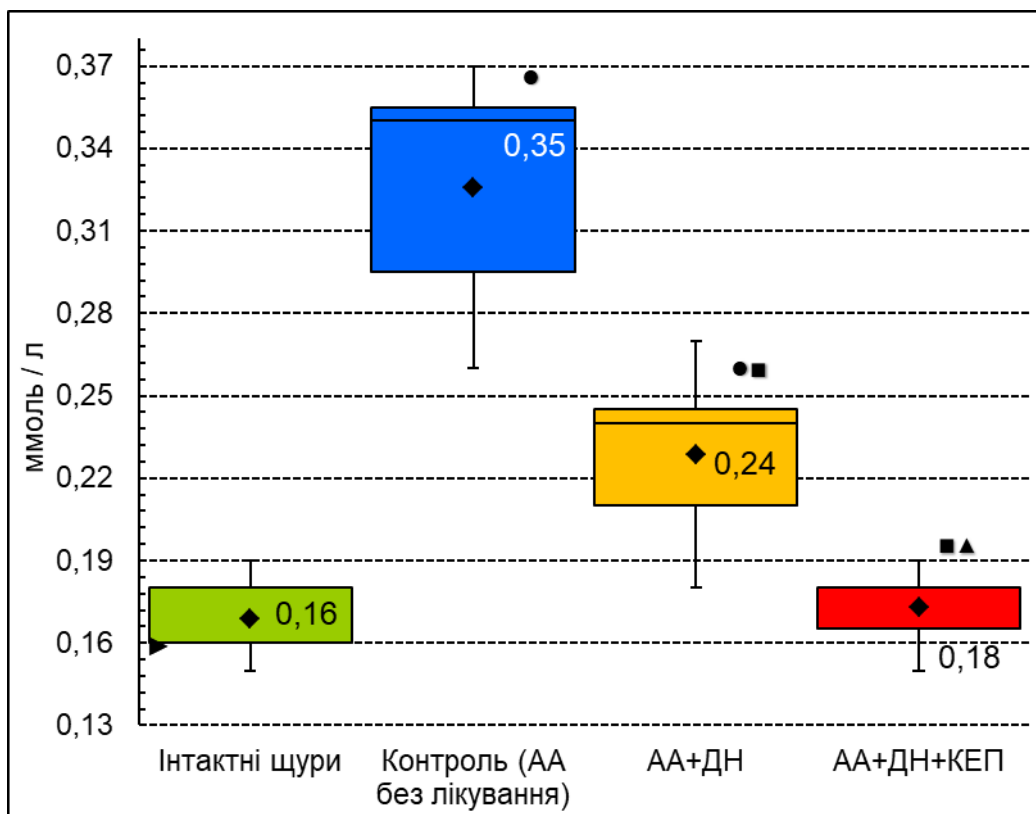


Рис. 45 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень серомукоїду в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана (▶ – медіана дорівнює 25 (75) перцентилю).
4. ◆ – середнє значення;
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
7. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, лікованих ДН.

Монотерапія ДН щурів з АА привела до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження рівня досліджуваного показника на 31,4 % відносно рівня нелікованих тварин. Комбіноване застосування ДН та КЕП призвело до статистично вірогідного ($p < 0,01$) ще більшого зниження вмісту серомукоїду на 17,1 % щодо показників щурів групи монотерапії ДН, який склав відповідно 0,18 [0,17; 0,18] ммоль/л [183].

«Золотим» маркером запалення практично при всіх патологічних процесах за правом прийнято вважати С-РБ, оскільки він має тенденцію значно підвищуватися при пошкодженнях тканин, інфекціях бактеріальної або вірусної природи, запаленні та

злякисних новоутвореннях, а при некрозі тканин і зовсім може протягом доби зростати до 300 мг/л [67].

Встановлено, що розвиток експериментального РА у щурів призвів до статистично вірогідного ($p < 0,001$) збільшення рівня С-РБ в 4,5 рази відносно показників інтактних тварин (рис. 45).

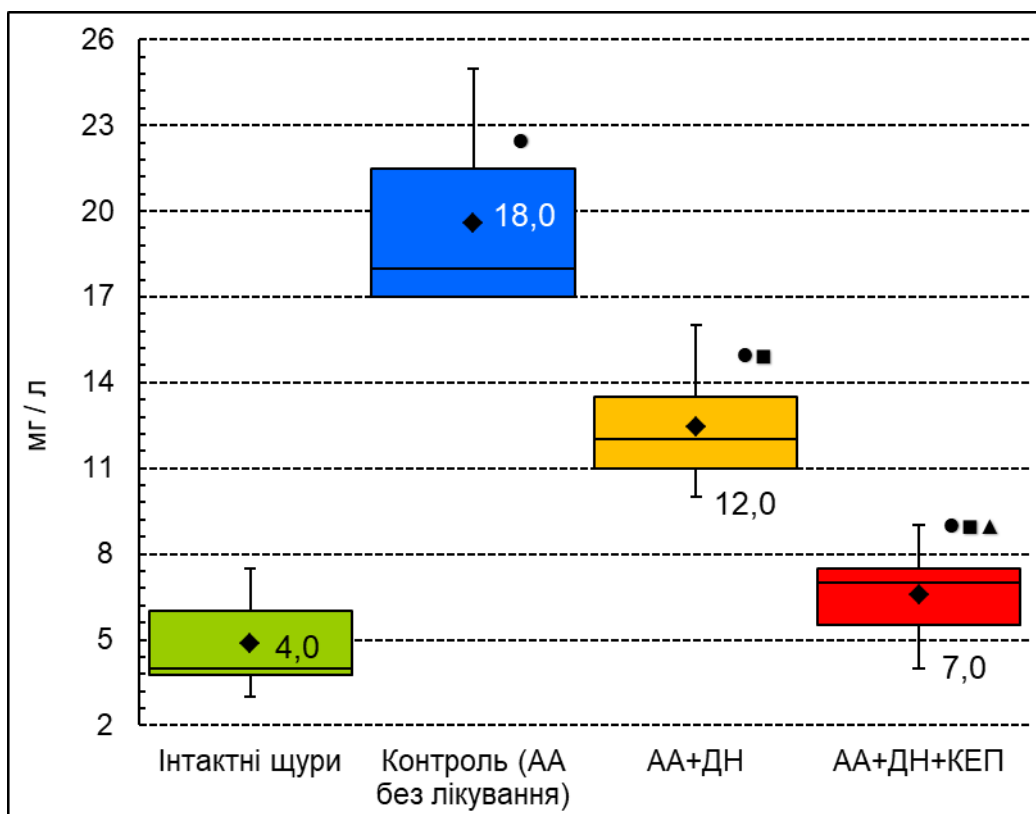


Рис. 46 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень С-РБ в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилію, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ◆ – середнє значення;
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
7. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА лікованих ДН.

На тлі монотерапії ДН даний показник знизився на 33,3 %, а на тлі комбінованого введення ДН та КЕП – знизився на 61,1 % щодо значень у щурів з АА без лікування. Отримані дані вказують на виражені протизапальні властивості ДН, які потенціюються при

спільному застосуванні з КЕП, проте можуть бути пов'язані і з власною ПЗА КЕП [45, 47].

Встановлені біохімічні ознаки активного запального процесу та розвитку при цьому дисбалансу в системі ПОЛ-АОС обґрунтовує доцільність детального аналізу активності маркерів цитолізу на тлі лікування щурів з АА – АлАТ, АсАТ та ГГТПі(табл. 41).

Таблиця 41

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на маркери цитолізу в периферичній крові щурів з АА на 28 добу експерименту (M ± m (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], n = 28)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА +ДН	АА +ДН +КЕП
n	7	7	7	7
АлАТ, мкмоль/мл/год	1,4 [1,3; 1,6]	1,8 [1,6; 1,9] p ₁₋₂ = 0,01	2,2 [2,1; 2,3] p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ = 0,01	1,5 [1,5; 1,6] p ₁₋₄ =0,17 p ₂₋₄ = 0,02 p ₃₋₄ < 0,01
АсАТ, мкмоль/мл/год	2,3 [2,1; 2,4]	2,9 [2,9; 3,5] p ₁₋₂ < 0,001	3,5 [3,3; 2,4] p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ = 0,2	2,4 [2,3; 2,5] p ₁₋₄ = 0,14 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,01
ГГТП, Од/л	22,3±1,81 (95 % ДІ: 18,7–25,8)	36,1±0,80 (95 % ДІ: 34,6–37,7) p ₁₋₂ < 0,001	27,9±1,30 (95 % ДІ: 25,3–30,4) p ₁₋₃ = 0,03 p ₂₋₃ < 0,001	23,9±1,10 (95 % ДІ: 21,7–26,0) p ₁₋₄ = 0,5 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ = 0,04

Примітки:

1. Індексами _{1, 2, 3} вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
2. p₂₋₁ – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Дослідження показало, що розвиток АА у щурів супроводжувалося збільшенням вмісту АлАТ на 28,6 % (p = 0,01),

АсАТ на 26,1 % ($p < 0,001$) та ГГТП на 62,2 % ($p < 0,001$) відносно показників інтактних щурів (див. табл. 41).

Згідно з літературними даними [57, 67], амінотрансферази є складними білками-ферментами, які каталізують процеси трансамінування та забезпечуючи синтез окремих амінокислот в організмі.

Оскільки маркер пошкодження клітинних – ГГТП найбільшою мірою міститься в нирках, печінці та тонкій кишці то можна припустити про наявність запального процесу в зазначених органах, що зіставляється з даними літератури про системність запального процесу при РА, аналогом якого є АА у тварин [111].

Застосування ДН призвело до посилення цитолітичних процесів, на що вказувало ще більше зростання досліджуваних маркерів в периферичній крові – так АлАТ був вище на 22,2 % ($p < 0,01$), а АсАТ – на 20,7 % ($p = 0,2$) щодо показників щурів з АА без лікування, що на 57,1 % ($p < 0,01$) та 52,2 % ($p < 0,01$) відповідно перевищувало показники інтактних тварин (див. табл. 41). Зазначені зміни з боку активності амінотрансфераз узгоджуються з даними про гепатотоксичну дію ДН [110, 113, 181, 193].

Також встановлено, що на тлі застосування ДН ГГТП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилась на 22,9 % щодо показників тварин контрольної групи (див. табл. 41).

Особливу увагу привертають показники цитолітичних процесів у щурів з АА на тлі комбінованого застосування ДН та КЕП (див. табл. 41). Так, встановлено, що рівень АлАТ статистично вірогідно ($p < 0,01$) був нижче на 38,9 %, а рівень АсАТ – нижче ($p < 0,01$) на 37,9 % щодо показників тварин, яким вводили ДН, що відповідно на 16,7 % ($p = 0,02$) та 17,2 % ($p < 0,001$) було нижче показників щурів контрольної групи з нелікованим АА. Встановлені зміни з боку амінотрансфераз вказують на здатність КЕП нівелювати не тільки АА-індукований цитолітичний синдром, але й ДН-індукований, що вказує на універсальність його цитопротекторної активності, ймовірно, зумовленої його здатність стабілізувати клітинні мембрани, а також його антиоксидантними властивостями [45].

Крім того встановлено, що комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжувалось також статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням рівня ГГТП на 28,6 % відносно нелікованих щурів з АА та на 11,4% була нижчою ($p = 0,01$) ніж у щурів, яких лікували тільки ДН (див. табл. 41).

Оцінка рівня ЛФ в периферичній крові у щурів з АА показала, що розвиток системного аутоімунного запалення супроводжувалося статистично вірогідним ($p < 0,001$) підвищенням вказаного металопротеїну на 77,3 % щодо показників інтактних щурів та становив 390 [335; 405] мкмоль/год. \times л (рис. 47).

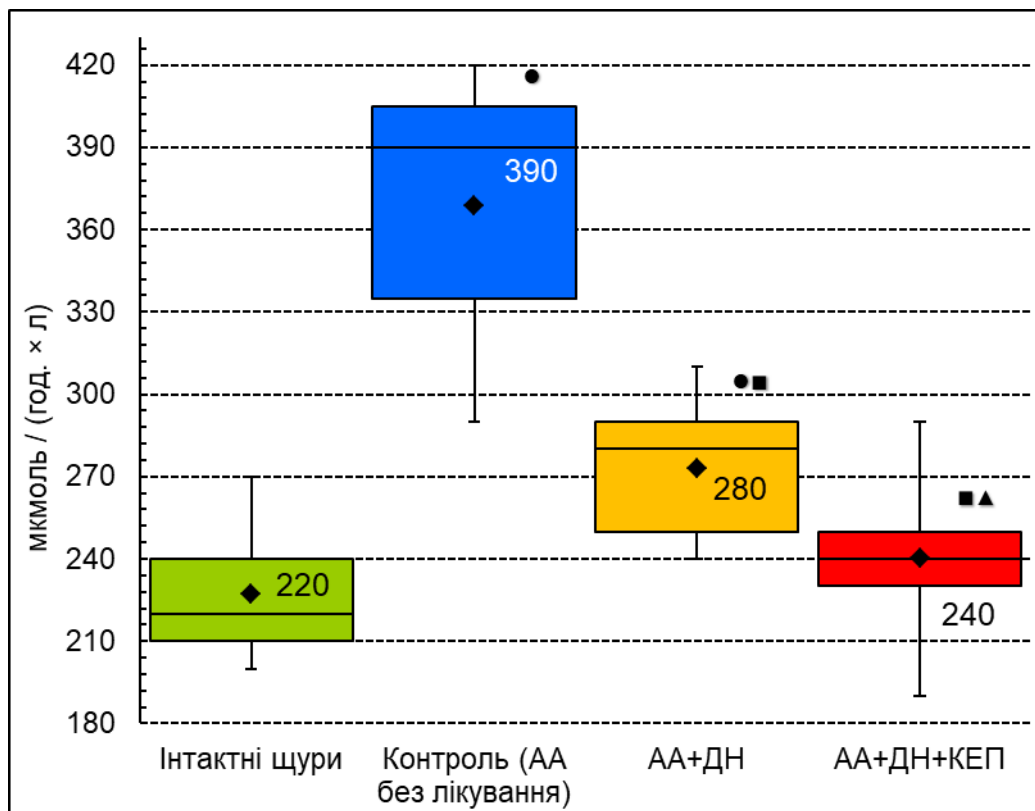


Рис. 47. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на активність ЛФ в сироватці крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин ненормальний.
2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилю, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана.
4. ◆ – середнє значення;
5. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
6. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
7. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, лікованих ДН.

Вивчення білкового спектра крові щурів з АА показало, що рівень ЗБ практично не мав відмінностей у інтактних щурів і щурів з АА (табл. 42).

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники білкового гомеостазу в периферичній крові щурів з АА на 28 добу експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n = 28$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА +ДН	АА +ДН +КЕП
n	7	7	7	7
ЗБ, г/л	78,9±1,45 (95 % ДІ: 76,0–81,7)	74,6±1,36 (95 % ДІ: 71,9–77,2) $p_{1-2} = 0,05$	74,7±0,92 (95 % ДІ: 72,9–76,5) $p_{1-3} = 0,03$ $p_{2-3} = 0,9$	81,0±1,50 (95 % ДІ: 78,1–83,9) $p_{1-4} = 0,3$ $p_{2-4} = 0,01$ $p_{3-4} < 0,01$
Альбуміни, г/л	35,3±1,69 (95 % ДІ: 32,0–38,6)	25,1±1,03 (95 % ДІ: 23,1–27,2) $p_{1-2} < 0,001$	27,9±1,30 (95 % ДІ: 25,3–30,4) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} = 0,1$	37,4±1,90 (95 % ДІ: 33,7–41,2) $p_{1-4} = 0,01$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$
Глобуліни, г/л	45,7±1,54 (95 % ДІ: 42,7–48,7)	49,6±1,29 (95 % ДІ: 47,0–52,1) $p_{1-2} = 0,08$	46,7±1,19 (95 % ДІ: 44,4–49,0) $p_{1-3} = 0,6$ $p_{2-3} = 0,1$	40,4±0,65 (95 % ДІ: 39,2–41,7) $p_{1-4} < 0,01$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
Співвідношення «альбуміни / глобуліни»	0,78±0,039 (95 % ДІ: 0,70–0,85)	0,51±0,028 (95 % ДІ: 0,46–0,57) $p_{1-2} < 0,001$	0,60±0,035 (95 % ДІ: 0,53–0,67) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} = 0,07$	0,93±0,045 (95 % ДІ: 0,84–1,02) $p_{1-4} = 0,03$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки:

- Індексом i, j вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
- p_{i-j} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Вивчення змісту окремих білкових фракцій показало, що розвиток АА у щурів супроводжувалося статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням вмісту альбумінів на 28,7 % щодо показників інтактних щурів. Альбуміни – найбільш гомогенна фракція протеїнів, основною функцією яких є підтримка колоїдно-осмотичного тиску, а також транспорт вуглеводів, ліпідів, гормонів та пігментів. Організм пацієнта з активним РА більш активно споживає альбуміни в місці запалення, в результаті чого розвивається гіпоальбумінемія.

Крім того зазначено, що у щурів з АА незначно зростав вміст глобулінів на 8,4 % ($p = 0,04$) щодо показників інтактних тварин. Як відомо, при тривалому підгострому запальному прогресуючому процесі спостерігається, головним чином, гіпергамаглобулінемія, що пов'язано зі зростанням рівня аутоантитіл [81].

Зазначені зміни приводили до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження значення альбумін/глобулінового співвідношення периферичної крові на 34,2 % щодо показників інтактних тварин (див. табл. 42). Зміна співвідношення протеїнових фракцій, як правило, відповідає тяжкості РА та відображає динаміку запального процесу [67].

Монотерапія ДН призвела до статистично вірогідного ($p = 0,04$) зниження значення альбумін / глобулінового співвідношення на 17,5 % відносно щурів з АА без лікування. Комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжувалося підвищенням ($p = 0,01$) досліджуваного співвідношення на 19,5 % вище ніж у інтактних тварин, що обумовлено зростанням рівня альбумінів практично до рівня інтактних тварин та в той же час зниження на 11,6 % ($p < 0,01$) вмісту глобулінів нижче за показники інтактних щурів (див. табл. 42).

Важливу роль в життєдіяльності клітини відіграють ліпіди, які виступають структурними компонентами біомембран, енергетичним субстратом клітини, які беруть участь в реакціях сигнальної трансдукції, екзо- і ендоцитозу та ін. Крім того, вони беруть участь у фіксації білків фосфоліпідного бішару та забезпечують їх відповідну орієнтацію в клітинній мембрані, є неполярним середовищем для жиророзчинних субстратів та кофакторів ферментів, зумовлюють їх фолдинг, а також виконують роль регуляторів та модуляторів ферментативної активності [67].

Дослідження показало, що у щурів на тлі розвитку АА відзначається статистично вірогідне ($p = 0,02$) зниження частки фосфоліпідів в пулі загальних ліпідів на 25,0 %, що відбувалося на тлі зростання загального рівня ліпідів ($p < 0,001$) в 1,7 рази і

непропорційного зростання вмісту фосфоліпідів ($p < 0,001$) в 1,2 рази, що зумовлено активацією ЦОГ-опосередкованого шляху метаболізму мембранних фосфоліпідів (табл. 43). Комбіноване застосування ДН та КЕП призводило до повного нівелювання вказаних змін.

Таблиця 43

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники ліпідного гомеостазу в периферичній крові щурів з АА на 28 добу експерименту ($M \pm m$ (95 % ДІ) або Me [LQ; UQ], $n = 28$)

Досліджуваний показник, одиниці вимірювання	Умови експерименту			
	I група	II група	III група	IV група
	Інтактні щури	Контроль (АА без лікування)	АА +ДН	АА +ДН +КЕП
n	7	7	7	7
Загальні ліпіди, г/л	3,0 [2,7–3,3]	5,1 [4,5–5,2] $p_{1-2} < 0,001$	4,4 [4,2–4,5] $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} = 0,07$	3,3 [3,2–3,4] $p_{1-4} = 0,1$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$
Фосфоліпіди, г/л	2,1±0,05 (95 % ДІ: 2,0–2,2)	2,5±0,09 (95 % ДІ: 2,3–2,7) $p_{1-2} < 0,001$	2,0±0,05 (95 % ДІ: 1,9–2,1) $p_{1-3} = 0,6$ $p_{2-3} < 0,001$	2,1±0,05 (95 % ДІ: 2,0–2,2) $p_{1-4} = 0,5$ $p_{2-4} < 0,01$ $p_{3-4} = 0,2$
Фосфоліпіди відносно загальних ліпідів, %	70,9±5,35 (95 % ДІ: 60,4–81,4)	53,2±3,60 (95 % ДІ: 46,2–60,3) $p_{1-2} = 0,02$	46,9±1,80 (95 % ДІ: 43,3–50,4) $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} = 0,1$	65,2±2,47 (95 % ДІ: 60,3–70,0) $p_{1-4} = 0,4$ $p_{2-4} = 0,02$ $p_{3-4} < 0,001$

Примітки:

1. Індексами $1, 2, 3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Дослідження гомогенатів СОШ показало, що на 28 день експерименту у щурів з АА в СОШ відмічалось статистично вірогідне зниження ($p < 0,01$) рівня ЗБ на 14,1 % (рис. 48) та зниження ($p < 0,05$) вмісту РНК та ДНК на 27,5 % та 14,3 % відповідно (рис. 49, рис. 50) відносно показників інтактних тварин.

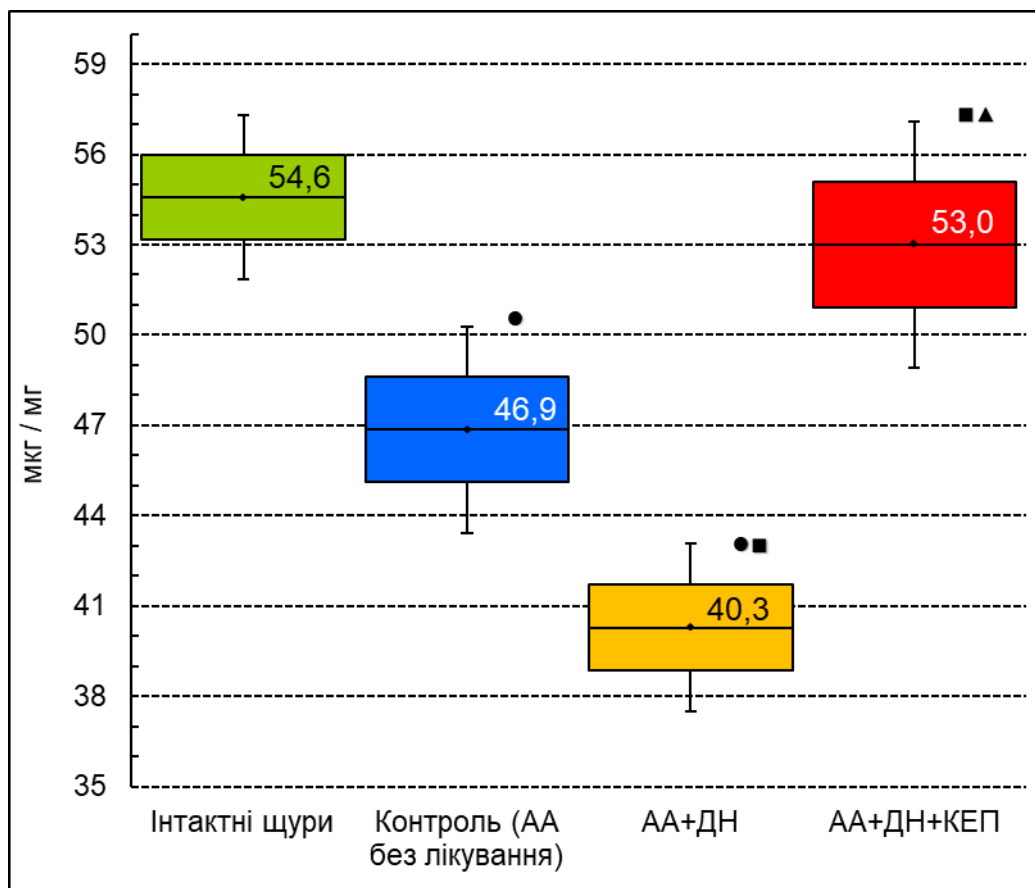


Рис. 48 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст загального білка в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, лікованих ДН.

На тлі монотерапії ДН відмічено ще більше зниження ($p < 0,001$) рівня ЗБ на 26,2 % ($40,3 \pm 1,43$ мкг/мг) щодо показників інтактних тварин ($54,6 \pm 1,39$ мкг/мг). Вміст РНК та ДНК в гомогенаті СОШ у щурів з АА на тлі застосування ДН на 28 день становив $0,59 \pm 0,57$ мкг/мл та $2,21 \pm 0,27$ мкг/мл відповідно.

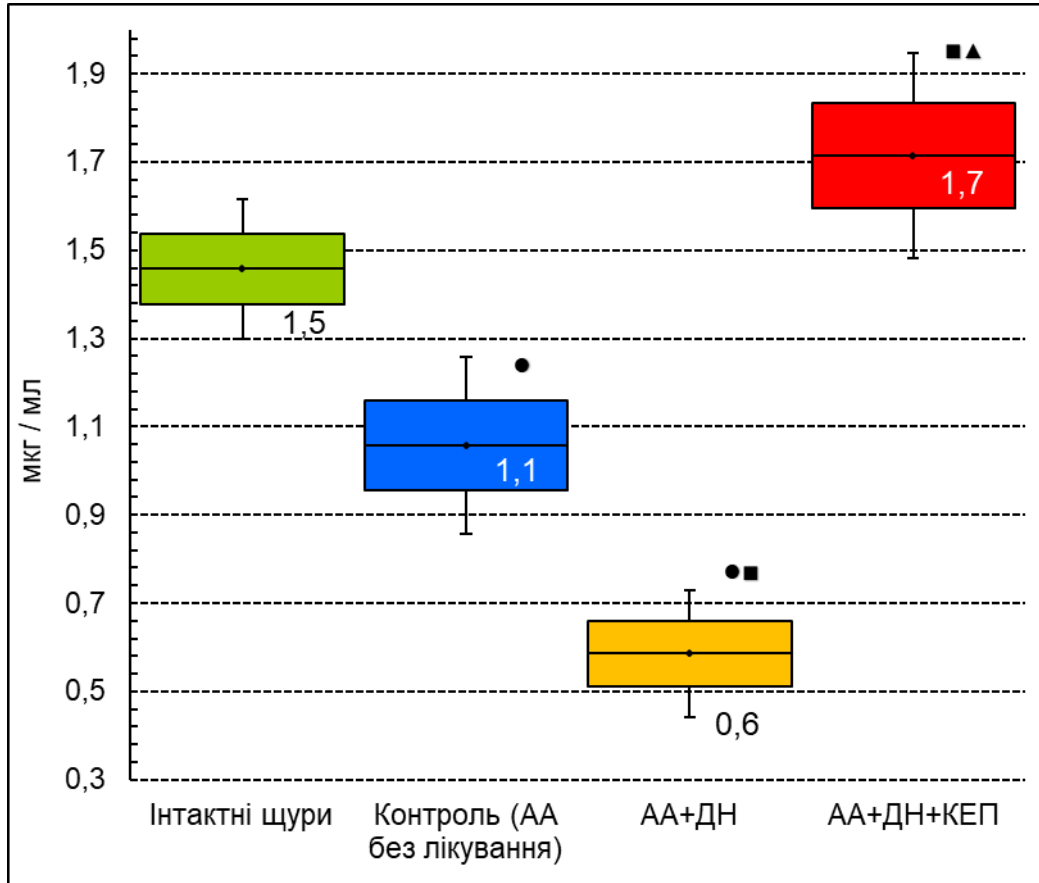


Рис. 49 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст РНК в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, лікованих ДН.

На тлі комбінованого застосування ДН та КЕП у щурів з АА в гомогенаті СОШ на 28 день експерименту відмічено співставні з рівнем інтактних тварин показники ЗБ та ДНК. Так, рівень ЗБ становив $53,0 \pm 2,09$ мкг/мг, що лише на 2,9 % було нижче за показники інтактних тварин ($54,6 \pm 1,39$ мкг/мг), а вміст ДНК на 5,1 % ($p = 0,3$) був нижчим за показники інтактних тварин ($3,1 \pm 0,12$ мкг/мл) та становив відповідно $2,94 \pm 0,08$ мкг/мл.

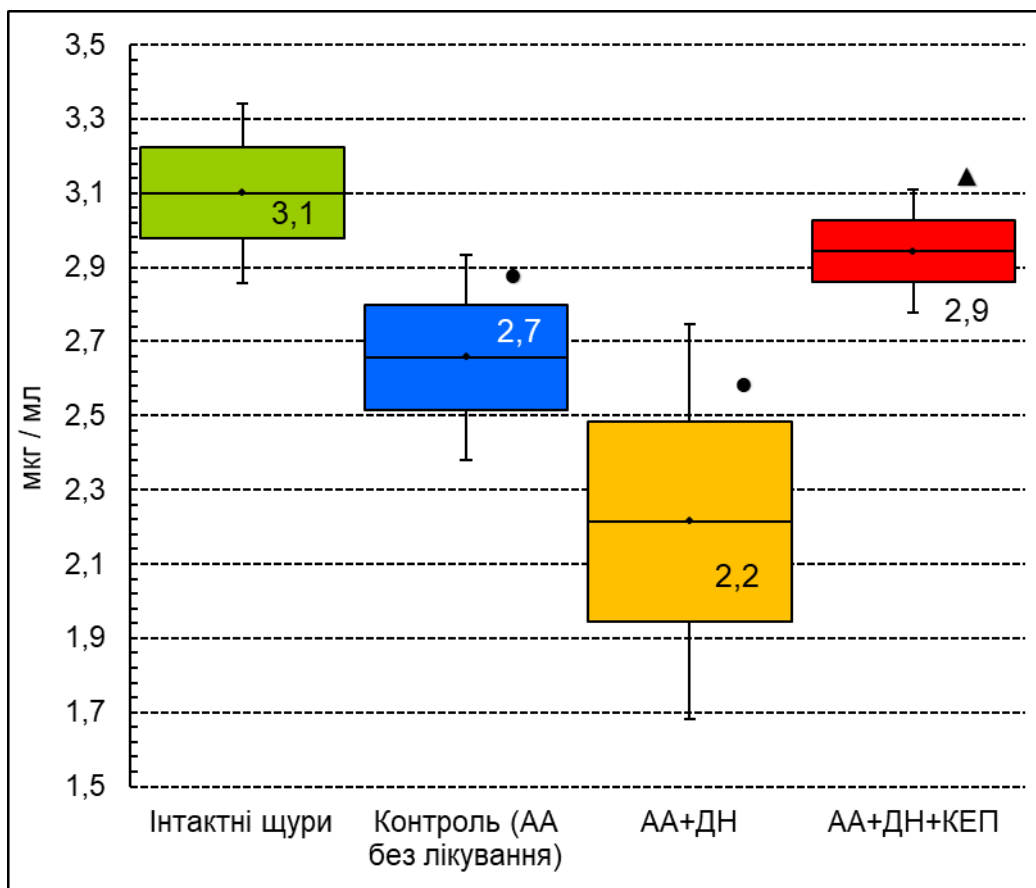


Рис. 50 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст ДНК в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки:

1. Розподіл величин кожної групи вибіркової сукупності нормальний.
2. Бокси включають значення стандартної похибки середнього арифметичного, вертикальні лінії за межами боксів – 95 % довірчий інтервал.
3. Горизонтальна лінія всередині боксу – середнє арифметичне значення.
4. ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів;
5. ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування;
6. ▲ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА, лікованих ДН.

5.3 ОЦІНКА ВПЛИВУ ДН ТА КЕП ЗА ЇХ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ НА МОРФОСТРУКТУРНИЙ СТАН СОШ ЩУРІВ З АА ЗА ДАНИМИ ПАТОМОРФОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Патоморфологічні та імуногістохімічні дослідження

Для оцінки морфологічних змін фрагменти шлунка фіксували в 10,0 % розчині нейтрального формаліну. Гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином, а також реактивом Шиффа (фуксинсірчана кислота) з йодною кислотою (H_5IO_6) – ШИК-реакція (PAS-reaction – Periodic Acid Schiff reaction) з альціановим синім [2]. ШИК-реакція дозволяє виявити наявність нейтральних глікопротеїнів, полісахаридів, деяких мукополісахаридів та гліколіпідів, забарвлюючи їх у рожевий колір. В той же час альціановий синій забарвлює кислі мукополісахариди та кислий слиз у синій колір. Таким чином забарвлення ШИК-реакцією з альціановим синім забезпечує одночасну ідентифікацію нейтральних та кислих мукополісахаридів секрету СО.

Патоморфологічне дослідження шлунка інтактних щурів показало, що СО залозистої частини мала звичайну структуру. СО фундального, кардіального та пілоричного відділів була вкрита одношаровим циліндричним епітелієм з ШИК-забарвленим секретом в апікальному відділі клітин.

У власній пластинці СО розташовувались власні залози шлунка, які відокремлювались одна від одної тонкими прошарками пухкої сполучної тканини (рис. 51). ШИК-позитивні епітеліоцити переважали в ділянці ямок й меншою мірою знаходились в ділянці валиків СОШ. Шийкові мукоцити однорідно забарвлювались гематоксиліном та еозином у світло-рожевий колір цитоплазми та мали сплюснене базофільне ядро. Позитивна ШИК-реакція в ділянці шийки залоз вказувала на наявність значної кількості муцинів, які як відомо забезпечують захисну роль тканин шлунка від дії HCL та пепсину [192, 223].

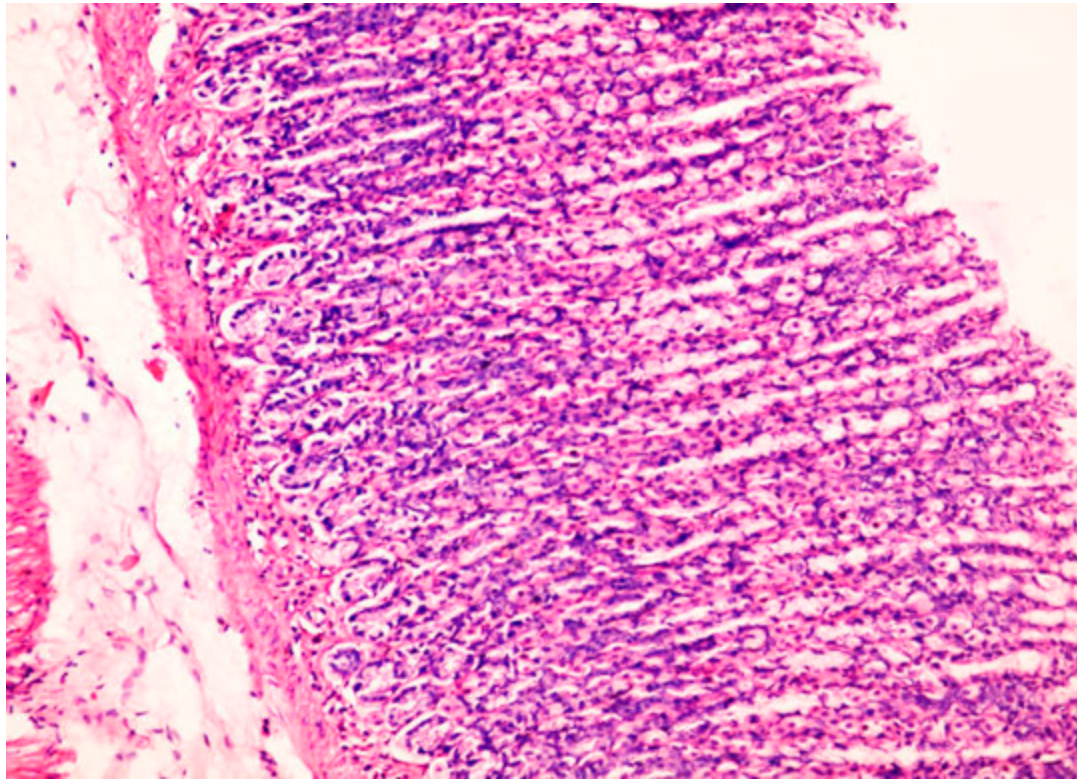


Рис. 51 Незмінена гістологічна структура СОШ щура. Група I (інтактні щури), 28 день. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$

Пристінкові клітини розташовувались у ділянці шийки залоз мали оксифільне забарвлення гематоксиліном та еозином. У дні ямок СО переважали головні та парієтальні екзокриноцити, окремі з них містили кислі глікопротеїни, ідентифіковані при забарвленні альціановим синім. Головні екзокриноцити мали циліндричну або пірамідальну форму, цитоплазма в основі клітин мала переважно базофільне забарвлення гематоксиліном та еозином. Під поверхневим епітелієм чітко визначалась м'язова пластинка СО до якої щільно прилягали судини міроциркуляторного русла у підслизовому прошарку з глибше розташованими м'язовою та серозною оболонками шлунка [18].

У щурів з АА на 28 добу експерименту СО мала збережену структуру у всіх тварин. Ознак гіпер- чи гіпосекреції муцинів при забарвленні ШИК-реакцією з альціановим синім не виявлено. Відмічались вогнища десквамації поверхневого епітелію та поодинокі лімфоцити (рис. 52).

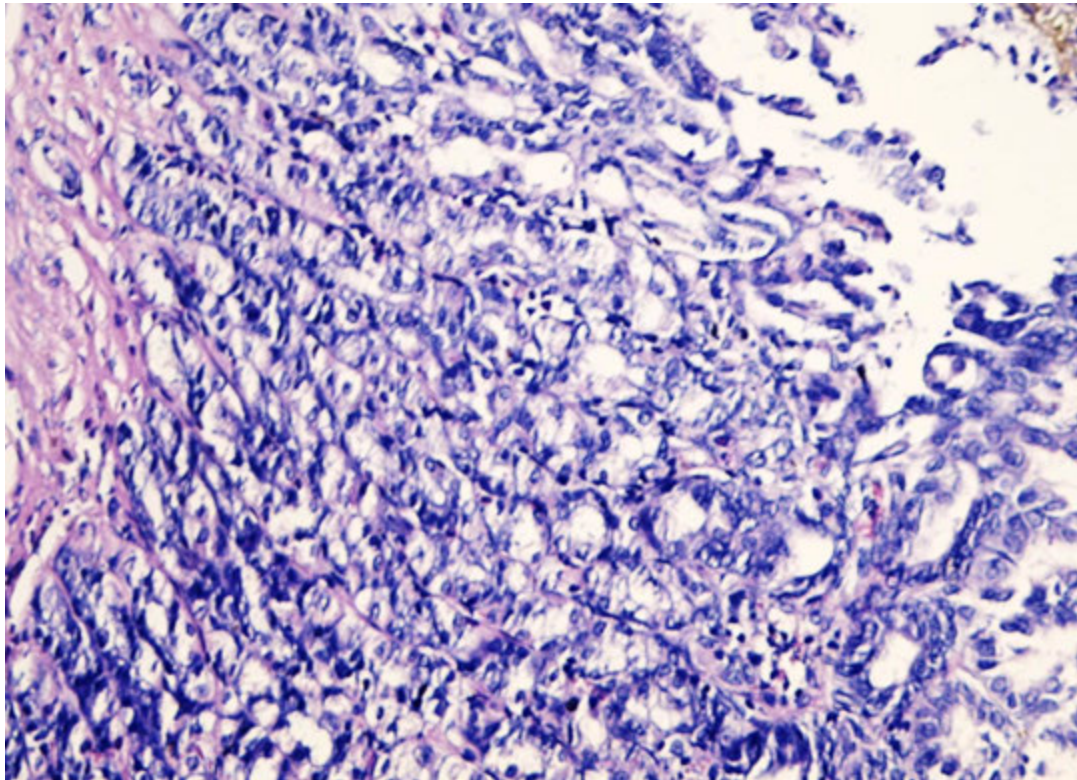


Рис. 52 Гістологічна структура СОШ щура з десквामованим епітелієм.
Група II (АА без лікування), 28 день.
Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$

Введення ДН впродовж 14 днів щурам з АА на 28 добу експерименту призвело до ознак ерозивних змін СО. Варто відзначити, що дослідження показало відсутність запальної інфільтрації по периферії ерозивних дефектів, що може виступати патогномонічною патоморфологічною ознакою ДН-індукованого ушкодження СО. У 28,6 % щурів виявлені глибокі ерозії та поодинокі виразкові дефекти, які за глибиною ураження сягали власної м'язової пластинки (рис. 53). Виразки мали клиноподібну форму з гострим кінцем, спрямованим до м'язової оболонки. Краї виразки були представлені ділянками фібриноїдного некрозу з шаром грануляційної тканини.

Забарвлення альціановим синім показало наявність незначної кількості мукополісахаридів з переважанням кислих глікопротеїнів. Оцінка кількості ШИК-позитивних клітин виявила значне їх зменшення в популяції шийкових мукоцитів порівняно з інтактними тваринами, що вказує на зниження вмісту нейтральних глікопротеїнів. Як поверхнево так і в глибині ямок виявлені поодинокі десквамовані епітеліоцити

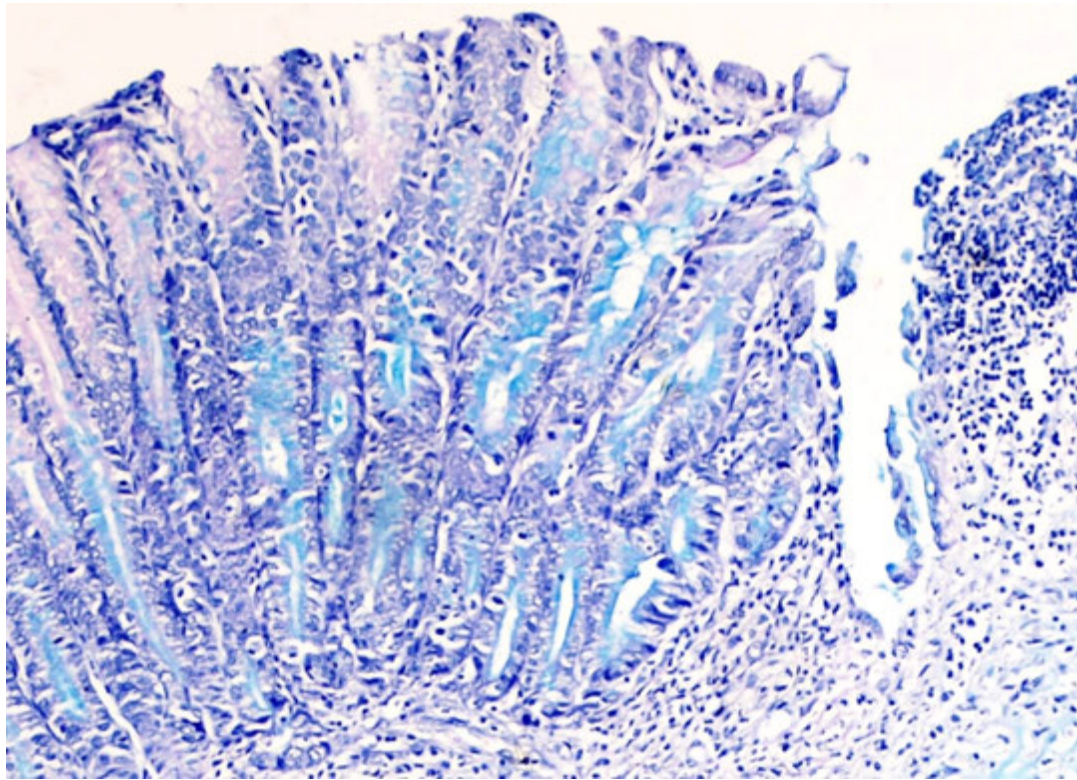


Рис. 53 Гостра виразка СОШ щура з клітинним детритом. Група ІІІ (АА+ДН), 28 день. Забарвлення гематоксином та еозином, $\times 200$

Забарвлення ШИК-реакцією продемонструвало глибину ушкодження поверхневих епітеліоцитів до рівня базальної мембрани. У підслизовому прошарку СО відмічена вогнищева лімфо-плазмоцитарна інфільтрація ексудатом з еозинофільними лейкоцитами, що узгоджувалось із виявленим повнокрів'ям судин гемомікроциркуляторного русла.

На тлі комбінованого застосування ДН та КЕП у щурів з АА на 28 добу експерименту у жодної тварини не виявлено значних порушень гістоархітекtonіки СОШ, окрім поодиноких вогнищ десквамації поверхневого епітелію. Особливу увагу привертає виявлена при забарвленні ШИК-реакцією з альціановим синім виразна секреція нейтральних глікопротеїнів (рис. 54).

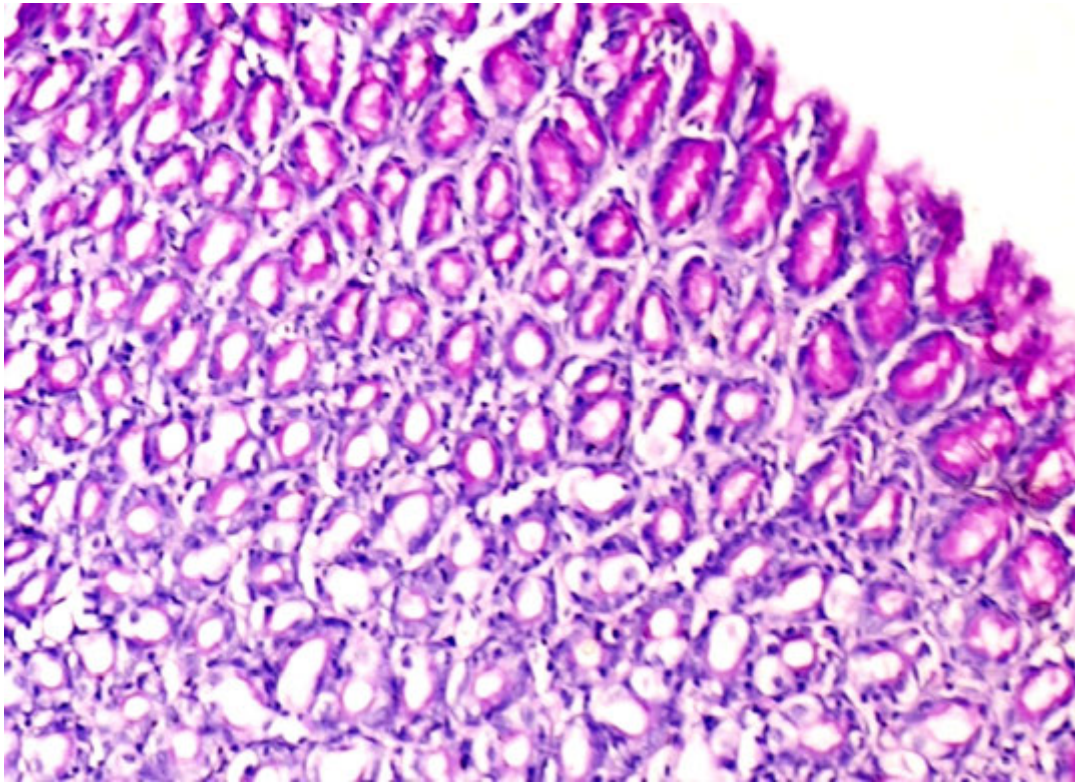


Рис. 54 Виразна секреція нейтральних глікопротеїнів поверхневими епітеліоцитами СОШ щура. Група IV (АА+ДН+КЕП), 28 день.
Комбінована ШИК-реакція та альціановий синій, $\times 200$

Виявлене відновлення порушеної ДН секреції муцинів покривно-ямковим епітелієм СО виступає одним з механізмів цитопротективної активності КЕП при ДН-індукованому ульцерогенезі.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Пошук шляхів послаблення ульцерогенної дії НПЗЗ є одним з провідних завдань сучасної медицини, зокрема гастроентерології та ревматології. До останнього часу побічна дія НПЗЗ досліджувалась переважно у верхніх відділах ШКТ – шлунку та дванадцятипалій кишці [86, 162]. На сьогоднішній день клінічними настановами затверджено відмінності поняття «НПЗЗ-індуковане пошкодження травного тракту» та «НПЗЗ-гастропатія», які не є синонімічні та мають відмінні стратегії щодо запобігання [197, 243].

Проведене дослідження показало, що на тлі *профілактичного введення* ПВА КЕП становила 69,1 % при гострій ІНД-індукованій гастропатії (ВІ = 3,5 та 1,08 відповідно у щурів контрольної групи та у щурів, яким вводили КЕП). При гострій ДН-індукованій гастропатії ПВА КЕП становила 92,1 %, а виразкові дефекти СОШ при застосуванні досліджуваного кріоекстракту виявлені лише у 28,6% тварин, що у 3,5 рази нижче за показник щурів контрольної групи. Варто відзначити, що найвиразніше нівелювання ульцерогенної дії ДН відмічено на тлі комбінованого превентивного застосування КЕП та дії низьких температур – ВІ у 12,6 разів був нижчим за показники щурів з ДН-індукованим ульцерогенезом без корекції та у 1,5 рази перевищував за ефективністю езомепразол.

ПВА КЕП при *лікувальному режимі застосування* у щурів з субхронічною МКС-індукованою гастропатією становила 100,0 %, проте слід зазначити, що виразкові ушкодження СОШ, викликані МКС виявлені тільки у 74,1 % щурів, в той час як всі інші досліджувані НПЗЗ викликали виразкування СОШ у 100,0 % тварин, що узгоджується з даними літератури при низькій ульцерогенний потенціал вказаного НПЗЗ у шлунку [112].

Застосування КЕП у *лікувально-профілактичному режимі* супроводжувалось співставною ПВА на моделях субхронічних ІБП-індукованій та АСК-індукованій гастропатіях та становила 72,8 % та 70,6 % відповідно.

Порівнюючи отримані відомості про ПВА КЕП за різних режимів введення можна зробити висновок, що найвиразніша ПВА відмічена за профілактичного режиму застосування досліджуваного кріоекстракту на моделі ДН-індукованої гастропатії у щурів (92,1 %).

Токсичний вплив НПЗЗ на тонку кишку (НПЗЗ-індукована ентеропатія), незважаючи на відносно рідкісне обговорення в літературі, зустрічається значно частіше, ніж прийнято вважати. Так, аж ніяк не рідкісні ситуації, коли саме тонкокишкові виразки, індуковані прийомом НПЗЗ, є причиною розвитку загрозливих життю станів: кровотечі, перфорації, гострої кишкової непрохідності [149, 199, 244].

Оцінка впливу КЕП на стан дистальних відділів ШКТ на тлі НПЗЗ-індукованого ураження показала, що за гострого ДН та ІНД-індукованого ульцерогенезу відмічалось ураження СО тільки тонкої кишки. Стан товстої кишки макроскопічно залишався незмінним, що ймовірно пов'язано із термінами проведення дослідження. Встановлено, що превентивне введення КЕП на обох моделях гострого ульцерогенезу призвело до 100,0 % нівелювання ентеротоксичної дії як ІНД так та ДН, що вказує на його ентеропротективні властивості.

За лікувального режиму застосування КЕП на моделі МКС-індукованого ураження тонкого кишківника призвів до 100,0 % нівелювання ульцерогенної дії на товстий кишківник останнього, а кількість виразкових дефектів у тонкій кишці знизилась у 4,6 рази порівняно з показниками у щурів контрольної групи з МКС-індукованим ульцерогенезом без корекції та становила відповідно $7,4 \pm 3,2$ та $33,7 \pm 1,7$ виразок на 10 см довжини тонкої кишки.

На тлі лікувально-профілактичного застосування КЕП відмічено 100,0 % нівелювання токсичного впливу АСК та дистальні відділи ШКТ. На моделі ІБП-індукованого ульцерогенезу показано, що ПВА КЕП у тонкій кишці становила 78,4 % та 72,3% – у товстій кишці.

Отримані дані вказують на наявність виразної ентеропротективної та колонопротективної активності у КЕП за умов НПЗЗ-індукованого ураження травного тракту. Найвиразніша ПВА у дистальних відділах ШКТ виявлена за умов профілактичного застосування КЕП на моделі ДН-індукованого ульцерогенезу та за умов лікувально-профілактичного застосування КЕП на тлі АСК-індукованого ульцерогенезу.

Наявність ентеро- та колонопротективної активності КЕП є його цінною терапевтичною перевагою над існуючими на сьогоднішній

день противиразковими препаратами. Сучасні підходи до послаблення ульцерогенної дії НПЗЗ спрямовані переважно на нівелювання пошкоджуючої дії на СОШ шляхом зниження кислотопродукуючої функції шлунка, проте нещодавні дослідження показали, що проведення кислотосупресивної терапії ІПП здатне навіть погіршувати перебіг НПЗЗ-ентеропатії [161, 162]. Радикальне пригнічення шлункової секреції ІПП може призводити до розвитку надлишкового бактеріального росту в тонкій кишці, здатного підсилювати тяжкість НПЗЗ-ентеропатії [162, 199].

Для з'ясування механізмів гастро-ентеропротективної активності КЕП нами проведені дослідження функціонального стану ШКТ – секреторної активності шлунка та моторно-евакуаторної активності. Введення КЕП призводило до статистично вірогідного ($p = 0,002$) зниження співвідношення вільної та загальної кислотності у 2,3 рази, а ПА статистично вірогідно знизилась ($p < 0,05$) на 14,5 % відносно показників інтактних тварин. Комбіноване нарізне введення МКС та КЕП супроводжувалось зниженням співвідношення вільної та зв'язаної кислотності на $43,0 \pm 3,0$ % та статистично вірогідного ($p < 0,05$) зменшення ПА на 12,3 % відносно показників тварин, які отримували тільки МКС. Комбіноване застосування КЕП та ДН призводить до ослаблення гіпермоторики, викликаній введенням зазначеного антифлогістика. На це вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) зниження ПА на 7,4 % щодо показників тварин, яким вводили тільки ДН.

Добре відомо, що разом зі зміною секреторної активності важливе місце в ульцерогенній відповіді травного тракту на НПЗЗ відіграє гіпермоторика шлунка, що вперше описана Mersereau W.A. та співав. [248]. Гіпермобільність шлунка спричиняє мікросудинні порушення, особливо у ділянках складок слизової оболонки шлунка, що у тому числі призводить до взаємодії нейтрофілів та ендотелію. В даний час механізм НПЗЗ-індукованої гіпермоторики шлунка залишається невідомим, однак, є припущення, що мають місце вагусно-холінергічні взаємодії [247].

Дослідження показали, що застосування КЕП може нормалізувати кислотність шлункового соку та знижувати НПЗЗ-асоційовану гіпермоторику, що може виступати одним із механізмів його ПВА за НПЗЗ-індукованого ульцерогенезу.

Встановлена здатність КЕП нормалізувати функціональну активність шлунка спонукала до дослідження біохімічних зрушень у СОШ на тлі комбінованого застосування останнього з НПЗЗ. Біохімічні дослідження гомогенатів СОШ на тлі ДН-індукованої

гастропатії показали, що введення КЕП здатне призводити до підвищення активності ПГ-синтаз у щурів з ДН-індукованою гастропатією у 2,0 рази, відносно показників щурів контрольної групи, що нівелювало ятрогенну ПГ недостатність в СОШ.

Дослідження вмісту метаболітів NO в СОШ показало, що введення КЕП призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зростання вмісту метаболітів NO на 41,8 %. Крім того встановлено, що на тлі поєднаної дії низьких температур та введення КЕП відмічено статистично вірогідне ($p < 0,05$) зростання рівня метаболітів NO на 70,1 % відносно показників щурів з ДН-індукованою гастропатією. Отримані дані вказують на здатність КЕП підвищувати рівень метаболітів NO в СОШ, які, як відомо, відіграють спільно із ПГ важливу роль у підтримці тону судин, а відповідно – забезпеченні адекватної трофіки СО [98, 260].

ІГХ дослідження СОШ щурів показали, що застосування КЕП призвело до нівелювання актипроліферативної дії ДН на епітелій СОШ, а також пригнічувало ДН-асоційований апоптоз епітеліоцитів СОШ. Так, ІП на тлі введення ДН та КЕП становив 0,10 %, що статистично вірогідно ($p < 0,001$) на 40,0 % перевищувало показники щурів з ДН-індукованою гастропатією. Отримані за результатами досліджень відомості про ПВА КЕП та літературні дані про спектр біологічної дії досліджуваного кріоекстракту [45] дозволили сформулювати цілісне уявлення про механізми реалізації його гастропротективної активності (рис. 55).

Встановлена нами здатність КЕП знижувати ульцерогенну дію НПЗЗ та відомості про дозозалежність всіх видів фармакологічної активності останніх спонукала нас до дослідження ключових клас-специфічних властивостей досліджуваних антифлогістиків нестероїдної природи.

Дослідження впливу КЕП на окремі ланки ПЗА НПЗЗ показала, що комбіноване застосування МКС та КЕП призвело до більш виразної АаД (23,9 %) на 7 день експерименту – площа некротичних виразок шкіри статистично вірогідно ($p < 0,05$) в 1,3 рази була меншою за показники щурів контрольної групи (без лікування), а на 27 день експерименту АаД на тлі комбінованого лікувально-профілактичного застосування МКС та КЕП у 1,7 рази перевищував показники щурів групи монотерапії МКС та у 1,2 рази перевищував показники групи монотерапії КЕП.



Рис. 55 Механізми реалізації гастропротективної активності КЕП на тлі ультцерогенної дії НПЗЗ

Вивчення впливу КЕП на окремі механізми протизапальної активності НПЗЗ показала, що ДН чинив антиексудативну дію вже на 30 хв після введення λ -карагеніну, а його ПЗА у 4,6 рази перевищувала аналогічні показники в ті самі строки у щурів, яким вводили КЕП, проте на 60 хв спостереження ДК співставлявся за ПЗА з досліджуваним кріоекстрактом, яка становила відповідно 28,6 % та 22,2 %. Таким чином показано, що через 4 год після введення КЕП чинив супресивну дію на кініни подібно до ДН, а в простагландиновий період карагенін-індукованого запалення на тлі комбінованого застосування досліджуваного кріоекстракту та ДН ПЗА становила 46,4 %, що дозволяє припустити й супресивну дію на продукцію ПГ, як можливі механізми антиексудативної дії КЕП.

Оцінка впливу КЕП на ЛОГ-опосередковані механізми запалення показали, що одним з механізмів його ПЗА виступає інгібування зазначеного шляху метаболізму АК. На це вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) пригнічення зимозан-індукованого запалення у щурів на 78,8 % та 74,8 % на 120 та 180 хв відповідно. На тлі комбінованого застосування ДН та КЕП величина ПЗА практично не відрізнялась від монотерапії досліджуваним кріоекстрактом, що вірогідно пов'язано із слабшим впливом досліджуваного НПЗЗ на ЛОГ-опосередкований шлях метаболізму АК.

Дослідження анальгетичної активності комбінованого застосування КЕП та ІБП показали, що АНЦА ІБП становить 37,1 % ($p < 0,05$), КЕП – 9,8 % ($p > 0,05$), комбінованого застосування вказаного НПЗЗ та досліджуваного кріоекстракту – 43,5 % ($p > 0,05$). Отримані дані вказують, що КЕП не володіє співставною з НПЗЗ анальгетичної активністю, проте на тлі комбінованого застосування не знижує власної знеболюючої активності останніх.

Комплексне вивчення впливу КЕП на лікувальні властивості НПЗЗ на моделі експериментального РА у щурів показали, що комбіноване застосування ДН та КЕП володіє більш виразною ПЗА ніж монотерапія ДН на моделі АА у щурів. На це вказує на 8,7 % виразніше зменшення об'єму ушкодженої кінцівки щурів на тлі введення ДН та КЕП, ніж на тлі введення тільки ДН. Крім того встановлено, що комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжується зростанням ПБЧ за механічного подразнення кінцівки на 13,8 % більше ніж при монотерапії ДН. Крім того комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжується виразнішою на 10,7 % Ана порівняно з монотерапією ДН АА в тесті інвалідності у щурів, а при електроімпульсному подразненні комбіноване застосування КЕП та ДН супроводжується виразнішим знеболюючим ефектом ніж монотерапія ДН, що проявлялось статистично вірогідно більшим ($p = 0,01$) на 14,1 % зростанням ПБЧ у щурів з АА на 28 добу експерименту.

Гематологічні дослідження показали, що комбіноване застосування КЕП та ДН супроводжується більш виразним нівелюванням ознак запалення з боку гематологічних показників – ШОЕ знизилась на 72,2 % ($p < 0,001$), а кількість лейкоцитів зменшилась на 54,8 % ($p < 0,001$) відносно показників щурів з АА без лікування. Крім того встановлено, що комбіноване застосування КЕП та ДН призвело до повного нівелювання ознак анемії хронічного запалення – рівень гемоглобіну та еритроцитів статистично вірогідно

($p < 0,001$) збільшився на 17,6 % і 36,8 % відповідно щодо показників щурів з АА без лікування.

Введення ДН і КЕП щурам з АА призвело до нормалізації рівня МДА, що вказує на нівелювання ознак артрит-індукованого оксидативного стресу. Також виявлено статистично вірогідне ($p = 0,01$) підвищення рівня СОД на 30,6 % щодо значень у щурів контрольної групи. Встановлено посилення протизапальних властивостей ДН на тлі комбінованого застосування ДН з КЕП – рівень С-РБ знизився ($p < 0,001$) на 61,1 % відносно нелікованих щурів, а рівень серомукоїду статистично вірогідно ($p < 0,01$) знизився на 17,1 % щодо показників щурів групи монотерапії ДН. Показано, що рівень АЛАТ статистично вірогідно ($p < 0,01$) був нижче на 38,9 %, а АсАТ – нижче ($p < 0,01$) на 37,9 % щодо показників тварин, яким вводили ДН, що відповідно на 16,7% ($p = 0,02$) і 17,2 % ($p < 0,001$) було нижче показників щурів контрольної групи з нелікованим АА. Встановлені зміни з боку амінотрансфераз вказують на здатність КЕП нівелювати не тільки АА-індукований цитолітичний синдром, але і ДН-індукований. Крім того встановлено, що комбіноване застосування КЕП та ДН супроводжувалося нормалізацією рівня загальних ліпідів і фосфоліпідів в сироватці крові щурів на тлі експериментального РА. Так, вміст фосфоліпідів в пулі ліпідів статистично вірогідно ($p = 0,02$) зріс на 22,6 % щодо показників тварин АА без лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Авраменко АА, Гоженко АИ, Гойдык ВС. Язвенная болезнь (очерки клинической патофизиологии). Одесса: АРТ-В; **2008**. 304 с.
2. Автандилов ГГ. Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина; **2002**. 240 с.
3. Алексеенко СА. Современные подходы к профилактике НПВП-гастропатии. *Дальневосточный медицинский журнал*. **2015**;4:123–8.
4. Амелин АВ, Афанасьев ВВ, Стариков ПВ, Богданова НВ, Павлюкова ОС, Лобзин СВ, Корешкина МИ, Лалаян ТВ, Кушниренко ЯН, Шварцман ГИ, Пугачева ЕЛ, Портнягин ИВ, Джулай ИА, Ключева ЕГ, Самарцев ИН, Баринов АН, Живолупов СА. Протокол Экспертного совета Северо-Западного федерального округа Российской Федерации о рациональном подходе к лечению болевого синдрома воспаления в неврологии. *Медицинский совет*. **2015**;7:51–2. DOI: <http://doi.org/10.21518/2079-701X-2015-7-51-53>
5. Аникин ГС, Стожкова ИВ, Кукес ВГ. Нестероидные противовоспалительные препараты: безопасность с позиции доказательной медицины. *Consilium Medicum*. **2017**;19: 28–32. DOI: https://doi.org/10.26442/2075-1753_19.7.2.28-32
6. Апихтіна ОЛ, Бебешко ВГ, Волошина НО, Гаврилук АО, Гончарова ВМ, Грищенко МА, Кава ТВ, Кіреєв ІВ, Ковальчук ТС, Кузьменко КО, Лапій ФІ, Лясковський ТМ, Ніженковська ІВ, Петренко ВІ, Серединська НМ, Хайтович МВ, Ховака ВВ, Чоп'як ВВ, Шум СС, Шунько ЄЄ. Державний формуляр лікарських засобів. Випуск тринадцятий. Київ. **2021**. 1274 с.
7. Аскарлов МБ, Цыпин АБ, Трубицына ИЕ, Иванов ИМ, Онищенко НА. Репаративные процессы при длительно незаживающих язвах желудка у крыс с использованием биорегуляторных пептидов из ткани селезенки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. **2008**;3:34–8.
8. Аскарлов МБ, Шумаков ВИ, Онищенко НА. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки аутологичного костного мозга ускоряют регенерацию длительно незаживающих язв желудка. *Вестник хирургии*. **2009**.168(2):22–6.
9. Ахмедов ВА, Ноздряков ВА. Современные взгляды на безопасность длительной терапии ингибиторами протонной помпы. Обзор литературы. *Российский медицинский журнал*. **2017**;10:765–7.
10. Балабанцева АП, Клярицкая ИЛ, Цапьяк ТА, Григоренко ЕИ. Современные подходы к первичной профилактике гастропатий и энтеропатий, вызванных НПВП. *Крымский терапевтический журнал*. **2015**;3:31–8.
11. Балуква ЕВ. Гастропатия, вызванная НПВП: от понимания механизмов развития до разработки стратегии профилактики и лечения. *Российский медицинский журнал*. **2017**;10:697–702.
12. Бандаренко ПС, Волощук НІ. Дослідження протизапальної та жарознижувальної активності поліморфної модифікації похідного п-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1н-2л⁶,1-бензотіазин-3-карбоксаміду у щурів. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. **2021**;25(1):27–31.

13. Бесхмельницына ЕА, Покровский МВ, Должиков АА, Автина ТВ, Жернакова НИ, Пересыпкина АА. Исследование анальгетической и противовоспалительной активности нового неопиоидного анальгетика на основе селективного ингибитора ионных каналов TRPA₁. *Кубанский научный медицинский вестник*. **2019**;26(1):77–87. <https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-77-87>
14. Білаш СМ. Особливості лектиноспецифічності структурних компонентів кардіальної частини шлунку після введення кріоконсервованої плаценти на тлі гострого експериментального запалення. *Світ медицини та біології*. **2014**;2(44):97–100.
15. Бондаренко ОА, Агибалов АН. Лекарственно-индуцированные поражения верхних отделов пищеварительного тракта: профилактика и лечение. *Сучасна гастроентерологія*. **2019**;2(106):55–65. DOI: <http://doi.org/10.30978/MG-2019-2-55>
16. Булгаков СА. Гексапептид даларгин в клинической гастроэнтерологии: 30-летний опыт применения препарата. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. **2016**;3:103–12.
17. Васильев АЮ, Блинов НН, Егорова ЕА. Возможности конусно-лучевой компьютерной томографии в оценке состояния костей и суставов кисти. *Радиология-Практика*. **2012**;6:54–61.
18. Вернигородський СВ. Актуальні питання патоморфологічного вивчення гастропатій, що індуковані нестероїдними протизапальними засобами. *Світ медицини та біології*. **2014**;4(46):186–90.
19. Волощук НІ, Таран ІВ. Вираженість гастротоксичної дії диклофенаку натрію на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфід у експерименті. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. **2014**;4–5(40):17–24.
20. Волощук НІ. Вплив рівня тестостерону у самців щурів на гастротоксичну дію нестероїдних протизапальних засобів. *Медичні перспективи*. **2010**;13(18):9–16.
21. Вялов СС. Противовоспалительная терапия и гастротоксичность: реальные возможности профилактики. *Российский медицинский журнал*. **2014**;22:1644–8.
22. Галушко ЕА, Беленький ДА, Александрова ЕН, Кашникова ЛН. Роль гепсидина в развитии анемии у больных ревматоидным артритом. *Научно-практическая ревматология*. **2014**;52(3):19–24.
23. Гармиш ЕА. Анемия хронического воспаления при ревматоидном артрите: патогенез и выбор терапии. *Український ревматологічний журнал*. **2016**;1(63):39–41.
24. Гацура ВВ. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. Москва: Медицина; **1974**. 142 с.
25. Гладких ФВ, Степанюк НГ, Вернигородский СВ. Изучение состояния клеточного гомеостаза слизистой оболочки желудка крыс при фармакотерапии ибупрофеном и его комбинацией с винбороном ревматоидного артрита. *Фармация и фармакология*. **2016**;4(3):68–83. DOI: <http://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-3-68-83>
26. Гладких ФВ, Степанюк НГ, Вернигородський СВ. Дослідження апоптозмодуючих властивостей вінборону при ібупрофен-індукованій

- гастропатії у щурів з ад'ювантним артритом. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. **2016**;16(56):30–4.
27. Гладких ФВ, Степанюк НГ, Вернигородський СВ. Макро- та мікроскопічне дослідження впливу 2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлориду (вінборону) на гастротоксичність ібупрофену за умов експериментального ревматоїдного артриту у щурів. *Траєкторія науки*. **2017**;10:7001–18. DOI: <http://doi.org/10.22178/pos.27-8>
 28. Гладких ФВ, Степанюк НГ, Студент ВО, Погребенник ЯЯ, Юркевич БЄ. Оцінка ефективності лікування експериментального ревматоїдного артриту ібупрофеном та його комбінацією з вінбороном за даними конусно-променевої комп'ютерної томографії та цифрової рентгенографії задніх кінцівок щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. **2017**;1(52):12–24.
 29. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Вінборон: перший український гастропротектор – агоніст ванілоїдних рецепторів (TRPV₁). *Фармакологія та лікарська токсикологія*. **2016**;4–5 (50):20–9.
 30. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Дослідження шлункової секреції у щурів з ад'ювантним артритом на тлі застосування ібупрофену та його комбінації з вінбороном. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. **2016**;3(49):34–40.
 31. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Експериментальне обґрунтування доцільності застосування вінборону з метою підвищення знеболюючої активності ібупрофену. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. **2016**;3(22):41–48. DOI: <http://doi.org/10.14739/2409-2932.2016.3.77934>.
 32. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Сучасні шляхи послаблення ульцерогенності нестероїдних протизапальних засобів: досягнення, невирішені питання та шляхи оптимізації. *Запорожський медичний журнал*. **2014**;2:82–6. Режим доступу: <http://zmj.zsmu.edu.ua/article/view/25437/22932>
 33. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Характеристика протизапальної та знеболюючої активності ібупрофену та його комбінації з вінбороном на моделі ад'ювантного артриту у щурів. *Вісник наукових досліджень*. **2015**;2(79):108–11. DOI: <http://doi.org/10.11603/2415-8798.2015.2.5617>
 34. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Характеристика терапевтичного ефекту ібупрофену та його комбінації з вінбороном за даними гематологічних показників на моделі ад'ювантного артриту у щурів. *Львівський медичний часопис*. **2015**;4:64–70.
 35. Гладких ФВ, Чиж МО. Антиульцерогенна дія кріоконсервованого екстракту плаценти та ефект впливу низьких температур при ушкодженні травного тракту диклофенаком натрію в експерименті. *Східноукраїнський медичний журнал*. **2021**.9(3):284–94. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9\(3\):284-294](https://doi.org/10.21272/eumj.2021;9(3):284-294)
 36. Гладких ФВ, Чиж МО. Модуляція мелоксикам-індукованих змін секреторної та моторної активності шлунка шляхом застосування кріоекстракту плаценти. *Праці Наукового Товариства ім. Т. Г. Шевченка. Медичні науки*. **2021**;64(1):84–94. DOI: <https://doi.org/10.25040/10.25040/ntsh2021.01.08>

37. Гладких ФВ, Чиж МО. Нестероїдні протизапальні засоби: сучасне уявлення про механізми ушкодження травного тракту, недоліки препаратів патогенетичного лікування та перспективи біологічної терапії НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії. *Гастроентерологія*. **2020**;4:253–66. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.4.2020.216714>
38. Гладких ФВ, Чиж МО. Характеристика механізмів протизапальної дії кріоконсервованого екстракту плаценти та диклофенаку натрію за їх нарізного введення. *Сучасні медичні технології*. **2021**;3(50):41–7 DOI: [https://doi.org/10.34287/ММТ.3\(50\).2021.8](https://doi.org/10.34287/ММТ.3(50).2021.8)
39. Гладких ФВ. Експериментальне дослідження впливу кріоконсервованого екстракту плаценти на протизапальну активність диклофенаку натрію. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. **2021**;5(3):144–52. DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2021.5.3.237505>
40. Гладких ФВ. Макроскопічна оцінка протективної дії кріоконсервованого екстракту плаценти при ібупрофен-індукованій гастроентероколонопатії. *Гастроентерологія*. **2021**;55(3):25–32. DOI: <https://doi.org/10.22141/2308-2097.55.3.2021.241587>
41. Гладких ФВ. Мультимодальная анальгезия: полипрагмазия в обезболивании или рациональное применение нестероидных противовоспалительных средств для предотвращения хронизации боли. *Траектория науки*. **2020**;6(7):4009–18. DOI: <http://dx.doi.org/10.22178/pos.60-5>
42. Гладких ФВ. Оцінка лікувального ефекту комбінованого застосування кріоконсервованого екстракту плаценти та диклофенаку натрію при експериментальному ревматоїдному артриті за гематологічними показниками. *Медична наука України*. **2021**;17(3):15–21. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.3.2021.02>
43. Гладких ФВ. Превентивно-лечебные стратегии фармакокоррекции гастропатии, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. **2017**;4:14–23. DOI: <http://doi.org/10.17816/RCF15414-23>
44. Голованова ЭВ. Защита слизистой желудочно-кишечного тракта от повреждающего действия нестероидных противовоспалительных средств. *Клиническая геронтология*. **2017**;1–2:47–51.
45. Гольцев АН, Юрченко ТН, (ред.), Блажко ЕВ, Бобырева ЛЕ, Гераскина ЛР, Грищенко ВИ, Губина-Вакулик ГИ, Дворник ИЛ, Евтерева ИА, Ждан ВН, Зварич ПР, Капустянская АА, Кузмина ИЮ, Липина ОВ, Ломакова ИВ, Луценко НС, Муризина ИЮ, Плотникова ВН, Прокопюк ВЮ, Прокопенко ОС, Резникова ВА, Строна ВИ, Строна ДВ, Трифанов ВЮ, Феськова АМ, Феськова ИА, Шепитько ВИ, Шепитько КВ. Плацента: криоконсервация, клиническое применение. Харьков: ФОП Бровин А.В.; **2013**. 268 с.
46. Грищенко НГ, Грищенко ВИ, Смольянинова ЕИ, Чернищенко ЛГ, Волкова НА. Влияние криоэкстракта плаценты на индукцию суперовуляции у лабораторных мышей с хроническим воспалением яичников. *Проблеми кріобіології*. **2010**;20(3):327–37.

47. Грищенко НГ, Клименко НА, Горголь НИ, Татарко СВ. Влияние криоэкстракта плаценты на течение хронического воспаления яичников у мышей. *Медицина сегодня и завтра*. **2010**;2-3(47-8):7-17.
48. Гріщенко ВІ, Морозова ТФ, Воротілін ОМ, Моїсеєв ВО, Гольцнв АМ, Грищенко ОВ, Прокопюк ОС, Оіпіна ОВ, Ходькл ОТ. Приготування та зберігання кріоконсервованої суспензії плаценти для клінічного використання (методичні рекомендації). Харків. **1997**. 19 с.
49. Громько МВ, Грицук АИ. Экспериментальные модели ревматоидного артрита. *Проблемы здоровья и экологии*. **2012**;2(32):115-8.
50. Груздев АК, Ломакин НВ. Ингибиторы циклооксигеназы и антитромбоцитарный эффект ацетилсалициловой кислоты. Селективный подход к нестероидным противовоспалительным средствам в кардиологической практике. *Здоров'я України*. **2014**;10(335):22-3.
51. Губська ОЮ, Кузьмінець АА. НПЗП-ентеротоксичність: фокус на проблему. *Сучасна гастроентерологія*. **2018**;5(103):50-9. DOI: <http://doi.org/10.30978/MG-2018-5-50>
52. Гулевский АК, Абакумова ЕУ, Моисеева НН, Долгих ОЛ. Влияние фракции пуповинной крови (до 5 кДа) крупного рогатого скота на биохимические показатели крови при экспериментальной субхронической язве желудка крыс. *Украинский биохимический журнал*. **2008**;80(2):120-7.
53. Гулида МО, Мирошниченко ЕВ, Берёзка НИ, Горячий ЕВ. Применение экстракта плаценты в комплексном лечении больных ревматоидным артритом. *Експериментальна і клінічна медицина*. **2014**;1(62):168-71.
54. Ганонг ВФ. Фізіологія людини. Львів: БаК; **2002**. 784 с.
55. Дикарева ЕА. Влияние приверженности антисекреторной терапии на риск развития гастропатии, вызванной приемом нестероидных противовоспалительных средств. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. **2019**;18(4):60-6. DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2019.4.60>
56. Довгань ЕВ. Результаты исследования PRECISION: удалось ли ответить на вопрос, насколько безопасны коксибы в сравнении с «традиционными» нестероидными противовоспалительными препаратами у пациентов с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений? *Современная ревматология*. **2017**;11(3):129-31.
57. Долгов ВВ, Меньшиков ВВ, (ред.) Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство в 2 т. Москва: ГОЭТАР-Медиа; **2012**;1. 928 с.; 2. 808 с.
58. Дроговоз СМ, Белик ГВ, Дем'яненко ДВ, Кудіна ОВ, Мохаммад РД. Скринінг фармакологічних досліджень екстрактів зрідженогазових екстрактів суцвіть липи. *Фармацевтичний журнал*. **2012**;5:94-100.
59. Дроговоз СМ, Марчишин СМ, Щокіна КГ, Козир ГР, Баєва ОО. Експериментальне дослідження фармакологічної активності настоянки настурції на моделі некротичних виразок у щурів. *Фармацевтичний журнал*. **2011**;5:92-5.
60. Дыдыкина ИС, Коваленко ПС. Основные аспекты профилактики и лечения гастропатии НПВП в свете новой идеологии современной медицины. *Терапия*. **2019**;1(27):182-92. DOI: <https://doi.org/10.18565/therapy.2019.1.182-192>

61. Евсеев МА. Повреждение кишечной трубки нестероидными противовоспалительными препаратами: клиническое значение, патогенез, возможности профилактики. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. **2013**;1–2:79–87.
62. Ефимов АЛ, Сигула БВ, Филаретова ЛП. Острые язвы и эрозии желудочно-кишечного тракта, индуцированные нестероидными противовоспалительными препаратами: этиология, патогенез, лечебная тактика. *Вестник Российской Военно-Медицинской Академии*. **2017**;1(57):198–204. Режим доступа: <https://www.vmeda.org/wp-content/uploads/2017/04/vestnik1.17.pdf>
63. Жариков АЮ, Лоренц СЭ, Бобров ИП, Мазко ОН, Макарова ОГ. Поиск новых молекул олигопептидов для фармакологической коррекции НПВС-индуцированной язвы желудка. *Биомедицина*. **2019**;15(3):90–7. DOI: <https://doi.org/10.33647/2074-5982-15-3-90-97>
64. Залыгина ЕВ, Подплетня ЕА. Исследование противоязвенной активности густого экстракта незрелых плодов грецкого ореха на модели диклофенак-индуцированной язвы желудка крыс. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики*. **2017**;7(25): 324–8. DOI: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2017.3.113620>
65. Западнюк ИП, Западнюк ВИ, Захария ЕА. Лабораторные животные: разведение, содержания и использование в эксперименте. Київ: Вища школа; **1983**. 383 с.
66. Звягинцева ТД, Чернобай АИ. Синдром избыточного бактериального роста: современные подходы к лечению. *Семейная медицина*. **2013**.4(48):31–8.
67. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕДпресс-информ; **2009**. 896 с.
68. Капустянська АА. Застосування препарату «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» в комплексному лікуванні загострення подагричного артриту з метаболічним артритом. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. **2010**;10(30):54–8.
69. Каратеев АЕ, Насонов ЕЛ, Ивашкин ВТ, Мартынов АИ, Яхно НН, Арутюнов ГП, Алексеева ЛИ, Абузарова ГР, Евсеев МА, Кукушкин МЛ, Копенкин СС, Лиля АМ, Лапина ТЛ, Новикова ДС, Попкова ТВ, Ребров ВП, Скоробагатых КВ, Чичасова НВ. Ассоциация ревматологов России, Российское общество по изучению боли, Российская гастроэнтерологическая ассоциация, Российское научное медицинское общество терапевтов, Ассоциация травматологов-ортопедов России, Российская ассоциация паллиативной медицины. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации. *Научно-практическая ревматология*. **2018**;56:1–29. DOI: <http://doi.org/10.14412/1995-4484-2018-1-29>
70. Каратеев АЕ, Насонов ЕЛ, Раденска-Лоповок СГ. Эффективность висмута трикалия дицитрата (де-нола) при гастропатиях, индуцированных нестероидными противовоспалительными препаратами: открытое контролируемое 4-недельное исследование. *Терапевтический архив*. **2005**;2:45–9.

71. Каратеев АЕ, Успенский ЮП, Пахомова ИГ, Насонов ЕЛ. Краткий курс истории НПВП. *Научно-практическая ревматология*. **2012**;52(3):101–16.
72. Каратеев АЕ. Использование нестероидных противовоспалительных препаратов в реальной клинической практике: новые возможности. *Consilium Medicum*. **2018**;20(9):88–94. DOI: http://doi.org/10.26442/2075-1753_2018.9.88-94
73. Каратеев АЕ. Количественная и качественная оценка риска осложнений при использовании нестероидных противовоспалительных препаратов как основа формирования рекомендаций по их контролю и профилактике. *Современная ревматология*. **2014**;1:64–72.
74. Каратеев АЕ. Модификация традиционных НПВП как метод повышения их безопасности и удобства использования. *Российский медицинский журнал*. **2015**;7:392–6.
75. Каратеев АЕ. На пути к созданию новой генерации нестероидных противовоспалительных препаратов: амтолметин гуацил. *Современная ревматология*. **2014**;2:83–9.
76. Клярицкая ИЛ, Балабанцева АП, Фурсова ВА. Энтеропатии, индуцированные приемом нестероидных противовоспалительных препаратов. *Крымский терапевтический журнал*. **2014**;1:38–4.
77. Ковалев ГА, Высеканцев ИП, Ищенко ИО, Абрафикова ЛГ, Олефиренко АА, Сандомирский БП. Влияние криоконсервированной сыворотки кордовой крови и экстракта плаценты на заживление холодовых ран. *Проблемы криобиологии и криомедицины*. **2015**;25(1):57–66.
78. Кондаков ИИ, Юрченко ТН. Морфологические аспекты действия криоконсервированной плаценты при экспериментальном атеросклерозе. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. **2012**;13(1):68–71.
79. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. **1988**;1:16–9.
80. Костюк ВА, Потапович АИ, Ковалёва ЖВ. Простой и чувствительный метод определения активности супрокиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии*. **1990**;2:88–91.
81. Криль ІЙ, Гаврилюк АМ, Стойка РС, Чоп'як ВВ, Кіт ЮЯ. Характеристика ензиматичної активності та білкового складу сироватки крові щурів за умови індукованого імунізацією запалення суглобів. *Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія*. **2014**;2:15–23.
82. Курсов СВ, Никонов ВВ. Циклооксигеназа: физиологические эффекты, действие ингибиторов и перспективы использования парацетамола. *Неотложная медицинская помощь*. **2016**;5(76):27–35. DOI: <https://doi.org/10.22141/2224-0586.5.76.2016.76430>
83. Лазебник ЛБ, Белова ГВ. Систематизирующая классификация мультифокальных повреждений слизистой оболочки пищеварительного тракта нестероидными противовоспалительными (НПВП) и антитромботическими (АТП) препаратами («Московская классификация»). *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. **2018**;3:19–27.
84. Лазебник ЛБ, Голованова ЕВ, Алексеенко СА, Бакулина НВ, Барановский АЮ, Белова ГВ, Бордин ДС, Вьючнова ЕС, Гайдукова ИЗ, Гимаева ЗФ,

- Кашкина ЕИ, Козлова ИВ, Кокорин ВА, Лапина ЕД, Ли ЕД, Мигуськина ЕИ, Мирончев ОВ, Онучина ЕВ, Охлобыстин АВ, Пасечников ВД, Пахомова ИГ, Позднякова ОЮ, Путинцева ИВ, Сарсенбаева АС, Свиридова ТН, Симаненков ВИ, Симонова ЖГ, Ситкин СИ, Ткаченко ЕИ, Туркина СВ, Хабарова ЮА, Шевяков МА, Яковенко ЭП, Яковлев АА, Янковая ТН. Рекомендации по профилактике и лечению эзофаго-гастро-энтероколотий, индуцированных нестероидными противовоспалительными препаратами. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. **2018**;3(3):4–18. DOI: <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-151-3-4-18>
85. Лесная ОА, Русанова ЕИ, Прокофьева ЕБ, Фрейре да Силва Т. Рациональное использование НПВС в соответствии с клиническими рекомендациями и данными последних исследований. *Трудный пациент*. **2019**;17(10):31–4. DOI: <https://doi.org/10.24411/2074-1995-2019-10072>
86. Липатова ТЕ, Дудаева НГ. Современная стратегия диагностики и лечения НПВП-индуцированной энтеропатии у пожилых пациентов. *Саратовский научно-медицинский журнал*. **2015**;11(1):52–6.
87. Лихицкий АА. Влияние криоконсервированной плацентарной ткани на остеогенез в эксперименте при переломе нижней челюсти. *Клінічна стоматологія*. **2016**;1(14):37–41.
88. Лоренц СЕ, Жариков АЮ, Мазко ОН, Макарова ОГ, Кореновский ЮВ, Поповцева АВ, и др. Влияние пептидного комплекса тканей почек свинины на показатели свободнорадикального окисления и экспрессию ЦОГ-1,2 при экспериментальной гастропатии. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. **2018**;154(6):81–5.
89. Луценко НС, Прокопюк ОС, Бондаренко ИА, Гераскина ЛР, Евтарева ИА. Применение криоконсервированной плацентарной ткани при изоиммунизации беременных женщин. *Проблемы криобиологии*. **2008**;18(3):316–8.
90. Маев ИВ, Андреев ДН, Дичева ДТ, Жиляев ЕВ. Новые представления о гастропатии, ассоциированной с применением нестероидных противовоспалительных препаратов. *Consilium Medicum*. **2017**;19(8):110–5. DOI: http://doi.org/10.26442/2075-1753_19.8.110-115
91. Маев ИВ, Андреев ДН, Дичева ДТ. Гастропатия, вызванная нестероидными противовоспалительными средствами: патогенетически обоснованные подходы к профилактике и терапии. *Pharmatec*. **2016**;2:49–54.
92. Миронов АН, (ред.), Бунятян НД, Васильев АН, Верстакова ОЛ, Журавлева МВ, Лепяхин ВК, Коробов НВ, Меркулов ВА, Орехов СН, Сакоева ИВ, Утешев ДБ, Яворский АН. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I. Москва: Гриф и К; **2012**. 944 с.
93. Миронов НЮ, Чурюканов ВВ. Ванилоидные рецепторы: структура, участие в регулировании функций организма, фармакология, терапевтический потенциал. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. **2006**;69(5):55–69.
94. Мороз ЕВ, Каратеев АЕ. Ребамипид: эффективная медикаментозная профилактика НПВП-энтеропатии возможна. *Современная ревматология*. **2016**;4:97–105.

95. Мыш ВГ. Секреторная функция желудка и язвенная болезнь. Новосибирск: Наука; **1987**. 175 с.
96. Насадюк ХМ. Біохімічна характеристика та підходи до застосування екстрактів плаценти в медичній практиці. *З турботою про жінку*. **2013**;4(43):54–6.
97. Новиков ВЕ, Крюкова НО, Новиков АС. Гастропротекторные свойства мексидола и гипоксена. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. **2010**;73(5):15–8.
98. Олещук ОМ, Черноמידз АВ. Значення системи оксиду азоту у функціонуванні шлунка в нормі та при патології. *Медицина та клінічна хімія*. **2016**;18(2):84–95. DOI: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i2.6679>
99. Плотникова ЕЮ. Актуальность антацидов и альгинатов в лечении заболеваний пищеварительной системы. *Терапевт*. **2015**;2:58–64.
100. Подольський ВВ, Подольський ВВ. Перекисне окислення ліпідів як прояв оксидативного стресу в організмі жінок із змінами репродуктивного здоров'я на тлі соматоформних захворювань із порушеннями вегетативного гомеостазу. *Акушерство та гінекологія*. **2017**;2:98–104. DOI: <https://doi.org/10.11603/24116-4944.2017.2.8095>
101. Подплетная ЕА, Мамчур ВЙ. Механизмы гастродуоденотоксичности нестероидных противовоспалительных средств. *Журнал Академии медицинских наук Украины*. **2005**;1:47–62.
102. Поленов СА. Эффекторная функция афферентных нейронов. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. **2001**;11(4):44–51.
103. Попов ОС, Шебеко СК, Зупанець ІА, Шаламай АС. Дослідження впливу препарату «Диклокор» на спонтанну больову реакцію в експерименті. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. **2016**;1(47):97–101.
104. Попова ЛН. Как изменяются границы вновь образующегося эпидермиса при заживлении ран. Автореф. дисс. Воронеж. **1942**; 18 с.
105. Прокопюк ВЮ, Трифонов ВЮ, Прокопюк ОС, Черемський АК, Зуб ЛІ. Клінічна ефективність прегравідарної підготовки жінок з антифосфоліпідним синдромом. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. **2011**;2(2):78–81.
106. Раскина ТА, Ушаков АВ. Оценка состояния костной ткани методом компьютерной томографии у больных ревматоидным артритом. *Научно-практическая ревматология*. **2002**;1:20–2.
107. Рєпін МВ, Марченко ЛМ, Говоруха ТП, Васькович АМ, Строка ВІ, Кондаков ІІ, Брусенцов ОФ. Вплив попереднього введення кріоекстрактів плаценти різного походження на морфофункціональний стан нирок щурів при моделюванні гострої ниркової недостатності. *Експериментальна і клінічна медицина*. **2017**;2(75):37–43.
108. Розанова СЛ, Науменко ЕИ, Розанова ЕД, Нардид ОА. Изменение антиоксидантных свойств экстрактов плаценты человека после замораживания. *Проблемы криобиологии*. **2010**;20(3):288–95.

109. Рыболовлев ЮР, Рыболовлев РС. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклады АН СССР*. 1979;247(6):1513–6.
110. Сандлер ЮГ, Винницкая ЕВ, Салиев КГ, Хомерики СГ, Хайменова ТЮ. Лекарственные поражения печени, индуцированные нестероидными противовоспалительными препаратами: лекция и клиническое наблюдение. *Альманах клинической медицины*. 2019;47(6):579–91. DOI: <http://doi.org/10.18786/2072-0505-2019-47-060>
111. Саратиков АС, Венгеровский АИ, Прищепт ТП. Адъювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия). Томск: Издательство Томского университета; 1983. 101 с.
112. Сатыбалдыев АМ, Каратеев АЕ. Что безопаснее для желудочно-кишечного тракта – коксибы или мелоксикам? *Современная ревматология*. 2017;11(1):72–8.
113. Свінцицький АС. Гепатотоксичність та шляхи її подолання при застосуванні нестероїдних протизапальних препаратів. *Здоров'я України*. 2014;4:54–5.
114. Свінцицький АС. Механізми терапевтичної ефективності та побічної дії нестероїдних протизапальних препаратів. *Практикуючий лікар*. 2012;(4):5–12. Режим доступу: <https://plr.com.ua/index.php/journal/article/view/540>
115. Сигидин ЯА, Шварц ГЯ, Арзамасцев АП, Либерман СС. Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов: монография. Москва: Медицина; 1988. 240 с.
116. Смирнов АВ. Рентгенологическая диагностика изменений в костях и суставах стоп при ревматических заболеваниях. *Consilium medicus*. 2005;7(8):608–13.
117. Степанюк ПІ, Пентюк ОО, Піскун РП, Сапегін ІД, Станіславчук МА, Степанюк НГ, Черешнюк ІЛ, Дякова ОВ, Пашинська ОС, Коньков ДГ, Гордійчук АБ, Горбатюк СМ, Шевчук ТІ, Побережець ОЛ, Булавенко ОВ, Степанюк АГ, Скоромна НМ, Ременюк ОВ. Вінборон – лікарський засіб з політропними фармакологічними властивостями: монографія. Вінниця: Континент-Прим; 2007. 243 с.
118. Степанюк НГ, Томашевський АВ, Степанюк АГ, Коваль ВС. Характеристика гастропротекторної дії корвітину на моделі аспіринової гастропатії. *Теоретична і експериментальна медицина*. 2006;1:70–3.
119. Стефанов ОВ, (ред.), Літвінова НВ, Філоненко-Патрушева МА, Французова СБ, Храпак ВВ. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ: Авіцена; 2001. 527 с.
120. Сулаева ОН, Уоллес ДжЛ. Новая стратегия гастроинтестинальной протекции с использованием газообразных медиаторов. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016;3:17–23.
121. Сумбаев ВВ, Ясинская ИМ. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге. *Современные проблемы токсикологии*. 2000;3:3–7.

122. Ткач СМ, Сизенко АК. Эффективность ингибиторов протонной помпы в профилактике и лечении НПВП-гастропатий с позиций доказательной медицины. *Український терапевтичний журнал*. 2012;1:93–102.
123. Томаш ОВ, Руденко НН, Юренко ЕА. Антисекреторная терапия в реальной клинической практике: от привычных стереотипов к доказательным стандартам. *Украинский терапевтический журнал*. 2011;2:103–14.
124. Тринус ФП, Мохорт НА, Клебанов БМ. Нестероидные противовоспалительные средства: монграфия. Киев: Здоров'я; 1975. 239 с.
125. Трудолюбова МТ, Ореховича ВН. Количественное определение ДНК и РНК в субклеточных фракциях клеток животных. *Современные методы в биохимии*. Москва. Медицина, 1977:313–16.
126. Успенский ЮП, Барышникова НВ, Орлов ОЮ, Александрова ЮА. НПВП-ассоциированная патология желудочно-кишечного тракта: выбор препарата, тактика ведения пациентов. *Справочник врача поликлиники*. 2014;8:42–7.
127. Фоменко ІС. Вплив нестероїдних протизапальних препаратів на показники систем NO та H₂S в слизовій оболонці товстої кишки. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. 2015;18(1):45–7.
128. Хасина ЭИ, Моисеенко ЛИ. Протективное действие пектина из амаранта багряного при гастропатии, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2013;(2):18–21.
129. Циммерман ЯС. Язвенная болезнь: критический анализ современного состояния проблемы. *Вестник клуба панкреатологов*. 2019;1:53–62. DOI: <https://doi.org/10.33149/vkr.2019.01.08>
130. Циммерман ЯС. Поражение желудка, индуцированное приемом нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП): НПВП-гастрит или НПВП-гастропатия? *Клиническая фармакология и терапия*. 2018;27(1):1–8.
131. Чайка АВ, Черетаев ИВ, Хусаинов ДР. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторных крысах и мышах. *Учёные записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского*. 2015;1(67):161–73.
132. Шевченко НО, Сомова КВ, Воліна ВВ, Прокопюк ВЮ, Прокопюк ОС. Динаміка активності та тривалості функціонування кріоконсервованих крі-оекстракту, клітин та фрагментів плаценти в організмі експериментальних тварин. *Morphologia*. 2016;10(2):93–8.
133. Шекунова ЕВ, Кашкин ВА, Мужикян АА, Макарова МН, Макаров ВГ. Сравнительный анализ двух экспериментальных моделей хронического артрита у крыс. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2016;79(10):22–8.
134. Шепитько КВ, Шепитько ВИ, Юрченко ТН, Строна ВИ. Влияние криоконсервированной плацентарной ткани на течение стабильной стенокардии. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. 2012;13(1):146–9.
135. Шепітько КВ. Дослідження ступеня зв'язування лектинів у слизовій оболонці дванадцятипалої кишки при введенні кріоконсервованої

- плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини у щурів. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія*. **2015**;14(1):57–61.
136. Шепітько КВ. Характеристика гемомікроциркуляторного русла слизової оболонки дванадцятипалої кишки при трансплантації кріоконсервованої плаценти на тлі гострого асептичного запалення очеревини у щурів. *Світ медицини та біології*. **2015**;2(49):151–5.
137. Шматенко ОП, Белозьорова ОВ. Щодо сучасної класифікації нестероїдних протизапальних засобів для забезпечення потреб військовослужбовців збройних сил України. *Медичний форум*. **2015**;4:24–9.
138. Шостак НА, Клименко АА, Демидова НА, Аничков ДА. Безопасность селективных нестероидных противовоспалительных препаратов: анализ данных последних лет. *Клиницист*. **2020**;14(1–2):91–9. DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8338-2020-14-1-2-91-99>
139. Щокіна КГ. Експериментальне обґрунтування раціонального вибору сучасних і перспективних препаратів з протизапальною. Автореф. дис. Харків. **2006**. 17 с.
140. Яковлева ЛВ, Тітова ОО. Дослідження асортименту групи лікарських засобів НПЗЗ на фармацевтичному ринку в Україні за період 2014–2018 років. *Фармацевтичний журнал*. **2019**;4:41–51. DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.19.05>
141. Яковлева ЛВ, Ткачова ОВ, Бутко ЯО, Лар'яновська ЮБ. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран. Методичні рекомендації. Київ. Державний експертний центр МОЗ України; **2013**. 52 с.
142. Яременко ОБ, Микитенко ГМ. Нові можливості підвищення безпеки лікування нестероїдними протизапальними препаратами: у фокусі захист шлунково-кишкового тракту, нирок та суглобів. *Здоров'я України*. **2016**;2:56–8.
143. Ярушкіна НИ, Подвигина ТТ, Филаретова ЛП. Участие ванилоидных рецепторов 1 типа в защитных и патологических механизмах в желудке при действии ulcerогенных стимулов. *Интегративная физиология*. **2021**;2(2):147–56. DOI: <https://www.doi.org/10.33910/2687-1270-2021-2-2-147-156>
144. Al-Ekrish AA, Ekram M. A comparative study of the accuracy and reliability of multidetector computed tomography and cone beam computed tomography in the assessment of dental implant site dimension. *Dentomaxillofacial Radiology*. **2011**;40: 67–75. DOI: <https://doi.org/10.1259/dmfr/27546065>
145. Almaghrabi S, Geraghty D, Ahuja K, Adams M. Inhibition of platelet aggregation by vanilloid-like agents is not mediated by transient receptor potential vanilloid-1 channels or cannabinoid receptors. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. **2016**;43(6):606–11. DOI: <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12569>
146. Andersen JT, Mastrogiannis D, Andersen NL, Petersen M, Broedbaek K, Sejvanovic V, Nielsen TK, Poulsen HE, Jimenez-Solem E. Diclofenac/misoprostol during early pregnancy and the risk of miscarriage: a Danish nationwide cohort study. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. **2016**;294(2):245–50. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3966-9>

147. Asakawa T, Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. **1980**;15(3):137–40.
148. Aurell Y, Malac M, Forslind K. Work in progress: cone beam computed tomography (CBCT or extremity CT) – a new tool for evaluation of erosions in patients with rheumatoid arthritis. *European Society of Musculoskeletal Radiology*. **2014**. DOI: <https://www.doi.org/10.1594/essr2014/P-0028>
149. Aziz I, Tornblom H, Simren M. Small intestinal bacterial overgrowth as a cause for irritable bowel syndrome: guilty or not guilty? *Current opinion in gastroenterology*. **2017**;33(3):196–202. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000348>
150. Barinov E, Sulaieva O, Lyakch Y, Guryanov V, Kondratenko P, Radenko Y. Platelet aggregation measurement for assessment of hemostasis failure mechanisms in patients with gastroduodenal ulcer bleeding. *Clinical and Experimental Gastroenterology*. **2013**;6:139–148. DOI: <https://doi.org/10.2147/CEG.S45685>
151. Ben-Bassat J, Peretz E, Sulman FG. Analgesimetry and ranking of analgesic drugs by the receptacle method. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*. **1959**;122:434–47.
152. Bielsa-Fernandez MV, Tamayo-de la Cuesta JL, Lizarraga-Lopez J, Remes-Troche JM, Carmona-Sanchez R, Aldana-Ledesma JM, Avendano-Reyes JM, Ballesteros-Amozorrutia MA, De Arino M, de Giau-Triulzi L, Flores-Rendon R, Huerta-Guerrero H, Gonzalez-Gonzalez JA, Hernandez-Guerrero A, Murcio-Perez E, Jaquez-Quintana JO, Meixueiro-Daza A, Nogueira-de Rojas JR, Rodriguez-Hernandez H, Santoyo-Valenzuela R, Solorzano-Olmos SC, Uscanga-Dominguez LF, Zamarripa-Dorsey F. The Mexican consensus on the diagnosis, treatment, and prevention of NSAID-induced gastropathy and enteropathy. *Revista de Gastroenterologia de Mexico*. **2020**;85(2):190–206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rgmexen.2019.11.001>
153. Bjarnason I, Scarpignato C, Holmgren E, Olszewski M, Rainsford KD, Lanas A. Mechanisms of damage to the gastrointestinal tract from nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterology*. **2018**;154(3):500–14. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.10.049>
154. Bjarnason I, Takeuchi K. Intestinal permeability in the pathogenesis of NSAID-induced enteropathy. *Journal of Gastroenterology*. **2009**;44:23–9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00535-008-2266-6>
155. Blackler RW, Gemici B, Manko A, Wallace JL. NSAID-gastroenteropathy: new aspects of pathogenesis and prevention. *Current Opinion in Pharmacology*. **2014**;19:11–6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.05.008>
156. Blackler RW, Palma GDe, Manko A, Da Silva GJ, Flannigan KL, Bercik P, Surette MG, Buret AG, Wallace JL. Deciphering the pathogenesis of NSAID enteropathy using proton pump inhibitors and a hydrogen sulfide-releasing NSAID. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. **2015**;308:994–1003. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00066.2015>
157. Bligh EG, Dyer WI. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. **1959**;37(8):911–7.
158. Cassaro M, Rugge M, Tieppo C, Giacomelli L, Velo D, Nitti D, Farinati F. Indefinite for non-invasive neoplasia lesions in gastric intestinal metaplasia: the

- immunophenotype. *Journal of Clinical Pathology*. **2007**;60(6):615–21. DOI: <http://doi.org/10.1136/jcp.2006.040386>
159. Castellsague J, Riera-Guardia N, Calingaert B, Varas-Lorenzo C, Fourrier-Reglat A, Nicotra F, Sturkenboom M, Perez-Gutthann S. Safety of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (SOS) Project. Individual NSAIDs and upper gastrointestinal complications: a systematic review and meta-analysis of observational studies (the SOS project). *Drug Safety*. **2012**;1.35(12):1127–46. DOI: <http://doi.org/10.2165/11633470-000000000-00000>
 160. Chen Y, Xu W, Yang H, Shao M, Xu S, Deng J, Gao X, Liu H, Shuai Z, Xu S, Pan F. Serum Levels of Hecpidin in Rheumatoid Arthritis and Its Correlation with Disease Activity and Anemia: A Meta-analysis. *Immunological Investigations*. **2021**;50(2–3):243–58. DOI: <https://doi.org/10.1080/08820139.2020.1742731>
 161. Chuan-Guo G, Wai KL. Potential strategies in the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drugs-associated adverse effects in the lower gastrointestinal tract. *Gut Liver*. **2020**;14(2):179–89. DOI: <https://doi.org/10.5009/gnl19201>
 162. Colucci R, Pellegrini C, Fornai M, Tirota E, Antonioli L, Renzulli C, Ghelardi E, Piccoli E, Gentile D, Benvenuti L, Natale G. Pathophysiology of NSAID-associated intestinal lesions in the rat: luminal bacteria and mucosal inflammation as targets for prevention. *Frontiers in pharmacology*. **2018**;9:1–14. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01340>
 163. Cornicelli JA, Kaimal V. Rheumatoid arthritis: preclinical imaging therapeutic potential. *European Pharmaceutical Contractor*. **2011**;11: 149. Режим доступа: <http://www.samedanltd.com/magazine/11/issue/149/article/2898>
 164. Dillon CT, Hambley TW, Kennedy BJ. et al. Gastrointestinaltoxicity, antiinflammatory activity, and superoxide dismutaseactivity of copper and zinc complexes of the antiinflammatorydrug indomethacin. *Chemical Research in Toxicology*. **2003**;16:28–37. DOI: <https://doi.org/10.1021/tx020078o>
 165. Domotor A. Capsaicin-sensitive afferentation and human gastrointestinal tract. Dissertation. Pecs. **2014**. 66 p.
 166. Donati M, Conforti A, Lenti MC, Capuano A, Bortolami O, Motola D, Moretti U, Vannacci A, Rafaniello C, Vaccheri A, Arzenton E, Bonaiuti R, Sportiello L, Leone R; DILI-IT Study Group. Risk of acute and serious liver injury associated to nimesulide and other NSAIDs: data from drug-induced liver injury case-control study in Italy. *British Journal of Clinical Pharmacology*. **2016**;82(1):238–48. DOI: <https://doi.org/doi:10.1111/bcp.12938>
 167. Endo H, Sakai E, Kato T. et al. Small bowel injury in low-dose aspirin users. *Journal of Gastroenterology*. **2015**;50:378–86. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00535-014-1028-x>
 168. Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnanian S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. **2000**;43(1):11–4. DOI: [http://doi.org/10.1016/s1056-8719\(00\)00089-7](http://doi.org/10.1016/s1056-8719(00)00089-7)
 169. Fornai M, Colucci R, Antonioli L. Effects of esomeprazole on healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers in the presence of a continued NSAID treatment: Characterization of molecular mechanisms. *Pharmacological Research*. **2011**;63(1):59–67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.10.013>

170. Freund J. Some aspects of active immunization. *Annual Review of Microbiology*. **1947**;1:291–308.
171. Frias B, Merighi A. Capsaicin, nociception and pain. *Molecules*. **2016**;21(6)797:1–33. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21060797>
172. Fukushima K, Aoi Y, Kato S, Takeuchi K. Gastro-protective action of lafutidine mediated by capsaicin-sensitive afferent neurons without interaction with TRPV₁ and involvement of endogenous prostaglandins. *World Journal of Gastroenterology*. **2006**;12(19):3031–7. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i19.3031>
173. Garcia Rodriguez LA, Barreales Tolosa L. Risk of upper gastrointestinal complications among users of traditional NSAIDs and COXIBs in the general population. *Gastroenterology*. **2007**;132(2):498–506. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.12.007>
174. Garg A, Shoeb A, Subramanya Moodahadu L, Sharma A, Gandhi A, Akku S. Amtolmetin: a reappraisal of NSAID with gastroprotection. *Hindawi Publishing Corporation. Arthritis*. **2016**; Article ID: 7103705:1–5. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/7103705>
175. Gemici B, Elsheikh W, Feitosa K.B, Costa SK, Muscara MN, Wallace JL. H₂S-releasing drugs: anti-inflammatory, cytoprotective and chemopreventative potential. *Nitric Oxide*. **2015**;46:25–31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.11.010>
176. Geppetti P, Holzer P. Neurogenic Inflammation. CRC Press Inc., U.S., London. **1996**. 338 p.
177. Geppetti P, Trevisani M. Activation and sensitisation of the vanilloid receptor: role in gastrointestinal inflammation and function. *British Journal of Pharmacology*. **2004**;141:1313–20. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705768>
178. Gromova OA, Torshin IYu, Dibrova EA, Karimova IM, Gilels AV, Kustova EV. World-wide experience of the use of placental extracts: results of clinical and experimental studies. Review. *Plastic Surgery and Cosmetology*. **2011**;(3):385–576.
179. Grosser T, Ricciotti E, Fitz Gerald GA. The cardiovascular pharmacology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Trends in Pharmacological Sciences*. **2017**;38(8):733–48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2017.05.008>
180. Gulmez SE, Larrey D, Pageaux GP, Lignot S, Lassalle R, Jove J, Gatta A, McCormick PA, Metselaar HJ, Monteiro E, Thorburn D, Bernal W, Zouboulis-Vafiadis I, de Vries C, Perez-Gutthann S, Sturkenboom M, Benichou J, Montastruc JL, Horsmans Y, Salvo F, Hamoud F, Micon S, Droz-Perroteau C, Blin P, Moore N. Transplantation for acute liver failure in patients exposed to NSAIDs or paracetamol (acetaminophen): the multinational case-population SALT study. *Drug Safety*. **2013**;36(2):135–44. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40264-012-0013-7>
181. He Z, Wei G, Li N, Niu M, Gong S, Wu G, Wang T, Jiang Y, Chen P. Correction to: CCR2 and CCR5 promote diclofenac-induced hepatotoxicity in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. **2020**;393(9):1777–8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00210-020-01909-y>
182. Helyes Z, Szabo A, Nemeth J, Jakab B, Pinter E, Banvolgyi A, Kereskai L, Keri G, Szolcsanyi J. Antiinflammatory and analgesic effects of somatostatin released from capsaicin-sensitive sensory nerve terminals in a Freund's adjuvant-induced

- chronic arthritis model in the rat. *Arthritis and Rheumatology*. **2004**; 5(5):1677–85. DOI: <https://doi.org/10.1002/art.20184>
183. Hladkykh FV, Chyzh MO, Manchenko AO, Belochkina IV, Mikhailova IP. Effect of cryopreserved placenta extract on some biochemical indices of therapeutic efficiency and toxicity of diclofenac sodium in adjuvant-induced experimental arthritis. *Pharmacy and Pharmacology*. **2021**;9(4):278–93. DOI: <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-278-293>
184. Hladkykh FV. The characteristics of the mechanisms of anti-ulcerogenic action of vanilloid receptor agonists (TRPV₁) on the model of gastropathy induced by acetylsalicylic acid. *Pharmacy and pharmacology*. **2017**;5(3):283–301. DOI: <http://doi.org/10.19163/2307-9266-2017-5-3-283-301>.
185. Hladkykh FV. The effect of meloxicam and cryopreserved placenta extract on initial inflammatory response (an experimental study). *Ceska a Slovenska Farmacie*. **2021**; 70 (5): 179–85.
186. Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience*. **1988**;24:739–68. DOI: [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90064-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90064-4)
187. Holzer P. Neural emergency system in the stomach. *Gastroenterology*. **1998**; 114: 823–39. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(98\)70597-9](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(98)70597-9)
188. Holzer P. Transient receptor potential (TRP) channels as drug targets for diseases of the digestive system. *Pharmacology and Therapeutics*. **2011**;131(1):142–70. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.03.006>
189. Horie S, Yamamoto H, Michael GJ, Uchida M, Belai A, Watanabe K, Priestley JV, Murayama T. Protective role of vanilloid receptor type 1 in HCL-induced gastric mucosal lesions in rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. **2004**;4:303–12. DOI: <https://doi.org/10.1080/00365520103008647>
190. Jancso N, Jancso-Gabor A, Szolcsanyi J. Direct evidence for neurogenic inflammation and its prevention by denervation and by pretreatment with capsaicin. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*. **1967**;31(1):138–51. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1967.tb01984.x>
191. Jarosz M, Szkaradek N, Marona H, Nowak G, Młyniec K, Librowski T. Received: Evaluation of anti-inflammatory and ulcerogenic potential of zinc-ibuprofen and zinc-naproxen complexes in rats. *Inflammopharmacol*. **2017**;25(6):653–63. DOI: <http://doi.org/10.1007/s10787-017-0361-0>
192. Johansson ME, Sjovall H, Hansson GC. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. **2013**;10(6):352–61. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.35>
193. Jung SH, Lee W, Park SH, Lee KY, Choi YJ, Choi S, Kang D, Kim S, Chang TS, Hong SS, Lee BH. Diclofenac impairs autophagic flux via oxidative stress and lysosomal dysfunction: Implications for hepatotoxicity. *Redox Biology*. **2020**;37:101751. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101751>
194. Kang JY, Teng CH, Wee A, Chen FC. Effect of capsaicin and chilli on ethanol induced gastric mucosal injury in the rat. *Gut*. **1995**;36(5):664–9. DOI: <https://doi.org/10.1136/gut.36.5.664>
195. Kasciuskeviciute S, Gumbrevicius G, Vendzelyte A, Sciupokas A, Petrikonis K, Kadusevicius E. Impact of the World Health Organization pain treatment

- guidelines and the European medicines agency safety recommendations on nonsteroidal anti-inflammatory drug use in Lithuania: an observational study. *Medicina*. **2018**;54(2):30(1–30). DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina54020030>
196. Koopman GP, Kennis HM. Two methods to assess the gastro-intestinal transit-time in mice. *Archiv fur Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*. **1977**;19(5):298–300.
 197. Laidlaw TM, Cahill KN. Current knowledge and management of hypersensitivity to aspirin and NSAIDs. *The Journal of Allergy and Clinical immunology: in practice*. **2017**;5(3):537–45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.10.021>
 198. Laraucha M, Antona PM, Peirob G, Eutamene H, Buena L, Fioramonti J. Role of capsaicin sensitive afferent nerves in different models of gastric inflammation in rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical*. **2004**;110: 89–97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2003.11.003>
 199. Lee SP, Lee J, Kae SH, Jang HJ, Jung ES. Effect of Nonsteroidal Anti-inflammatory Agents on Small Intestinal Injuries as Evaluated by Capsule Endoscopy. *Digestive Diseases and Sciences*. **2021**;66(8):2724–31. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06511-z>
 200. Lichtenberger LM, Zhou Y, Dial EJ, Raphael RM. NSAID injury to the gastrointestinal tract: evidence that NSAIDs interact with phospholipids to weaken the hydrophobic surface barrier and induce the formation of unstable pores in membranes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **2006**;58(11):1421–8. DOI: <http://doi.org/10.1211/jpp.58.10.0001>
 201. Lim YJ, Lee JS, Ku YS, Hahm KB. Rescue strategies against non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastroduodenal damage. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. **2009**;24:1169–78. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2009.05929.x>
 202. Lim YJ, Yang CH. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy. *Clinical Endoscopy*. **2012**;45:138–44. DOI: <https://doi.org/10.5946/ce.2012.45.2.138>
 203. Liu W, Morschauser A, Zhang X, Lu X, Gleason J, He S, Chen HJ, Jankovic V, Ye Q, Labazzo K, Herzberg U. Human placenta-derived adherent cells induce tolerogenic immune responses. *Clinical and translational immunology*. **2014**;3(5):e14. DOI: <https://doi.org/10.1038/cti.2014.5>
 204. Magierowski M, Magierowska K, Kwiecien S, Brzozowski T. Gaseous mediator's nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal integrity, protection and ulcer healing. *Molecules*. **2015**;20:9099–123. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules20059099>
 205. Maiden L. Capsule endoscopic diagnosis of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy. *Journal of Gastroenterology*. **2009**;44(19):64–71. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00535-008-2248-8>
 206. Maity P, Bindu S, Dey S, Goyal M, Alam A, Pal C, Mitra K, Bandyopadhyay U. Indomethacin, a non-steroidal anti-inflammatory drug, develops gastropathy by inducing reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathology and associated apoptosis in gastric mucosa: a novel role of mitochondrial aconitase oxidation. *Journal of Biological Chemistry*. **2009**;284(5):3058–68. DOI: <http://doi.org/10.1074/jbc.M805329200>

207. Malek N, Pajak A, Kolosowska N, Kucharczyk M, Starowicz K. The importance of TRPV₁-sensitisation factors for the development of neuropathic pain. *Molecular and Cellular Neuroscience*. **2015**;65:1–10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2015.02.001>
208. Marlicz W, Loniewski I, Grimes DS, Quigley EM. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, proton pump inhibitors, and gastrointestinal injury: contrasting interactions in the stomach and small intestine. *Mayo Clinic Proceedings*. **2014**;89(12):1699–709. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.07.015>
209. Marsico F, Paolillo S, Filardi PP. NSAIDs and cardiovascular risk. *Journal of Cardiovascular Medicine (Hagerstown)*. **2017**;18(1):40–43. DOI: <https://doi.org/10.2459/JCM.0000000000000443>
210. Mc Intyre JA, Jones IA, Danilkovich A, Vangsness Jr CT. The placenta: applications in orthopaedic sports medicine. *The American journal of sports medicine*. **2018**;46(1):234–47. DOI: <https://doi.org/10.1177/0363546517697682>
211. Mersereau WA, Hinchey EJ. Prevention of phenylbutazone ulcer in the rat by glucose: role of a glycoprivic receptor system. *American Journal of Physiology*. **1982**;242:429–32. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1982.242.4.G429>
212. Mizuguchi S, Ohno T, Hattori Y, Kamata K, Arai K, Saeki T, Saigenji K, Hayashi I, Kuribayashi Y, Majima M. Calcitonin gene-related peptide released by capsaicin suppresses myoelectrical activity of gastric smooth muscle. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. **2005**;20(4):611–8. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2004.03764.x>
213. Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology*. **2006**;147(1):193–201. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706458>
214. Motta JP, Flannigan KL, Agbor TA, Beatty JK, Blackler RW, Workentine ML, Da Silva GJ, Wang R, Buret AG, Wallace JL. Hydrogen sulfide protects from colitis and restores intestinal microbiota biofilm and mucus production. *Inflammatory Bowel Diseases*. **2015**;21(5):1006–17. DOI: <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000345>
215. Mozsik G, Abdel-Salam O, Takeuchi K. Capsaicin – sensitive neural afferentation and the gastrointestinal tract: from bench to bedside. Croatia: InTech. **2014**. 320 p.
216. Mozsik G. Capsaicin as a new orally applicable gastroprotective and therapeutic drug alone or in combination in human healthy subjects and in patients. *Progress in Drug Research*. **2014**;68:209–58. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-0348-0828-6_9
217. Musumba C, Pritchard DM, Pirmohamed M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. **2009**;30:517–31. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04086.x>
218. Nanjundiah SM, Astry B, Moudgil KD. Mediators of inflammation-induced bone damage in arthritis and their control by herbal products. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. **2013**;518094. DOI: <https://www.doi.org/10.1155/2013/518094>

219. Pan SY, Chan MKS, Wong MBF, Klokol D, Chernykh V. Placental therapy: An insight to their biological and therapeutic properties. *Journal of Medicine and Therapeutics*. **2017**;1(3):1–6. DOI: <http://doi.org/10.15761/JMT.1000118>
220. Perez-Aisa A, Castro M, Munoz M. Risk of upper and lower gastrointestinal bleeding in patients taking nonsteroidal anti-inflammatory drugs, antiplatelet agents, or anticoagulants. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. **2015**;13:906–12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.11.007>
221. Randall L, Selitto J. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives of International Pharmacodynamics*. **1957**;111:409–19.
222. Romac J, Liddle RA. Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV₁). *Pancreapedia: Exocrine Pancreas Knowledge Base*. **2012**. DOI: <https://doi.org/10.3998/panc.2012.11>
223. Ruiz-Pulido G, Medina DI. An overview of gastrointestinal mucus rheology under different pH conditions and introduction to pH-dependent rheological interactions with PLGA and chitosan nanoparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **2021**;159:123–36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.12.013>
224. Sahebari M, Rezaieyazdi Z, Hashemy SI, Khorasani S, Shahgordi S, Alizadeh MK, Ghaeni A, Khodashahi M. Serum hepcidin level and rheumatoid arthritis disease activity. *European Journal of Rheumatology*. **2018**;6(2):76–80. DOI: <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2018.18114>
225. Sato H, Takai C, Kazama JJ, Wakamatsu A, Hasegawa E, Kobayashi D, Kondo N, Nakatsue T, Abe A, Ito S, Ishikawa H, Kuroda T, Suzuki Y, Narita I. Serum hepcidin level, iron metabolism and osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis. *Scientific Reports*. **2020**;10(1):9882. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66945-3>
226. Satoh H, Akiba Y, Urushidani T. Proton Pump Inhibitors Prevent Gastric Antral Ulcers Induced by NSAIDs via Activation of Capsaicin-Sensitive Afferent Nerves in Mice. *Digestive Diseases and Sciences*. **2020**;65(9):2580–94. DOI: <https://www.doi.org/10.1007/s10620-020-06157-x>
227. Satoh H, Takeuchi K. Management of NSAID/aspirin-induced small intestinal damage by GI-sparing NSAIDs, anti-ulcer drugs and food constituents. *Current Medicinal Chemistry*. **2012**;19(1):82–9.
228. Scheiman J, Hindley C. Strategies to optimize treatment with NSAIDs in patients at risk for gastrointestinal and cardiovascular adverse events. *Clinical Therapeutics*. **2010**;32(4):667–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2010.04.009>
229. Scheiman J. NSAID-induced Gastrointestinal Injury: A focused update for clinicians. *Journal of Clinical Gastroenterology*. **2016**;50(1):5–10. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000432>
230. Schicho R, Krueger D, Zeller F, Hann CW, Weyhern V, Frieling T, Kimura H, Ishii I, Giorgio De R, Campi B, Schemann M. Hydrogen sulfide is a novel prosecretory neuromodulator in the Guinea-pig and human colon. *Gastroenterology*. **2006**;131:1542–52. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.08.035>

231. Schjerning AM, McGettigan P, Gislason G. Cardiovascular effects and safety of (non-aspirin) NSAIDs. *Nature Reviews Cardiology*. **2020**;17(9):574–84. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0366-z>
232. Shaikh Omar OA, Bukhari HM, El Sawy NA. Efficacy of capsicum frutescens in curing the peptic ulcer. *International Journal of Pure and Applied Sciences and Technology*. **2013**;15(1):43–54.
233. Sharma SK, Vij AS, Sharma M. Mechanisms and clinical uses of capsaicin. *European Journal of Pharmacology*. **2013**;720(1–3):55–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.10.053>
234. Shay H, Komarov S, Fels SS, Meranze D, Gruenshtein M, Siplet H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology*. **1945**;5:43–61.
235. Shepitko KV. Application of cryopreserved placenta preparations in the small intestine pathologies in rats for their further use in exigent conditions. *Bulletin of problems biology and medicine*. **2019**;4(154):56–61. DOI: <http://doi.org/10.29254/2077-4214-2019-4-2-154-56-61>
236. Shin SJ, Noh CK, Lim SG, Lee KM, Lee KJ. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy. *Intestinal research*. **2017**;15(4):446–55. DOI: <https://doi.org/10.5217/ir.2017.15.4.446>
237. Singh DP, Borse SP, Nivsarkar M. Co-administration of quercetin with pantoprazole sodium prevents NSAID-induced severe gastroenteropathic damage efficiently: Evidence from a preclinical study in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*. **2017**;69(1):17–26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etp.2016.10.004>
238. Singh G, Triadafilopoulos G. Epidemiology of NSAID induced gastrointestinal complications. *The Journal of Rheumatology*. **1999**, Suppl 56:18–24.
239. Sinha M, Gautam L, Shukla PK, Kaur P, Sharma S, Singh TP. Current perspectives in NSAID-induced gastropathy. *Mediators of Inflammation*. **2013**;2013:258209. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/258209>
240. Stepanuk NG. Characteristics of the protective effect of quercetin and its water-soluble form of corvutin in a model of diclofenac-induced gastropathy. *Georgian Med News*. **2019**;(296):140–4.
241. Svetashev VI, Vaskovsky VE. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. *Journal of Chromatography*. **1972**.67:376–8.
242. Szabo IL, Czimmer J, Mozsik G. Cellular energetical actions of "chemical" and "surgical" vagotomy in gastrointestinal mucosal damage and protection: similarities, differences and significance for brain-gut function. *Current Neuropharmacology*. **2016**;14(8):901–13. DOI: <https://doi.org/10.2174/1570159X14666160719121725>
243. Szeto CC, Sugano K, Wang JG, Fujimoto K, Whittle S, Modi GK, Chen CH, Park JB, Tam LS, Vareesangthip K, Tsoi KK. Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) therapy in patients with hypertension, cardiovascular, renal or gastrointestinal comorbidities: joint APAGE/APLAR/APSDE/APSH/APSN/PoA recommendations. *Gut*. **2020**;69(4):617–29. DOI: <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-319300>

244. Tai FW, McAlindon ME. NSAIDs and the small bowel. *Current Opinion in Gastroenterology*. **2018**;34(3):175–82. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000427>
245. Takagi K, Okabe S, Saziki R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *Japanese Journal of Pharmacology*. **1969**;19(3):418–26. DOI: <http://doi.org/10.1254/jjp.19.418>
246. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, Takaoka A, Yokochi T, Oda H, Tanaka K, Nakamura K, Taniguchi T. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. *Nature*. **2000**;408.6812:600–5. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/35046102>
247. Takeuchi K. Pathogenesis of NSAID-induced gastric damage: Importance of cyclooxygenase inhibition and gastric hypermotility. *World Journal of Gastroenterology*. **2012**;14(18):2147–60. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i18.2147>
248. Tkach S, Onischuk L, Balabantseva A. Efficacy and safety of Rebamipide in prevention of NSAID-gastropathy. *International Journal of Biomedicine*. **2017**;7(1):57–9. DOI: [https://doi.org/10.21103/Article7\(1\)_ShC1](https://doi.org/10.21103/Article7(1)_ShC1)
249. Van der Heijde D. Radiographic imaging: «gold standard» for assessment of disease progression in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. **2000**;39:9–16. DOI: <https://www.doi.org/10.1038/35046102>
250. Vaskovsky VE, Kostetsky EY, Vasendin IM. A universal reagent for phospholipid analysis. *Journal of Chromatography*. **1975**;114:129–41.
251. Wallace JL, Caliendo G, Santagada V, Cirino G. Markedly reduced toxicity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of naproxen (ATB-346). *British Journal of Pharmacology*. **2010**;159:1236–46. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00611.x>
252. Wallace JL, Wang R. Hydrogen sulfide-based therapeutics: exploiting a unique but ubiquitous gasotransmitter. *Nature Reviews Drug Discovery*. **2015**;14:329–45. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd4433>
253. Wallace JL. Mechanisms, prevention and clinical implications of nonsteroidal anti-inflammatory drug-enteropathy. *World Journal of Gastroenterology*. **2013**;19:1861–76. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i12.1861>
254. Wallace JL. NSAID gastropathy and enteropathy: distinct pathogenesis likely necessitates distinct prevention strategies. *British Journal of Pharmacology*. **2012**;165(1):67–74. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01509.x>
255. Wallace JL. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? *Physiological Reviews*. **2008**;88:1547–65. DOI: <http://doi.org/10.1152/physrev.00004.2008>
256. Warzecha Z, Dembinski A, Ceranowicz P, Dembinski M, Cieszkowski J, Kownacki P, Konturek PC. Role of sensory nerves in gastroprotective effect of anandamide in rats. *Journal of physiology and pharmacology*. **2011**; 62(2):207–17.
257. Watanabe T, Higuchi K, Kobata A, Nishio H, Tanigawa T, Shiba M, Tominaga K, Fujiwara Y, Oshitani N, Asahara T, Nomoto K, Takeuchi K, Arakawa T. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal

- damage is Toll like receptor 4 dependent. *Gut*. **2008**;57:181–187. DOI: <http://doi.org/10.1136/gut.2007.125963>
258. Wei Xie, Xielin Huang, Renpin Chen, Ruru Chen, Tang Li, Wei Wu, Huang Z. Esomeprazole alleviates the damage to stress ulcer in rats through not only its antisecretory effect but its antioxidant effect by inactivating the p38 MAPK and NF- κ B signaling pathways. *Drug Design, Development and Therapy*. **2019**;22(13):2969–84. DOI: <http://doi.org/10.2147/DDDT.S193641>
259. Xianfeng X, Kai FC, Gerald Tsz YW. et al. Mesenchymal stem cells promote healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug-related peptic ulcer through paracrine actions in pigs. *Science Translational Medicine*. **2019**;11(516):1–14. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aat7455>
260. Yaguchi J, Yaguchi S. Evolution of nitric oxide regulation of gut function. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. **2019**;116(12):5607–12. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1816973116>
261. Yamamoto H, Horie S, Uchida M, Tsuchiya S, Murayama T, Watanabe K. Effects of vanilloid receptor agonists and antagonists on gastric antral ulcers in rats. *European Journal of Pharmacology*. **2001**;432: 203–10. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)01481-9](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)01481-9)
262. Yarushkina NI, Sudalina MN, Punin YM, Filaretova LP. Vulnerability of gastric and small intestinal mucosa to ulcerogenic action of indomethacin in C57/BL6/J mice and transient receptor potential channel vanilloid type 1 knockout mice. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **2018**;69(6):951–61. DOI: <https://www.doi.org/10.26402/jpp.2018.6.09>
263. Zaghlool SS, Shehata BA, Abo-Seif AA, Abd El-Latif HA. Protective effects of ginger and marshmallow extracts on indomethacin-induced peptic ulcer in rats. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*. **2015**;6(2):421–8. DOI: <https://doi.org/10.4103/0976-9668.160026>
264. Zanardo RC, Brancaleone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace J.L. Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*. **2006**;20:2118–20.
265. Zanellato I, Bonarrigo I, Ravera M, Gabano E, Gust R, Osella D. The hexacarbonyldicobalt derivative of aspirin acts as a CO-releasing NSAID on malignant mesothelioma cells. *Metallomics*. **2013**;5:1604–13. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3mt00117b>
266. Zayachkivska OS, Konturek SJ, Drozdowicz D, Konturek PC, Brzozowski T. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extracts. *Journal of Physiology and Pharmacology*. **2005**; 56(1):219–31.
267. Zayachkivska OS, Bula NS, Pavlovskiy YaI, Pshyk-Titko IO, Gavriliuk O.M, Grushka OI, Wallace JL. Effect of hydrogen sulfide-releasing aspirin on esophageal and gastric mucosa compromised by stress injury. *Ukrainian Biochemical Journal*. **2017**;89:93–101. DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj89.si01.093>
268. Zupanets IA, Shebeko SK, Popov OS, Shalamay AS. Diclofenac is superior to diclofenac sodium and quercetin in normalizing biochemical parameters in rats with collagen-induced osteoarthritis. *Inflammopharmacology*. **2016**;24(1):53–7. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10787-015-0258-8>

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

АМГ	– амтолметину гуацил
АсАТ	– аспаратамінотрансфераза
АА	– ад'ювантний артрит
АаД	– антиальтеративна дія, %
АЕ	– антиексудативний ефект
АК	– арахідонова кислота
АлАТ	– аланінамінотрансфераза
Ана	– аналгетична активність, %
АНцА	– антиноцицептивна активність, %
АОС	– антиоксидантна система
АПА	– антипроліферативна активність, %
АПІ	– антиоксидантно-прооксидантний індекс
АСК	– ацетилсаліцилова кислота
в/м	– внутрішньом'язово
в/шл	– внутрішньошлунково
ВІ	– виразковий індекс
ГГТП	– гама-глутамілтраспептидаза
ГДЗ	– гастродуоденальна зона
ДН	– диклофенак натрію
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ДПК	– дванадцятипала кишка
ЕГЕКП	– езофагогастроентероколонопатія
ЗБ	– загальний білок
ІБП	– ібупрофен
ІГХ	– імуногістохімія
ІІ	– індекс інвалідності, ум. од.
ІІ	– інтерлейкіни
ІНД	– індометацин
ІІІ	– індекс проліферації за Ki-67
ІПКіК	– Інститут проблем кріобіології і кріомедицини
ІПП	– інгібітори протонної помпи
ІПС	– індекс переносимості
КЕП	– кріоконсервований екстракт плаценти
КПКТ	– конусно-променева комп'ютерна томографія
ЛД ₅₀	– летальна доза для 50,0 % тварин
ЛЗ	– лікарські засоби
ЛОГ	– ліпооксигеназа

ЛПБР	– латентний період больової реакції, с
ЛТ	– лейкотрієни
ЛФ	– лужна фосфатаза
МДА	– малоновий діальдегід
Me	– медіана
МКС	– мелоксикам
МОЗ	– Міністерство охорони здоров'я України
НДА	– низькі дози ацетилсаліцилової кислоти
НПЗЗ	– нестероїдні протизапальні засоби
ОШС	– одиниць пекучості за шкалою Сковіла
п/ш	– підшкірно
ПА	– перистальтична активність, %
ПАТ	– приватне акціонерне товариство
ПАФ	– повний ад'ювант Фрейнда
ПБЧ	– поріг больової чутливості, Вольти або грами
ПВА	– противиразкова активність, %
ПГ	– простагландини
ПЗА	– протизапальна активність, %
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів
р/д	– раз на день
РА	– ревматоїдний артрит
РЕ	– репаративний ефект
РНК	– рибонуклеїнова кислота
СнО	– синовіальна оболонка
СО	– слизова оболонка
СОД	– супероксиддисмутаза
СОШ	– слизова оболонка шлунка
С-РБ	– С-реактивний білок
ССС	– серцево-судинна система
T _{1/2}	– час напіврозпаду
ТБ	– тканинні базофіли
ТхА ₂	– тромбоксан А ₂
УД ₅₀	– ульцерогенна доза для 50,0 % тварин
ФНП-α	– фактор некрозу пухлин-α
ЦОГ	– циклооксигеназа
ЦНС	– центральна нервова система
ШИК р-я	– реакція з реактивом Шиффа та йодною кислотою
ШКТ	– шлунково-кишковий тракт
ШОЕ	– швидкість зсідання еритроцитів
ЩКТ	– щільність кісткової тканини
95 % ДІ:	– 95 % довірчий інтервал
H ₂ S	– гідроген сульфід
HCl	– хлористоводнева (соляна) кислота
HU	– одиниці Хаунсфілда (Hounsfield units)
LQ	– верхня межа нижнього квартиля
NO	– монооксид нітрогену
TRPV ₁	– transient receptor potential vanilloid 1
UQ	– нижня межа верхнього квартиля

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	3
ГЛАВА 1	
НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ В ПРАКТИЧНІЙ МЕДИЦИНІ: ЛІКУВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ, НЕБАЖАНІ ЕФЕКТИ ТА ПІДХОДИ ДО ЇХ ПОСЛАБЛЕННЯ	6
1.1 Нестероїдні протизапальні засоби в практичній охороні здоров'я: фокус на співвідношення «користь – ризик».....	6
1.2 Патогенетичні механізми ульцерогенної дії НПЗЗ та сучасні підходи до її послаблення.....	15
1.3 Модуляція «ефекторної функції» аферентних терміналей <i>n. vagus</i> як шлях реалізації гастропротективної дії агоністів ванілоїдних рецепторів.....	31
1.4 Політропність біологічних ефектів екстракту кріоконсервованої плаценти в світлі патогенетичних ланок НПЗЗ-індукованого ульцерогенезу.....	39
ГЛАВА 2	
ВПЛИВ АКТИВАЦІЇ ВАНІЛОЇДНИХ РЕЦЕПТОРІВ НА ФАРМАКОДИНАМІКУ АЦЕТИЛСАЛЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА ІБУПРОФЕНУ	44
2.1 Механізми антиульцерогенної дії агоністів ванілоїдних рецепторів на моделі гастропатії, індукованої ацетилсаліциловою кислотою.....	44
2.2 Оцінка ефективності лікування експериментального ревматоїдного артриту ібупрофеном та його комбінацією з вінбороном за даними конусно-променевої комп'ютерної томографії, цифрової рентгенографії та патоморфологічних досліджень.....	52

ГЛАВА 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВИРАЗКОВОЇ ДІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ

ПРИ НПЗЗ-ІНДУКОВАНОМУ УШКОДЖЕННІ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У ЩУРІВ..... 76

- 3.1 Характеристика виразності антиульцерогенної дії
КЕП при езофагогастроентероколонопатії,
індукованій НПЗЗ різних хімічних груп..... 83
- 3.1.1 Макроскопічна оцінка впливу КЕП на стан
слизової оболонки травного тракту щурів на тлі
індометацин-індукованого ульцерогенезу..... 83
- 3.1.2 Характеристика впливу КЕП та дії низьких
температур на стан слизової оболонки травного
тракту щурів на моделі диклофенак натрій-
індукованого ульцерогенезу..... 87
- 3.1.3 Дослідження впливу КЕП на стан слизової
оболонки травного тракту щурів на тлі мелоксикам-
індукованого ульцерогенезу..... 97
- 3.1.4 Вивчення впливу КЕП на стан слизової
оболонки травного тракту щурів на моделі
ібупрофен-індукованого ульцерогенезу..... 101
- 3.1.5 Макроскопічна характеристика впливу КЕП
слизової оболонки травного тракту щурів на тлі
ульцерогенезу, індукованого ацетилсаліциловою
кислотою..... 106
- 3.2 Оцінка впливу диклофенаку натрію та КЕП за їх
комбінованого застосування на морфоструктурний
стан слизової оболонки шлунка щурів за даними
патоморфологічного дослідження..... 110
- 3.3 Дослідження шлункової секреції щурів на тлі
застосування диклофенаку натрію та мелоксикаму за
їх нарізного введення з КЕП..... 116
- 3.4 Дослідження впливу диклофенаку натрію та
мелоксикаму за їх нарізного введення з КЕП на
моторно-евакуаторні процеси шлунково-кишкового
тракту щурів..... 120

ГЛАВА 4

ОЦІНКА ВПЛИВУ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ НА ОКРЕМІ КЛАС- СПЕЦИФІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НПЗЗ

(ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ, ІБУПРОФЕНУ ТА МЕЛОКСИКАМУ)..... 123

- 4.1 Вивчення впливу КЕП на антиальтеративну
активність мелоксикаму..... 124
- 4.2 Оцінка впливу КЕП антиексудативну активність
диклофенаку натрію..... 129

4.2.1	Онкометрична характеристика антиексудативної активності КЕП та диклофенаку натрію на моделі карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів.....	131
4.2.2	Онкометрична оцінка антиексудативної активності КЕП та диклофенаку натрію на моделі зимозанового набряку кінцівки у щурів.....	116
4.3	Дослідження впливу КЕП на антипроліферативну активність індометацину.....	139
4.4	Характеристика впливу КЕП на аналгетичну дію НПЗЗ.....	141

ГЛАВА 5	ДОСЛІДЖЕННЯ ТЕРАПЕВТИЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ТА БЕЗПЕЧНОСТІ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ ТА КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ РЕВМАТОЇДНОМУ АРТРИТІ У ЩУРІВ.....	143	
	5.1	Оцінка протизапальної та знеболюючої дій диклофенаку натрію при комбінованому застосуванні з КЕП на моделі ад'ювантного артриту у щурів.....	144
	5.2	Характеристика лікувального ефекту диклофенаку натрію та КЕП за динамікою гематологічних та біохімічних показників щурів з ад'ювантним артритом.....	154
	5.3	Оцінка впливу ДН та КЕП за їх комбінованого застосування на морфоструктурний стан СОШ щурів з АА за даними патоморфологічного дослідження.....	177

УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	182
--------------------------	------------

ЛІТЕРАТУРА.....	189
------------------------	------------

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ОДИНИЦЬ, ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	211
---	------------

Наукове видання

**ГЛАДКИХ
Федір Володимирович**

Hladkykh F. V.

**НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ:
ТЕРАПЕВТИЧНІ ТА НЕБАЖАНІ ЕФЕКТИ,
ШЛЯХИ ЇХ ОПТИМІЗАЦІЇ**

**NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS:
WAYS TO OPTIMIZE THERAPEUTIC AND SIDE EFFECTS**

Підписано до друку 17.01.2022
Формат 60×84/16 Папір офсетний.
Друк цифровий. Гарнітура *Minion Pro*
Друк. арк. 13,5. Ум. друк. арк. 12,56
Наклад 300 прим. Зам. № 142/1

Віддруковано з оригіналів замовника.

ФОП Корзун Д.Ю.

Свідоцтво про державну реєстрацію фізичної особи-підприємця
серія В02 № 818191 від 31.07.2002 р.

Видавець ТОВ «ТВОРИ».

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів
видавничої продукції серія ДК № 6188 від 18.05.2018 р.

21034, м. Вінниця, вул. Немирівське шосе, 62а.

Тел.: 0 (800) 33-00-90, (096) 97-30-934, (093) 89-13-852, (098) 46-98-043.

e-mail: info@tvoru.com.ua

<http://www.tvoru.com.ua>



ГЛАДКИХ Федір Володимирович – доктор філософії (PhD) в галузі охорони здоров'я за спеціальністю "Медицина" (кандидат медичних наук), молодший науковий співробітник групи променевої патології та паліативної медицини відділу радіології Державної установи «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва Національної академії медичних наук України».

Випускник Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова Міністерства охорони здоров'я України 2015 року. У 2021 р. закінчив достроковим захистом аспірантуру Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України. Пройшов спеціалізацію за фахом «Внутрішня медицина» та «Онкологія» на базі Харківської медичної академії післядипломної освіти Міністерства охорони здоров'я України.

Автор понад 130 наукових публікацій, та двох монографій. Учасник більш як 100 наукових заходів. Пріоритетність та конкурентоспроможність досліджень підтверджено шістьма патентами.

друкарня-видавництво

 **ТВОРИ**
творимо разом

ISBN 978-617-552-015-4



9 786175 520154

www.tvori.com.ua

ТЕРАПЕВТИЧНІ ТА НЕБАЖАНІ ЕФЕКТИ,
ШЛЯХИ ЇХ ОПТИМІЗАЦІЇ

ГЛАДКИХ Ф. В. НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ:


ТВОРИ