НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ
ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

ГЛАДКИХ Федір Володимирович

УДК: 615.361:615.451.1:618.46:57.086.13:615.276:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ

ЗАСТОСУВАННЯ КРІОЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ УЛЬЦЕРОГЕННОЇ ДІЇ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

222 – Медицина

Подається для здобуття наукового ступеня доктора філософії
в галузі знань «22 – Охорона здоров'я»

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Ф. В. Гладких
(Підпис здобувача) (Ініціали та прізвище)

Науковий керівник: **Чиж Микола Олексійович**,
кандидат медичних наук, старший дослідник

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Гладких Ф. В. Застосування кріоекстракту плаценти для корекції ульцерогенної дії нестероїдних протизапальних засобів (експериментальне дослідження). Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань «22 – Охорона здоров'я» (кандидата медичних наук) за спеціальністю «222 – Медицина». Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена експериментальному обґрунтуванню ефективності застосування кріоконсервованого екстракту плаценти (КЕП) з метою корекції ульцерогенної дії нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ).

На сьогоднішній день ульцерогенність НПЗЗ є ключовим фактором, який суттєво обмежує їх клінічне застосування та є серйозною медико-соціальною проблемою, оскільки ці препарати належать до найуживаніших лікарських засобів (ЛЗ) у світі.

Складність патогенезу НПЗЗ-індукованого ураження шлунково-кишкового тракту (ШКТ) обумовлює необхідність комплексного підходу до лікування цієї патології або застосування ЛЗ з полівекторним механізмом дії. Класично фармакотерапія зазначеної ятрогенної патології направлена на кислотосупресію (інгібітори протонної помри (ІПП), H_2-гістаміноблокатори та ін.), застосування гастроцитопротекторів (де-нол, сукральфат та ін.) та препаратів, які відновлюють вміст простагландинів (ПГ) у слизовій оболонці (СО), проте всі зазначені групи ЛЗ володіють власними побічними ефектами.

У якості засобу, здатного підвищувати стійкість СО ШКТ до ушкоджуючої дії НПЗЗ нашу увагу привернув вітчизняний біотехнологічний засіб – КЕП, який створено співробітниками Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (ІПКіК НАН України).

Проведені дослідження показали, що на тлі профілактичного введення противиразкова активність (ПВА) КЕП становила 69,1 % при гострій

індометацин (ІНД)-індукованій гастропатії (виразковий індекс (ВІ) = 3,5 та 1,08 відповідно у щурів контрольної групи та щурів, яким вводили КЕП). При гострій диклофенак натрій (ДН)-індукованій гастропатії ПВА КЕП становила 92,1 %, а виразкові дефекти слизової оболонки шлунка (СОШ) при застосуванні досліджуваного екстракту 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 мелоксикам (МКС)-індукованою гастропатією становила 100 %, проте виразкові ушкодження СОШ, викликані МКС виявлені тільки у 74,1 % щурів, в той час як всі інші досліджувані НПЗЗ викликали виразкування СОШ у 100 % тварин, що вказує на низький ульцерогенний потенціал вказаного НПЗЗ у шлунку.

Застосування КЕП у лікувально-профілактичному режимі супроводжувалось співставною ПВА на моделях субхронічних ібупрофен (ІБП)-індукованій та індукованій ацетилсаліциловою кислотою (АСК) гастропатіях і становила 72,8 % та 70,6 % відповідно.

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. Дослідження показали, що превентивне введення КЕП на обох моделях гострого ульцерогенезу призвело до 100 % нівлювання ентеротоксичної дії як ІНД так і ДН, що вказує його ентеропротективні властивості.

За лікувального режиму застосування КЕП на моделі МКС-індукованого ураження тонкого кишківника призвело до 100 % нівелювання ульцерогенної

дії МКС на товстий кишківник, 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 ± 3,2 та 33,7 ± 1,7 виразок на 10 см довжини тонкої кишки відповідно.

На тлі лікувально-профілактичного застосування КЕП відмічено 100 % 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 профілактичного режиму застосування КЕП на моделі ДН-індукованого ульцерогенезу та за умов лікувально-профілактичного режиму застосування КЕП на тлі АСК-індукованого ульцерогенезу.

Біохімічні дослідження гомогенатів СОШ показали, що профілактичне ведення КЕП щурам з ДН-індукованою гастропатією підвищує активність антиоксидантної системи (АОС) в СОШ на що вказує зростання активності каталази на 40,0 % відносно показників нелікованих щурів. Модуляція антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу є одним з механізмів гастроцитопротективної дії за комбінованої дії низьких температур та КЕП. На це вказує статистично вірогідне ($p < 0,05$) зростання антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) у 2,2 рази відносно показників щурів з ДН-індукованою гастропатією.

Крім того встановлено, що введення КЕП підвищує активності ПГ-синтаз у щурів з ДН-індукованою гастропатію у 2,0 рази, відносно показників щурів контрольної групи, що нівелює ятрогенну простагландинову недостатність в СОШ.

Оцінка впливу КЕП на ліпооксигеназні (ЛОГ) механізми запалення показали, що одним з механізмів його протизапальної активності (ПЗА) виступає інгібування зазначеного шляху метаболізму арахідонової кислоти

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

Комплексне вивчення впливу КЕП на лікувальні властивості НПЗЗ на моделі експериментального ревматоїдного артриту (РА) у щурів показало, що комбіноване застосування ДН та КЕП володіє більш виразною ПЗА ніж монотерапія ДН на моделі ад'ювантного артриту (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 порогу больової чутливості (ПБЧ) за механічного подразнення кінцівки на 13,8 % більше ніж при монотерапії ДН. Комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжується виразнішою на 10,7 % аналгетичною активністю (АнА) порівняно з монотерапією ДН АА в тесті інвалідності у щурів, а при електроімпульному подразненні комбіноване застосування КЕП та ДН супроводжується виразнішим знеболюючим ефектом ніж монотерапія ДН, що виражалось 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 – швидкість осідання еритроцитів (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.

Біохімічні дослідження крові показали, що введення ДН та КЕП щурам з АА призвело до нормалізації рівня реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-РП), що вказує на нівелювання ознак артрит-індукованого оксидативного стресу. Також виявлено статистично вірогідне ($p = 0,01$) підвищення рівня супероксиддисмутази (СОД) на 30,6 % щодо значень у щурів контрольної групи. Встановлено посилення протизапальних властивостей ДН на тлі комбінованого застосування ДН з КЕП – рівень С реактивного білка (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 аланін-амінотрансферази (АлАТ) статистично вірогідно ($p < 0,01$) був нижче на 38,9 %, а аспартат-амінотрансферази (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 сидром, 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 фосфоліпідів статистично вірогідно ($p = 0,02$) зріс на 22,6 % щодо показників тварин з АА без лікування.

Отримані за результатами досліджень дані дали можливість зробити висновки, що КЕП володіє ПВА при НПЗЗ-індукованому ураженні ШКТ, а комбіноване застосуванні вказаних ЛЗ супроводжується підвищенням їх лікувальних властивостей.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше встановлено наявність антиульцерогенної дії у КЕП. Вивчено механізми ПВА КЕП за умов різних режимів введення у інтактних тварин та на тлі експериментального РА. Вивчено механізми противиразкової активності КЕП за умов різних (профілактичного, лікувального, лікувально-профілактичного) режимів

введення у інтактних тварин та на тлі ад'ювантного артриту у щурів. Розширено уявлення про вплив КЕП на функціональний стан шлунково-кишкового тракту, НПЗЗ-індукований апоптоз епітеліоцитів СОШ, а також вплив на антипроліферативну дію НПЗЗ на шлунковий епітелій. Вперше отримано наукові дані щодо модифікації протизапальної та аналгетичної активності НПЗЗ під впливом КЕП при їх комбінованому застосуванні. Отримано нові дані про механізми протизапальної активності КЕП та НПЗЗ при їх комбінованому застосування, а саме встановлено підвищення протизапального ефекту за рахунок інгібування ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти досліджуваним кріоекстрактом.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що викладені в дисертаційному досліджені положення, мають теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані у:

- *освітньому процесі* – як основа для розширення відомостей про сучасні противиразкові та протизапальні ЛЗ у викладанні фармакології, клінічної фармакології та внутрішньої медицини, зокрема гастроентерології, та ревматології, шляхом впровадження отриманих відомостей у науковий процес відповідних кафедр медичних та фармацевтичних закладів вищої освіти ;

- *практичній діяльності закладів охорони здоров'я* щодо розширення показів до медичного застосування КЕП;

- *науково-дослідній діяльності* – для проведення подальших поглиблених наукових досліджень противиразкового та протизапального ефектів КЕП.

Ключові слова: кріоконсервований екстракт плаценти, нестероїдні протизапальні засоби, шлунково-кишковий тракт, ульцерогенність, протизапальна активність.

ANNOTATION

Hladkykh F. V. Use of cryopreserved placenta extract for correction of ulcerogenic action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (an experimental study). Qualification scientific work published as manuscript.

Thesis for the degree Doctor of Philosophy in «22 – Health Care» in specialty of «222 – Medicine». Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Science of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to the experimental study of the effectiveness of use of cryopreserved placenta extract in order to correct the ulcerogenic effect of nonsteroidal anti- inflammatory drugs. Today, the ulcerogenicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs is their major side-effect significantly limiting their clinical use. This is also an important medical and social problem, as these drugs are among the most widely used ones worlwide. The complexity of the pathogenesis of the lesion induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs of the gastrointestinal tract necessitates a comprehensive approach to treat this pathology or to use the drugs of a polyvector mechanism of action. Classically, pharmacotherapy of this iatrogenic pathology is aimed at acid suppression, the use of gastrocytoprotectors and the drugs, restoring the content of prostaglandins in the mucous membrane of the specified group.

While searching for the tools capable of increasing the resistance of the gastrointestinal tract mucous membrane to the damaging effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, our attention was drawn to the cryopreserved placenta extract which is a biotechnological agent designed at the Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences.

Studies have shown that during preventive administration the antiulcer activity of cryopreserved placenta extract was 69.1 %, and in acute indomethacin-induced gastropathy the ulcer index was 3.5 and 1.08 in control rats and those injected with placental cryoextract, respectively. In acute diclofenac sodium-induced gastropathy, the antiulcer activity of placental cryoextract was 92.1 %, and

ulcerative defects of the gastric mucosa with the studied extract were found just in 28.6 % of animals, which was 3.5 times lower than in the control rats. It should be noted that the most pronounced decrease of the diclofenac sodium ulcerogenic action was noticed when applied in a preventive combination, i.e. using the cryopreserved placenta extract and low temperatures; the expression index was 12.6 times lower than in rats with diclofenac sodium-induced ulcer-induced gastropathy, and its effectiveness was 1.5 times higher than that of esomeprazole.

The antiulcer activity of cryopreserved placenta extract in the treatment regimen in rats with subchronic meloxicam-induced gastropathy was 100 %, but ulcerative lesions of the gastric mucosa caused by meloxicam were found just in 74.1 % of rats, indicating a low ulcerogenic potential of this nonsteroidal drug in stomach. The use of cryopreserved placenta extract in the treatment-and-prophylactic regimen was accompanied by comparable antiulcer activity in models of subchronic ibuprofen-induced and acetylsalicylic acid-induced gastropathies and made 72.8 % and 70.6 %, respectively.

Evaluation of the effect of cryopreserved placenta extract on the condition of the distal gastrointestinal tract on the background of lesions induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs showed that in the acute diclofenac sodium and indomethacin-induced ulcerogenesis only small intestinal mucosa was affected. The condition of the colon remained macroscopically unchanged, which was probably due to the study timing. Preventive administration of cryopreserved placenta extract in both models of acute ulcerogenesis resulted in 100% reduction of the enterotoxic effects of both indomethacin and diclofenac sodium, confirming their enteroprotective properties.

During treatment regimen the use of cryopreserved placenta extract in the model of meloxicam-induced lesions of the small intestine led to 100 % decrease of the ulcerogenic effect on the large intestine of the latter, and the number of ulcerative defects in the small intestine decreased 4.6 times compared with the group induced by ulcerogenesis without correction, and made 7.4 ± 3.2 and 33.7 ± 1.7 ulcers per 10 cm of small bowel length, respectively.

In therapeutic and prophylactic use of cryopreserved placenta extract, 100 % decrease of the toxic effects of acetylsalicylic acid and the distal parts of the gastrointestinal tract was noted. The ibuprofen-induced ulcerogenesis model showed that the antiulcer activity of cryopreserved placenta extract in the small intestine was 78.4 % and 72.3 % in the large intestine.

The findings suggest the presence of pronounced entero- and colonoprotective activity in cryopreserved placenta extract in gastrointestinal tract ulcerative lesions induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. The most pronounced antiulcer activity in the gastrointestinal tract distal parts was found in the prophylactic cryopreserved placenta extract in the model of diclofenac sodium-induced ulcerogenesis and in treatment and preventive use of the cryopreserved placental acid extract on the ulcer background.

Biochemical studies of the gastric mucosa homogenates showed that prophylactic use of cryopreserved placenta extract in rats with diclofenac sodium-induced gastropathy increases the activity of the antioxidant system in mucosa, indicating a rise in in catalase activity by 40.0 % as compared with the control group. Modulation of antioxidant-prooxidant homeostasis is one of the mechanisms of gastrocytoprotective action of the combined effect of low temperatures and cryopreserved placenta extract. This is demonstrated by a significant ($p < 0.05$) increase in the antioxidant-prooxidant index by 2.2 times versus the rats with diclofenac sodium-induced gastropathy.

In addition, it was found that administration of cryopreserved placenta extract enhanced the activity of prostaglandin synthases in rats with diclofenac sodium-induced gastropathy 2.0 times relative to those of the control group, that eliminated iatrogenic prostaglandin deficiency in the gastric mucosa.

Evaluation of the effect of cryopreserved placenta extract on lipoxygenase mechanisms of inflammation showed that one of them as for its anti-inflammatory activity is the inhibition of this pathway of arachidonic acid metabolism. This was shown by a significant ($p < 0.05$) suppression of zymosan-induced inflammation in rats by 78.8 % and 74.8 % for 120 and 180 min, respectively. This was similar to

monotherapy with the studied cryoextract, most likely due to weaker effect of the studied nonsteroidal anti-inflammatory drug on the lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism.

A comprehensive study of the effect of cryopreserved placental extract on therapeutic properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in a model of experimental rheumatoid arthritis in rats showed that the combined use of diclofenac sodium and cryopreserved placental extract had more pronounced anti-inflammatory activity versus monotherapy. This is evidenced by an 8.7 % greater reduction in the volume of the damaged limb of rats with diclofenac sodium and cryopreserved placental extract than with diclofenac sodium alone. In addition, it was found that the combined use of diclofenac sodium and cryopreserved placenta extract was accompanied by an increase in the threshold of pain sensitivity with mechanical irritation of the limb by 13.8 % higher if compared with diclofenac sodium monotherapy. In addition, the combined use of diclofenac sodium and cryopreserved placental extract was accompanied by a more pronounced 10.7 % analgesic activity if compared with diclofenac sodium monotherapy adjuvant arthritis as for disability in rats versus DN monotherapy, which was significantly higher ($p = 0.01$) by 14.1 % rise in the threshold of pain sensitivity in rats with adjuvant arthritis on day 28 of the experiment.

Hematological studies showed that the combined use of cryopreserved placenta extract and diclofenac sodium was accompanied by a more pronounced leveling of inflammation signs by hematological parameters, i.e. erythrocyte sedimentation rate decreased by 72.2 % ($p < 0.001$), and the number of leukocytes decreased by 54.8 % ($p < 0.001$) relative to the rats with adjuvant arthritis without treatment. In addition, it was found that the combined use of cryopreserved placenta extract and diclofenac sodium led to a complete elimination of signs of anemia of chronic inflammation – the level of hemoglobin and erythrocytes was significantly ($p < 0.001$) increased by 17.6 % and 36.8 %, respectively, in the rats with adjuvant arthritis with no treatment.

Blood biochemical studies have shown that administration of diclofenac sodium and cryopreserved placental extract to the rats with adjuvant arthritis resulted in normalization of malonic dialdehyde levels, indicating a reduction in the symptoms of arthritis-induced oxidative stress. There was also a significant ($p = 0.01$) rise in the level of superoxide dismutase by 30.6 % relative to the values in the control group rats. Enhanced anti-inflammatory properties of DN on the background of the combined use of diclofenac sodium from cryopreserved placenta extract, namely the level of reactive protein decreased ($p < 0.001$) by 61.1 % relative to untreated rats, and the level of seromucoid significantly ($p < 0.01$) decreased by 17,1 % relative to rats of the diclofenac sodium monotherapy group. It was shown that the level of alanine aminotransferase was significantly ($p < 0.01$) lower by 38.9 %, and aspartate aminotransferase was lower ($p < 0.01$) by 37.9 % compared to the animals treated with diclofenac sodium, which was 16.7% ($p = 0.02$) and 17.2 % ($p < 0.001$), respectively, lower than in control rats with untreated adjuvant arthritis. The observed changes in aminotransferases demonstrate the ability of cryopreserved placenta extract to level not only cytolytic syndrome induced by adjuvant arthritis, but also diclofenac sodium-induced. Moreover, it was found that the combined use of cryopreserved placenta extract and diclofenac sodium was accompanied by normalization of the level of total lipids and phospholipids in the serum of rats on the background of experimental rheumatoid arthritis. Thus, the content of phospholipids in the phospholipid pool increased significantly ($p = 0.02$) by 22.6 % compared to the animals with adjuvant arthritis with no treatment.

The obtained research data made it possible to conclude that cryopreserved placenta extract had an antiulcer activity in the gastrointestinal tract lesions induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and the combined use of these drugs was accompanied by an increase in their therapeutic properties.

Scientific novelty of the obtained results. The presence of antiulcerogenic action in cryopreserved placenta extract was established for the first time. The mechanisms of antiulcer activity of cryopreserved placenta extract under different modes of administration in intact animals and against the background of

experimental rheumatoid arthritis have been studied. The idea of the effect of cryopreserved placenta extract on functional state of the gastrointestinal tract, apoptosis of epitheliocytes of the gastric mucosa induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs, as well as the antiproliferative effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on stomach. For the first time, scientific data on the modification of anti-inflammatory and analgesic activity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs under the influence of cryopreserved placenta extract in their combined use were obtained. New data on the mechanisms of anti-inflammatory activity of cryopreserved placenta extract and nonsteroidal anti-inflammatory drugs if they used in combination have been obtained.

The practical significance of the obtained results is that the provisions delivered in the thesis research are both of a theoretical and applied values and can be used in:

- *educational process* – as a basis for disseminating an information about modern antiulcer and anti-inflammatory drugs when teaching pharmacology, clinical pharmacology and internal medicine, including gastroenterology, and rheumatology, by introducing the information into the scientific process of relevant departments of medical and pharmaceutical institutions of higher education;
- *practical activities of health care institutions* to expand the indications for medical use of cryopreserved placenta extract;
- *research activities* – for further in-depth research of antiulcer and anti-inflammatory effects of cryopreserved placenta extract.

Key words: cryopreserved placenta extract, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, gastrointestinal tract, ulcerogenicity, anti-inflammatory activity.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus або Web of Science Core Collection

1. **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. Режим доступу: https://mspsss.org.ua/index.php/journal/article/view/400 (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: патентно-інформаційний пошук та аналіз літературних даних, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Видання категорії Б. Входить до міжнародної наукометричної бази Scopus,*).

Статті в іноземних рецензованих періодичних виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus або Web of Science Core Collection

2. **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 & Pharmacology*. 2021; 9 (4): 278–93. DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-278-293. Режим доступу: https://www.pharmpharm.ru/jour/article/view/879 (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та отриманих результатів, написання тексту. Видання входить до міжнародних наукометричних баз Scopus (Q3 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank) та Web of Science Core Collection).*

3. **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. (*Видання входить до міжнародної наукометричної бази Scopus (Q3 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)*).

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях України

4. **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 (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: патентно-інформаційний пошук та аналіз літературних даних, концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків. Видання категорії Б*).
5. **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 (*Видання категорії Б*).
6. **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. Режим доступу: http://ibb.kpi.ua/article/view/237505 (*Видання категорії Б*).
7. **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 (*Видання категорії Б*).

8. **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. Режим доступу: https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/199 (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання тексту. Видання категорії Б*).
9. **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/MMT.3(50).2021.8 (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: патентно-інформаційний пошук та аналіз літературних даних, написання основного тексту, формулювання висновків. Видання категорії Б*).

Статті у збірках матеріалів конференцій

10. **Гладких ФВ**, Чиж НА. Механизмы защиты слизистой оболочки желудка в условиях применения криоэкстракта плаценты при диклофенак-индуцированной гастропатии. *Сборник материалов сателлитной дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Фундаментальная наука в современной медицине – 2021»*; 2021; Мінськ. Мінськ: Заклад освіти «Білоруський державний медичний університет»; 2021, с. 436–40. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: концепція та дизайн роботи, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).

Наукові праці, які засвідчують апробацію дисертації

Тези в іноземних збірниках

11. **Гладких ФВ**, Чиж НА. Слета ИВ. Исследование гастропротекторной активности криоконсервированного экстракта плаценты при ибупрофен-индуцированном поражении желудка в эксперименте. *Материалы VII Республиканской научно-пактической конференция молодых ученый «Современые достижения молодых учёных в медицине – 2020»*; 2020 Листопад 27; Гродно. Гродно: Заклад освіти «Гродненський державний медичний університет»; 2020, с. 57–60. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
12. **Гладких ФВ**, Чиж НА. Макроскопическая оценка влияния криокосервированного экстракта плаценты на состояние дистальных отделов желудочно-кишечного тракта на модели ибупрофен-индуцированного ульцерогенеза. *Материалы итоговой научно-практической конференции Гродненского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы медицины»*; 2021 Січень 28–29; Гродно. Гродно: Заклад освіти «Гродненський державний медичний університет»; 2021, с. 191–5. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
13. **Гладких ФВ**. Моторно-эвакуаторная активность желудка на фоне введения диклофенака натрия и криконсервированного экстракта плаценты. *Материалы LXXIV Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной*

медицины и фармации – 2021»; 2021 Квітень 15–17; Мінськ. Мінськ: Заклад освіти «Білоруський державний медичний університет»; 2021, с. 172.

14. **Гладких ФВ**. Анемический синдром как индикатор противовспалительной активности диклофенака натрия и криконсервированного экстракта плаценты. *Материалы 73 научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные вопросы современной медицины и фармации»*; 2021 Квітень 21–22; Вітебськ. Вітебськ: Вітебський державний ордена Дружби народів медичний університет; 2021, с. 726–30.
15. **Hladkykh FV**, Chyzh MO. The effect of cryoirrigation and cryopreserved placenta extract on the content of nitrogen monoxide in the gastric mucosa in rats with diclofenac sodium-induced gastropathy. *The 58-th Annual Meeting of the Society for Cryobiology «CRYO 2021»*, 21–23 July, Chicago. 2021; Chicago. USA, 2021. p. 97–8. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).

Тези у виданнях України

16. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Вплив диклофенаку натрію та його нарізного введення з кріоекстрактом плаценти на функціональний стан білкового обміну в слизовій оболонці шлунка на моделі ад'ювантного артриту у щурів. *Матеріали 81 міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених 81st LYSICon = 81-st Lviv Young Scientist International Conference*; 2020 Жовтень 21–23; Львів. Львів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького; 2020, с. 166–7. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних*

досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків).

17. **Гладких ФВ**, Манченко АО. Бєлочкіна ІВ. Дослідження аналгетичної активності диклофенаку натрію на тлі застосування кріоконсервованого екстракту плаценти у щурів з ад'ювантним артритом. *Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини»*; 2020 Листопад 20; Запоріжжя. Запоріжжя: Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України; 2020, с. 49–51. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: концепція та дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
18. **Гладких ФВ**, Бєлочкіна ІВ, Манченко АО. Онкометрична оцінка впливу кріоекстракту плаценти на протизапальну активність диклофенаку натрію при експериментальному ревматоїдному артриті. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Матеріали міжнародної конференції молодих науковців 2020 «Annual young medical scientists conference – AYMSConf 2020»*; 2020 Листопад 26–27; Київ. Київ: Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України; 2020, с. 9. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
19. **Гладких ФВ,** Чиж МО, Бєлочкіна ІВ. Вивчення гастропротективної активності кріоконсервованого екстракту плаценти на моделі гастропатії, індукованої ацетилсаліциловою кислотою у щурів. *Матеріали міжнародної дистанційної науково-практичної конференції «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology»*; 2021 Лютий 19; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України;

2021, с. 72–4. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).

20. **Гладких ФВ,** Чиж МО, Манченко АО. Модуляція антиоксидатнтно-прооксидантного гомеостазу у слизовій оболонці шлунка як механізм противиразкової активності кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів»*; 2021 Березня 11–12; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; 2021, с. 309–11. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
21. **Гладких ФВ,** Михайлова ІП, Манченко АО. Вплив диклофенаку натрію та його комбінації з кріоконсервованим екстрактом плаценти на ліпідний баланс в сироватці крові при експериментальному ревматоїдному артриті. *Матеріали XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Topical issues of new medicines development»*; 2021 Березня 18–19; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; 2021, с. 272–3. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
22. **Гладких ФВ**, Бєлочкіна ІВ, Манченко АО. Проліферативна активність епітеліоцитів слизової оболонки шлунка на тлі застосування кріоекстракту плаценти при диклофенак натрій-індукованій гастропатії у щурів. *Матеріали 90-ї науково-практичної конференції студентів та молодих*

вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині»; 2021 Березень 25–27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України; 2021, с. 79. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).

23. **Гладких ФВ.** Антиноцицептивна активність кріоконсервованого екстракту плаценти та ібупрофену при їх комбінованому застосуванні в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Young science 3.0»*; 2021 Березня 26; Київ. Київ: Національний університет охорони здоров'я України ім. П. Л. Шупика МОЗ України; 2021, с. 17–8.
24. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Бєлочкіна ІВ. Макроскопічна характеристика цитопротективної дії кріоконсервованого екстракту плаценти в дистальних відділах травного тракту на моделі мелоксикам-індукованого ульцерогенезу. *Матеріали VIII Міжнародного медико-фармацевтичного конгресу «Bukovinian International Medical Congress – 2021»*; 2021 Квітень 6–9; Чернівці. Чернівці: Буковинський державний медичний університет МОЗ України; 2021, с. 263. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
25. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Бєлочкіна ІВ. Експресія апоптичного маркеру каспази-3 у слизовій оболонці шлунка на тлі застосування диклофенаку натрію та кріоекстракту плаценти в експерименті. *Матеріали XXV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*; 2021 Квітень 12–14; Тернопіль. Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України; 2021, с. 190. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз*

літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків).

26. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Чиж МО. Вплив мелоксикаму та кріоекстракту плаценти на моторно-евакуаторну функцію шлунка у мишей. *Матеріали XVIII Наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2021»*; 2021 Квітень 15–17, Вінниця. Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 2021, с. 496–7. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
27. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Модуляція гастротоксичності індометацину при застосуванні кріоекстракту плаценти. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю для студентів та молодих вчених «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини»*; 2021 Квітень 22–23; Одеса. Одеса: Одеський національний медичний університет МОЗ України; 2021, с. 56. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
28. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Зв’язок між рівнем С-реактивного білка та антифлогістичною активністю диклофенаку натрію і кріоконсервованого екстракту плаценти в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров’я в Україні»*; 2021 Квітень 22–23; Харків. Харків: Державна установа «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої Національної академії

медичних наук України»; 2021, с. 30. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).

29. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Михайлова ІП. Стан перекисного окислення ліпідів при експериментальному ревматоїдному артриті на тлі застосування диклофенаку натрію та кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали XVIII Міжнародної наукової конференції студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»*; 2021 Квітень 22–23; Харків. Харків: Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна МОН України; 2021, с. 46–7. (*Особистий внесок здобувача становить 70,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
30. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Режими введення і противиразкова активність кріоконсервованого екстракту плаценти при гастропатіях, індукованих нестероїдними протизапальними засобами. *Матеріали 45-ї щорічної конференції молодих вчених «Холод в біології та медицині: актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології – 2021»*; 2021 Травень 19; Харків. Харків: Інститут проблем кріобіології Національної академії наук України; 2021, с. 26. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
31. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Вплив мелоксикаму та кріоконсервованого екстракту плаценти на секреторну активність шлунка в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «42*

наукові читання ім. О. О. Богомольця»; 2021 Травень 24, Київ. Київ: Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України; 2021, с. 47–8. (*Особистий внесок здобувача становить 60,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).

32. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Інтенсивність деструктивних процесів сполучної тканини при експериментальному ревматоїдному артриті на тлі застосування кріоекстракту плаценти. *Клінічна та профілактична медицина*. 2021; 2 (16): *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених «Сучасні досягнення і перспективи розвитку профілактичної та клінічної медицини»)*; 2021 Травня 27; Київ. Київ: Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами; 2021, с. 100. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: аналіз літературних даних, дизайн дослідження, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту, формулювання висновків*).
33. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Секреторна активність шлунка на тлі нарізного введення диклофенаку натрію та кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «IX наукова сесія інституту гастроентерології Національної академії медичних наук України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології»*; 2021 Червень 17–18, Дніпро. Дніпро: Державна установа «Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України»; *Гастроентерологія*. 2021; 2: 132–3. (*Особистий внесок здобувача становить 80,0 % праці: аналіз літературних даних, виконання експериментальних досліджень, статистична обробка та інтерпретація отриманих результатів, написання основного тексту*).

ЗМІСТ

Стор.

АНОТАЦІЯ……. 2

ЗМІСТ……..……..... 25

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ ТА СКОРОЧЕНЬ..... 30

ВСТУП ……..……..……..……..…... 33

Обґрунтування вибору теми дослідження…….. 33

Мета дослідження……. 36

Завдання дослідження…….. 37

Об’єкт дослідження…….. 37

Предмет дослідження……... 37

Наукова новизна одержаних результатів……... 38

Практичне значення одержаних результатів та їх впровадження в практику…… 40

Методи дослідження……. 40

Особистий внесок дисертанта……. 41

Апробація результатів дисертації…… 42

Публікації за темою дисертації……... 45

Структура та обсяг дисертації……. 45

РОЗДІЛ 1 НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ В ПРАКТИЧНІЙ МЕДИЦИНІ: ЛІКУВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА НЕБАЖАНІ ЕФЕКТИ (огляд літератури)……..…..…… 46

1.1 Нестероїдні протизапальні засоби в практичній охороні здоров’я: фокус на співвідношення «користь – ризик»…… 46

1.2 Патогенетичні механізми ульцерогенної дії НПЗЗ та сучасні підходи до її послаблення……...……..……. 56

1.3 Політропність біологічних ефектів кріоконсервованого екстракту плаценти (КЕП) в світлі патогенетичних ланок НПЗЗ-індукованого ульцерогенезу……..……..… 73

Висновки до розділу 1……..…… 78

РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ……..……..... 80
2.1 Характеристика предмету дослідження ……..……..... 80
2.1.1 Характеристика КЕП та досліджуваних НПЗЗ……..... 80
2.1.2 Експериментальні тварини та методика розрахунку доз досліджуваних засобів ……..... 83
2.2 Експериментальні моделі патологічних процесів……..…. 85
2.2.1 Моделі НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії……..……... 88
2.2.2 Моделі запальних процесів у щурів……..……..…. 90
2.2.2.1 Модель гострого альтеративного запалення (оцтовокисло-декстранові виразки шкіри у щурів)…….... 91
2.2.2.2 Моделі гострого ексудативного запалення (карагеніновий та зимозановий набряк лапи у щурів)….. 92
2.2.2.3 Модель хронічного проліферативного запалення («ватна гранулема» у щурів)…….....…. 93
2.2.2.4 Модель хронічного імунного запалення (ад'ювантний артрит у щурів)…….…..... 93
2.3 Характеристика методик дослідження……..……...…. 95
2.3.1 Дослідження морфо-функціонального стану ШКТ..... 95
2.3.1.1 Макроскопічна оцінка слизової оболонки стравоходу, шлунка та кишківника щурів……. 95
2.3.1.2 Дослідження секреторної активності шлунка…... 97
2.3.1.3 Дослідження моторно-евакуаторних процесів.... 98
2.3.2 Оцінка протизапальної активності……..……...…. 99
2.3.2.1 Онкометричні дослідження……..... 100
2.3.2.2 Планіметричні дослідження…… 101
2.3.3 Дослідження знеболюючої активності…….……..…. 101
2.3.3.1 Термічне подразнення……...…….. 102
2.3.3.2 Електроімпульсне подразнення…….…. 103

2.3.3.3 Модель вісцерального болю від хімічного подразнення («оцтово-кислі корчі»)……..……. 104
2.3.3.4 Механічне подразнення …….. 105
2.3.3.5 Спонтанна больова реакція («тест інвалідності»). 106
2.3.4 Гематологічні дослідження……...……...… 107
2.3.5 Біохімічні дослідження…….....…...… 108
2.3.6 Патоморфологічні та імуногістохімічні дослідження…… 113
2.3.7 Методи статистичної обробки…….……...……. 115
2.3.8 Біоетичні аспекти дослідження……..…..…..… 116

РОЗДІЛ 3 ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВИРАЗКОВОЇ ДІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ НПЗЗ-ІНДУКОВАНОМУ УШКОДЖЕННІ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У ЩУРІВ……. 117
3.1 Характеристика виразності антиульцерогенної дії КЕП при езофагогастроентероколонопатії, індукованій НПЗЗ різних хімічних груп …… 117
3.1.1 Макроскопічна оцінка впливу КЕП на стан слизової оболонки травного тракту шурів на тлі індометацин-індукованого ульцерогенезу…….. 117
3.1.2 Характеристика впливу КЕП та дії низьких температур на стан слизової оболонки травного тракту щурів на моделі диклофенак натрій-індукованого ульцерогенезу…… 121
3.1.3 Дослідження впливу КЕП на стан слизової оболонки травного тракту щурів на тлі мелоксикам-індукованого ульцерогенезу…….. 133
3.1.4 Вивчення впливу КЕП на стан слизової оболонки травного тракту щурів на моделі ібупрофен-індукованого ульцерогенезу……...……... 137
3.1.5 Макроскопічна характеристика впливу КЕП на стан

слизової оболонки травного тракту шурів на тлі ульцерогенезу, індукованого ацетилсаліциловою кислотою…. 143
3.2 Оцінка впливу диклофенаку натрію та КЕП за їх комбінованого застосування на морфологічний стан слизової оболонки шлунка щурів за даними патоморфологічного дослідження…… 148
3.3 Дослідження шлункової секреції шурів на тлі застосування диклофенаку натрію та мелоксикаму за їх нарізного введення з КЕП 153
3.4 Дослідження впливу диклофенаку натрію та мелоксикаму за їх нарізного введення з КЕП на моторно-евакуаторні процеси шлунково-кишкового тракту щурів…… 156
Висновки до розділу 3…..…… 158

РОЗДІЛ 4 ОЦІНКА ВПЛИВУ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ НА ОКРЕМІ КЛАС-СПЕЦИФІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НПЗЗ (ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ, ІБУПРОФЕНУ ТА МЕЛОКСИКАМУ)……. 160
4.1 Вивчення впливу КЕП на антиальтеративну активність мелоксикаму……..…… 160
4.2 Оцінка впливу КЕП антиексудативну активність диклофенаку натрію……..…..……. 165
4.2.1 Онкометрична характеристика антиексудативної активності КЕП та диклофенаку натрію на моделі карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів……..... 165
4.2.2 Онкометрична оцінка антиексудативної активності КЕП та диклофенаку натрію на моделі зимозанового набряку кінцівки у щурів……..……... 171
4.3 Дослідження впливу КЕП на антипроліферативну активність індометацину……..... 174
4.4 Характеристика впливу КЕП на аналгетичну дію НПЗЗ…… 176
Висновки до розділу 4……..…… 177

РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ТА БЕЗПЕЧНОСТІ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ ТА КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ РЕВМАТОЇДНОМУ АРТРИТІ У ЩУРІВ…. 179

5.1 Оцінка протизапальної та знеболюючої дій диклофенаку натрію при комбінованому застосуванні з КЕП на моделі ад'ювантного артриту у щурів……..… 179

5.2 Характеристика лікувального ефекту диклофенаку натрію та КЕП за динамікою гематологічних та біохімічних показників щурів з ад'ювантним артритом……...……... 185

5.3 Оцінка впливу ДН та КЕП за їх комбінованого застосування на морфологічний стан СОШ щурів з АА за даними патоморфологічного дослідження……... 208

Висновки до розділу 5……..…… 212

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ…… 214

ВИСНОВКИ…… 222

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ……. 224

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ……...… 225

ДОДАТОК *А* Список публікацій здобувача……..……... 262

ДОДАТОК *Б* Апробація матеріалів дисертації…….……... 270

ДОДАТОК *В* Перелік рисунків…….…… 273

ДОДАТОК *Г* Перелік таблиць…….…….. 277

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, ОДИНИЦЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

АсАТ – аспартатамінотрансфераза
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
ЕГЕКП – езофагогастроентероколонопатія
ЗБ – загальний білок
ІБП – ібупрофен
ІГХ – імуногістохімія
ІІ – індекс інвалідності
ІЛ – інтерлейкіни
ІНД – індометацин
ІП – індекс проліферації за Кі-67
ІПКіК – Інститут проблем кріобіології і кріомедицини

ІПП – інгібітори протонної помпи

ІПС – індекс переносимості

КЕП – кріоконсервований екстракт плаценти

$ЛД_{50}$ – летальна доза для 50,0 % тварин

ЛЗ – лікарські засоби

ЛОГ – ліпооксигеназа

ЛПБР – латентний період больової реакції

ЛТ – лейкотрієни

ЛФ – лужна фосфатаза

Ме – медіана

МКС – мелоксикам

МНЦ – міжвідомчий науковий центр

Н(р)ЕТЕ – гідроксиейкозатетраєнова кислота

НВП – науково-виробниче підприємство

НДА – низькі дози ацетилсаліцилової кислоти

НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби

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

рис. – рисунок

РНК – рибонуклеїнова кислота

СО – слизова оболонка

СОД – супероксиддисмутаза

СОШ – слизова оболонка шлунка

С-РБ – С-реактивний білок

ССС – серцево-судинна система

$T_{1/2}$ – час напіврозпаду

табл. – таблиця

ТБК-РП – продукти, що реагують з 2-тіобрарбітуровою кислотою

ТхA_2 – тромбоксан A_2

$УД_{50}$ – ульцерогенна доза для 50,0 % тварин

ФНП-α – фактор некрозу пухлин-α

ЦОГ – циклооксигеназа

ШИК р-я – реакція з реактивом Шиффа та йодною кислотою

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

95 % ДІ: – 95 % довірчий інтервал

H_2S – гідроген сульфід

HCl – хлористоводнева (соляна) кислота

LQ – верхня межа нижнього квартиля (lower quartile)

m (SE) – стандартна похибка середнього арифметичного

NO – монооксид нітрогену

UQ – нижня межа верхнього квартиля (upper quartile)

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. НПЗЗ широко застосовуються у багатьох сферах медицини для лікування запальних процесів різної етіології та є однією з найбільш клінічно значущих груп ЛЗ. Щорічно у світі, як протизапальні, знеболюючі та антиагрегантні засоби, їх застосовує понад 300 мільйонів чоловік, з яких 2/3 – без рецепту лікаря [1, 2, 3].

Арсенал НПЗЗ нараховує понад 80 препаратів та близько тисячі створених на їх основі лікарських форм. Серед сучасних фармакологічних препаратів класичні НПЗЗ – АСК, ДН, ІНД, ІБП, піроксикам – є найбільш уживаними. Завдяки унікальному поєднанню біологічних ефектів (протизапального, знеболюючого, жарознижуючого та антитромботичного) НПЗЗ застосовуються практично в усіх галузях клінічної медицини [4, 5]. Вказані ЛЗ використовують для профілактики та лікування запальних захворювань сполучної тканини (РА, артроз, анкілозуючий спондилоартрит, тендовагініт та ін.), больового синдрому (міалгія, артралгія, головний біль, післяопераційни 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 [6, 7, 8].

Однак, при використанні НПЗЗ досить часто можуть виникати побічні реакції, найбільш поширеними з яких є ушкодження ШКТ [9]. Саме тому на сьогоднішній день група НПЗЗ залишається у фокусі уваги науковців.

За даними Garcia R.E. неселективні НПЗЗ володіють високою ульцерогенною дією на СО гастродуоденальної зони (ГДЗ) [3]. Проте застосування високоселективних інгібіторів циклооксигенази (ЦОГ) другого типу (ЦОГ-2) – целекоксибу, рофекоксибу та ін., знижує частоту гастроінтестинальних ускладнень, однак, інгібуючи утворення простацикліну,

вони здатні зрушувати баланс між вмістом простацикліну і тромбоксану (ТхA_2) на користь останнього, який виступає протромботичним фактором, в результаті чого розвиваються кардіоваскулярні порушення, включаючи інфаркт міокарду [10, 11, 12]. В той же час селективні інгібітори ЦОГ-2 збільшують ризик розвитку ниркової недостатності, через зниження клубочкової фільтрації та уповільнення реабсорбції натрію [1, 8].

Тому широкому застосуванню НПЗЗ нерідко зашкоджують їх недостатня ефективність та ціла низка серйозних побічних ефектів (в першу чергу ульцерогенність), які доволі часто змушують припиняти лікування препаратами даної групи [13, 14, 15, 16, 17, 18]. Основними серед них є гастро-, нефро- та гепатотоксичність [19, 21].

На сьогоднішній день у всьому світі ведеться активний пошук шляхів потенціювання терапевтичних ефектів (зокрема протизапального та знеболюючого), а також підвищення безпечності НПЗЗ [22, 23, 24].

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), ІПП (омепразол, ланзопразол, пантопразол, езомепразол), антиоксидантами (мексидол, гіпоксен), синтетичними аналогами ПГ (мізопростол, цитотек), антацидами (алюмінію фосфат, магнію гідроксид, алюмінію гідроксид), стимуляторами синтезу ПГ (ребаміпід), сукральфатом, пентоксифіліном, солкосерилом, токоферолу ацетатом та ін. [16, 17, 18, 19]. На сьогоднішній день створено комбіновані препарати «НПЗЗ + гастропротектор» – індотрил (ІНД 15 мг + тіотриазолін 45 мг), диклокор (ДН 25 мг + кверцетин 40 мг), артротек (ДН 75 мг + мізопростол 200 мкг), дуексис (ІБП 800 мг + фамотидин 26,6 мг), вімово (напроксен 500 мг + езомепразол 20 мг), аксорид (кетопрофен 100/200 мг + омепразол 20 мг), аспіфат (АСК 100/325 мг + 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

NO – CINODs (cyclooxygenase-inhibiting nitric oxide donors) або гідроген сульфідом (H_2S); ваніліновою групою (амтолметину гуацил) та ін. [16, 24, 25, 26].

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 плазми) людського або тваринного походження та біотехнологічні клітинні конструкції [27, 28, 29].

У якості засобу корекції ульцерогенної дії НПЗЗ нашу увагу привернув КЕП. Вперше зазначений екстракт отримано співробітниками ІПКіК НАН 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 [30, 31, 32].

Дослідження показали, що екстракт плаценти впливає на органи-мішені, стимулюючи їх функціонування, та підвищує неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища та стресових чинників, стимулює репаративні властивості клітин при пошкодженнях та захворюваннях різного ґенезу [30, 33, 34].

Добре відомо, що плацента є природним «депо» та продуцентом практично всього спектру біологічно активних речовин, які забезпечують ріст та розвиток плоду під час внутрішньоутробного розвитку. [30, 35, 36]. Вона забезпечує процеси трофіки та білковий синтез, гормоновиділення та гормонорегуляцію, депонування біологічно активних речовин, імунну регуляцію та ін. [30, 31, 35, 36].

Плаценті притаманна висока активність ряду ферментів: дихальні ферменти (моноамінооксидаза, система цитохромоксидаз), каталаза, НАД- і НАДФ-діафорази, сукцинатдегідрогеназа, системи гістамін-гістаміназа, ацетилхолін-ацетилхолінестереза, фактори згортання крові та фібринолізу та ін. В плаценті також відбувається синтез білків, що відносяться до класу ІЛ –

ІЛ*1*, ІЛ*6*, ІЛ*8*, ІЛ*2*, 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 [30, 37]. Крім того до складу препаратів плаценти входить ряд факторів росту: гепатоцитів (HGF), інсуліноподібний (IGF), фібробластів (FGF), епідермальний (EGF), нервів (NGF), колоніестимулюючий (CSF) та ін. [30].

Важливо й те, що плацента є джерелом системних білкових та стероїдних гормонів, цитомединів, імунних факторів та ін. [30, 37]. У тканинах плаценти синтезується пептиди, які є структурними аналогами ендорфінів та енкефалінів, які регулюють імунну відповідь клітинного та гуморального типу.

Широкий спектр біологічної активності КЕП та полівекторність його дії – ПЗА, антиоксидантна, імономоделююча, репаративна, нефропротекторна, метаболотропна, остеотропна, кардіопротекторна та ін. добре узгоджуються із багатогранністю патогенезу НПЗЗ-асоційованого ураження ШКТ. Так, нівелювання запального компоненту при ураженні ШКТ може сприяти ослабленню місцевоподразнюючої дії НПЗЗ, антиоксидантна активність нівелюватиме оксидативний стрес в тканинах, а імуномоделююча та репаративна дії сприятимуть пришвидшенню відновлення цілісності СО.

Зв‘язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках відомчої науково-дослідної роботи (НДР) відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України «Деструктивні та відновні процеси в тканинах *in vivo* після дії низьких температур та біологічно активних речовин» (шифр 2.2.6.113, номер державної реєстрації 0117U001049, термін виконання: 2017–2021 рр., керівник – в. о. завідувача відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України, к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.).

Мета роботи: встановити вплив кріоекстракту плаценти на ульцерогенну дію та терапевтичну ефективність нестероїдних протизапальних засобів.

Задля досягнення поставленої мети потребують вирішення наступні **завдання**:

1. Дослідити антиульцерогенну дію кріоконсервованого екстракту плаценти при виразках шлунково-кишкового тракту, індукованих нестероїдними протизапальними засобами у щурів.
2. З’ясувати вплив кріоконсервованого екстракту плаценти на функціональний стан шлунково-кишкового тракту (секреторну функцію шлунка та моторно-евакуаторні процеси) на тлі гастропатії, індукованої нестероїдними протизапальними засобами у щурів.
3. Оцінити морфологічні зміни слизової оболонки шлунка щурів при комбінованому застосуванні нестероїдних протизапальних засобів та кріоконсервованого екстракту плаценти за даними патоморфологічного дослідження.
4. Охарактеризувати ефект комбінованого застосування нестероїдних протизапальних засобів та кріоконсервованого екстракту плаценти на альтеративну, проліферативну та ексудативну фази запалення.
5. Вивчити вплив кріоконсервованого екстракту плаценти на знеболюючу активність нестероїдних протизапальних засобів на моделях ноцицептивних реакцій.
6. Оцінити вплив кріоконсервованого екстракту плаценти на терапевтичну ефективність нестероїдних протизапальних засобів при експериментальному системному аутоімунному запальному процесі у щурів за динамікою клінічних, гематологічних та біохімічних показників.

Об‘єкт дослідження – перебіг патологічних змін у внутрішніх органах щурів на тлі експериментального ульцерогенезу, індукованого нестероїдними протизапальними засобами.

Предмет дослідження – біологічні властивості кріоконсервованого екстракту плаценти та нестероїдних протизапальних засобів.

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше встановлено наявність антиульцерогенної дії у КЕП. Вивчено механізми ПВА КЕП за умов різних режимів введення у інтактних тварин та на тлі експериментального РА. Розширено уявлення про вплив КЕП на функціональний стан ШКТ, НПЗЗ-індукований апоптоз епітеліоцитів СОШ, а також вплив на антипроліферативну дію НПЗЗ на шлунковий епітелій.

Вперше отримано наукові дані щодо модифікації протизапальної та аналгетичної активності НПЗЗ під впливом КЕП при їх комбінованому застосуванні. Отримано нові дані про механізми ПЗА КЕП та НПЗЗ при їх комбінованому застосуванні.

У результаті проведеного дослідження сформульовано низку нових наукових положень і висновків, запропонованих особисто здобувачем.

Основні наукові положення, що виносяться на захист:

1. Противиразкова активність кріоконсервованого екстракту плаценти на тлі профілактичного введення на моделі гострого індометацин-індукованого ушкодження шлунка становила 69,1 %; на моделі гострого диклофенак натрій-індукованого ушкодження – 92,1 %. За лікувального режиму застосування у щурів з субхронічною мелоксикам-індукованою гастропатією противиразкова активність становила 100 %. За лікувально-профілактичного режиму застосування противиразкова активність кріоконсервованого екстракту плаценти на моделях субхронічних ібупрофен-індукованого та індукованого ацетилсаліциловою кислотою ушкодження шлунка становила 72,8 % та 70,6 % відповідно.
2. Комбіноване нарізне введення мелоксикаму та кріоконсервованого екстракту плаценти супроводжувалось зниженням співвідношення вільної та зв’язаної кислотності на 43,0 ± 3,0 % та статистично вірогідного ($p < 0,05$) зменшення перистальтичної активності на 12,3 % відносно показників тварин, які отримували тільки мелоксикам. Комбіноване застосування кріоконсервованого

екстракту плаценти та диклофенаку натрію призводило до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження перистальтичної активності на 7,4 % щодо показників тварин, яким вводили тільки диклофенак натрію.

3. Застосування кріоконсервованого екстракту плаценти на тлі диклофенак натрій-індукованого ураження шлунка призводило до нівелювання антипроліферативної дії останнього, на що вказувало зростання індексу проліферації на 40,0 % відносно показників щурів з гастропатією. На тлі комбінованого застосування диклофенаку натрію та кріоконскрвованого екстракту плаценти у щурів з ад'ювантним артритом на 28 добу експерименту не виявлено порушень гістоархітектоніки слизової оболонки шлунка та відмічалась виразна секреція нейтральних глікопротеїнів.
4. Комбіноване застосування нестероїдних протизапальних засобів та кріоконсервованого екстракту плаценти показало підвищення протизапального ефекту за рахунок інгібування ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти. На це вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) пригнічення зимозан-індукованого запалення у щурів на 78,8 % та 74,8 % на починаючи з 30–60 хв і досягаючи максимуму на 120 хв відповідно.
5. Встановлено потенціювання знеболюючої активності нестероїдних протизапальних засобів на тлі їх комбінованого застосування з кріоконсервованим екстрактом плаценти. Комбіноване застосування ібупрофену та кріоконсервованого екстракту плаценти призводило до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження кількості оцтових корчів у мишей на 43,4 % відносно показників тварин контрольної групи, в той час як на тлі монотерапії ібупрофеном цей показник знизився на 36,9 % ($p < 0,001$).
6. Доведено підвищення терапевтичної ефективності нестероїдних протизапальних засобів на тлі їх комбінованого застосування з

кріоконсервованим екстрактом плаценти за даними гематологічних та біохімічних досліджень. Так, у щурів з експериментальним ревматоїдним артритом встановлена нормалізація рівня реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою, зниження рівня С-реактивного білка ($p < 0,001$) на 61,1 %, зниження рівня серомукоїду ($p < 0,01$) на 17,1 %, зниження швидкості осідання еритроцитів на 72,2 % ($p < 0,001$) та зменшення кількості лейкоцитів на 54,8 % ($p < 0,001$) відносно показників нелікованих щурів.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що викладені в дисертаційному досліджені положення, мають теоретико-прикладну спрямованість і можуть бути використані у:

- *освітньому процесі* – як основа для розширення відомостей про сучасні противиразкові та протизапальні ЛЗ у викладанні фармакології, клінічної фармакології та внутрішньої медицини, зокрема гастроентерології, та ревматології, впровадженням отриманих відомостей у науковий процес відповідних кафедр медичних та фармацевтичних закладів вищої освіти;

- *практичній діяльності* закладів охорони здоров'я щодо розширення показів до медичного застосування КЕП;

- *науково-дослідній діяльності* – для проведення подальших поглиблених наукових досліджень противиразкового та протизапального ефектів КЕП.

Методи дослідження. Задля вирішення завдань роботи розроблено комплексну програму дослідження, реалізація якої досягалась низкою методів:

1. патофізіологічні (метод моделювання патологічного процесу) – для відтворення НПЗЗ-індукованого ураження ШКТ, запальних (гострого альтеративного запалення, гострого ексудативного запалення, хронічного проліферативного запалення, АА) та ноцицептивних процесів (модель вісцерального болю);
2. онкометричні – при дослідженні ПЗА на моделі карагенінового та зимозанового запалення кінцівки, а також при АА у щурів;

3. планіметричні – при оцінці антиальтеративної активності на моделі гострого альтеративного запалення;
4. макроскопічні – для оцінки стану СО ШКТ щурів;
5. патоморфологічні та імуногістохімічні (ІГХ) – при дослідженні стану СОШ;
6. гематологічні та біохімічні – при дослідження змін з боку крові та гомогенатів СОШ;
7. статистичні методи – для опрацювання отриманих даних та оцінки їх значущості (W-критерій Шапіро-Вілка, критерій Левена, t-критерій Ст'юдента, U-критерій Манна-Уітні, Т-критерій Вілкоксона, F-критерій Фішера).

Особистий внесок дисертанта. Дисертація є самостійним закінченим науковим дослідженням автора. Дисертантом визначено основний напрям, мету та завдання дослідження; складено план роботи та розроблені її основні теоретичні і практичні положення. Автором проведено аналіз вітчизняних та закордонних публікацій за напрямом дослідження. Здобувачем самостійно проведено статистичне опрацювання первинних даних за допомогою стандартних статистичних методів і викладено в матеріалах дисертації у вигляді таблиць та графіків. Самостійно написані розділи дисертації. Дисертант спільно з науковим керівником сформулював основні положення та висновки роботи. Підготовлено публікації за матеріалами дисертаційної роботи у періодичних фахових наукових виданнях.

Патоморфологічні та ІГХ-дослідження проведено за методичної та консультативної допомоги завідувача кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України, доктора медичних наук, професора Вернигородського С.В.

У роботах, опублікованих у співавторстві з науковим керівником к. мед. н., старш. досл. Чижом М.О., к. мед. н., мол. наук. співроб. Манченко А.О., к. біол. н., старш. наук. співроб. Бєлочкіною І.В., к. біол. н.,

старш. наук. співроб. Слетою І.В. та наук. співроб. Михайловою І.П. особистий внесок здобувача полягає:

- у роботі [41] – у проведенні патентно-інформаційного пошуку, написання основного тексту та формулюванні висновків;
- у роботах [38, 42, 45, 47, 48, 49, 50, 52, 56, 57, 59, 61,62, 63, 64, 67, 68, 70] – у розробці дизайну дослідження ПВА КЕП, виконанні експериментальної роботи, проведенні статистичної обробки та інтерпретації отриманих результатів, написанні основного тексту, формулюванні висновків;
- у роботах [39, 40, 43, 46, 60] – у розробці дизайну дослідження ПЗА КЕП на тлі комбінованого застосування з НПЗЗ, виконанні експериментальної роботи, проведенні статистичної обробки та інтерпретації отриманих результатів, написанні основного тексту, формулюванні висновків;
- у роботах [44, 51, 53, 54, 55, 58, 65, 66, 69] – у розробці дизайну дослідження знеболюючої активності НПЗЗ на тлі застосування КЕП, виконанні експериментальної роботи, проведенні статистичної обробки та інтерпретації отриманих результатів, написанні основного тексту, формулюванні висновків.

Апробація результатів дисертації. Основні положення і результати дисертаційного дослідження, теоретичні та практичні висновки та рекомендації були оприлюднені та доповідались на 26 вітчизняних та закордонних науково-практичних заходах (у тому числі 10 – у формі усних доповідей і публікації тез, 1 – у формі постерної доповіді і публікації тез та 16 – у формі опублікування тез або статті у збірнику матеріалів):

1. 81-st Lviv Young Scientist International Conference «81-st LYSICon» (**м. Львів**, Україна, 21–23 жовтня 2020 р.);
2. III науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (**м. Харків**, Україна, 19 листопада 2020 р.);

3. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Young science 2.0» (**м. Київ**, Україна, 20 листопада 2020 р.);
4. XIV Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини» (**м. Запоріжжя**, Україна, 20 листопада 2020 р.);
5. VII Республиканская научно-пактическая конференция молодых ученый «Современые достижения молодых учёных в медицине – 2020» (**м. Гродно**, Білорусь, 27 листопада 2020 р.);
6. Міжнародна конференція молодих науковців 2020 «Annual young medical scientists` conference – AYMSConf 2020» (**м. Київ**, Україна, 26–27 листопада 2020 р.);
7. 55 науково-практична конференція молодих вчених «Актуальні питання гігієни праці та професійної патології» (**м. Київ**, Україна, 8 грудня 2020 р.);
8. Итоговая научно-практическая конференция Гродненского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы медицины» (**м. Гродно**, Білорусь, 28–29 січня 2021 р.);
9. Міжнародна дистанційна науково-практична конференція «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology» (**м. Харків**, Україна, 19 лютого 2021 р.);
10. V Міжнародна дистанційна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» (**м. Харків**, Україна, 11–12 березня 2021 р.);
11. XXVII Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Topical issues of new medicines development» (**м. Харків**, Україна, 18–19 березня 2021 р.);
12. 90-та науково-практична конференція студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (**м. Івано-Франківськ**, Україна, 25–27 березня 2021 р.);

13. Сателлитная дистанционная научно-практическая конференция молодых учёных и студентов «Фундаментальная наука в современной медицине – 2021» (**м. Мінськ**, Білорусь (2021 р.);
14. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Young science 3.0» (**м. Київ**, Україна, 26 березня 2021 р.);
15. VIII Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес «Bukovinian International Medical Congress – 2021» (**м. Чернівці**, Україна, 6–9 квітня 2021 р.);
16. Науково-практична конференція з міжнародною участю для студентів та молодих вчених «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (**м. Одеса**, Україна, 9–10 квітня 2021 р.);
17. XXV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (**м. Тернопіль**, Україна, 12–14 квітня 2021 р.);
18. LXXIV Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2021» (**м. Мінськ**, Білорусь, 15–17 квітня 2021 р.);
19. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2021» (**м. Вінниця**, 15–17 квітня 2021 р.);
20. 73 научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (**м. Вітебськ**, Білорусь, 21–22 квітня 2021 р.);
21. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні» (**м. Харків**, Україна, 22 квітня 2021 р.);
22. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» (**м. Харків**, Україна, 22–23 квітня 2021 р.);
23. 45-та щорічна конференція молодих вчених «Холод в біології та медицині: актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології – 2021» (**м. Харків**, Україна, 19 травня 2021 р.);

24. Науково-практична конференція з міжнародною участю: «42 наукові читаня ім. О. О. Богомольця» (**м. Київ**, Україна, 24 травня 2021 р.);
25. Науково-практична конференція молодих вчених «Сучасні досягнення і перспективи розвитку профілактичної та клінічної медицини» (**м. Київ**, Україна, 27 травня 2021 р.);
26. Науково-практична конференція з міжнародною участю: «IX наукова сесія Інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (**м. Дніпро**, Україна, 17–18 червня 2021 р.);
27. 58-th Annual Meeting of the Society for Cryobiology «CRYO 2021» (**Chicago**, USA, 21–23 July, 2021).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 33 наукові праці, у тому числі 10 статей, з яких 3 – у рецензованих фахових періодичних виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus та/або Web of Science Core Collection (у тому числі 2 – у закордонних виданнях Q3 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank), 7 статей – у рецензованих фахових періодичних виданнях України за спеціальністю «222 –Медицина» категорії Б (1 – у електронному виданні), 1 стаття у закордонному збірнику конференції та 23 тези (у тому числі 5 – у збірниках закордонних конференцій та 18 – у збірниках тез вітчизняних науково-практичних заходів). Одноосібно опубліковано 4 статті (1 – у закордонному виданні).

Структура та обсяг дисертації. Структура дисертації обумовлена її метою, задачами, об’єктом і предметом, а також логікою розкриття теми дослідження та викладенням його результатів. Робота складається із основної частини (вступу, п’яти розділів, узагальнення та висновків), списку використаних джерел та додатків. Загальний обсяг дисертації становить 279 сторінок, з яких 200 сторінок основного тексту. Роботу ілюструють 42 рисунка та 40 таблиць. Список використаних джерел займає 37 сторінок та складається з 251 найменування, з яких 185 – закордонні та 66 – вітчизняні публікації.

РОЗДІЛ 1
НЕСТЕРОЇДНІ ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ В ПРАКТИЧНІЙ МЕДИЦИНІ: ЛІКУВАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА НЕБАЖАНІ ЕФЕКТИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

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. [1, 14]. Щорічно у світі, як протизапальні, знеболюючі та антиагрегантні засоби, їх застосовує понад 300 млн. чоловік, з яких 2/3 – без рецепту лікаря [3]. 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 ґенезу, головного чи зубного болю та ін. [1, 2, 6, 8].

За результатами досліджень фармацевтичного ринку України проф. Котвіцької А.А. та співав. у 2016 р., а в подальшому – проф. Яковлева 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, МКС та ІНД сумарно припадало більше половини усього ринку НПЗЗ в Україні [4] (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

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

НПЗЗ	Загальна кількість торговий 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 [1]. Проте необхідно враховувати й те, що широка реклама, загальнодоступність ЛЗ цієї групи, безрецептурний відпуск в аптечній мережі, швидкий та відчутний аналгезуючий 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 [3].

Відомо, що провідним механізмом як ефективності, так й токсичності НПЗЗ є інгібування синтезу ПГ, обумовлене пригніченням активності ЦОГ – головного ферменту метаболізму АК, який було відкрито Джоном Вейном у 1971 р. [31]. Фізіологічно в складі фосфоліпідів клітинних мембран під впливом фосфоліпази A_2 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), ЛОГ та епоксигеназний (ЕЕТ) (рис. 1.1).

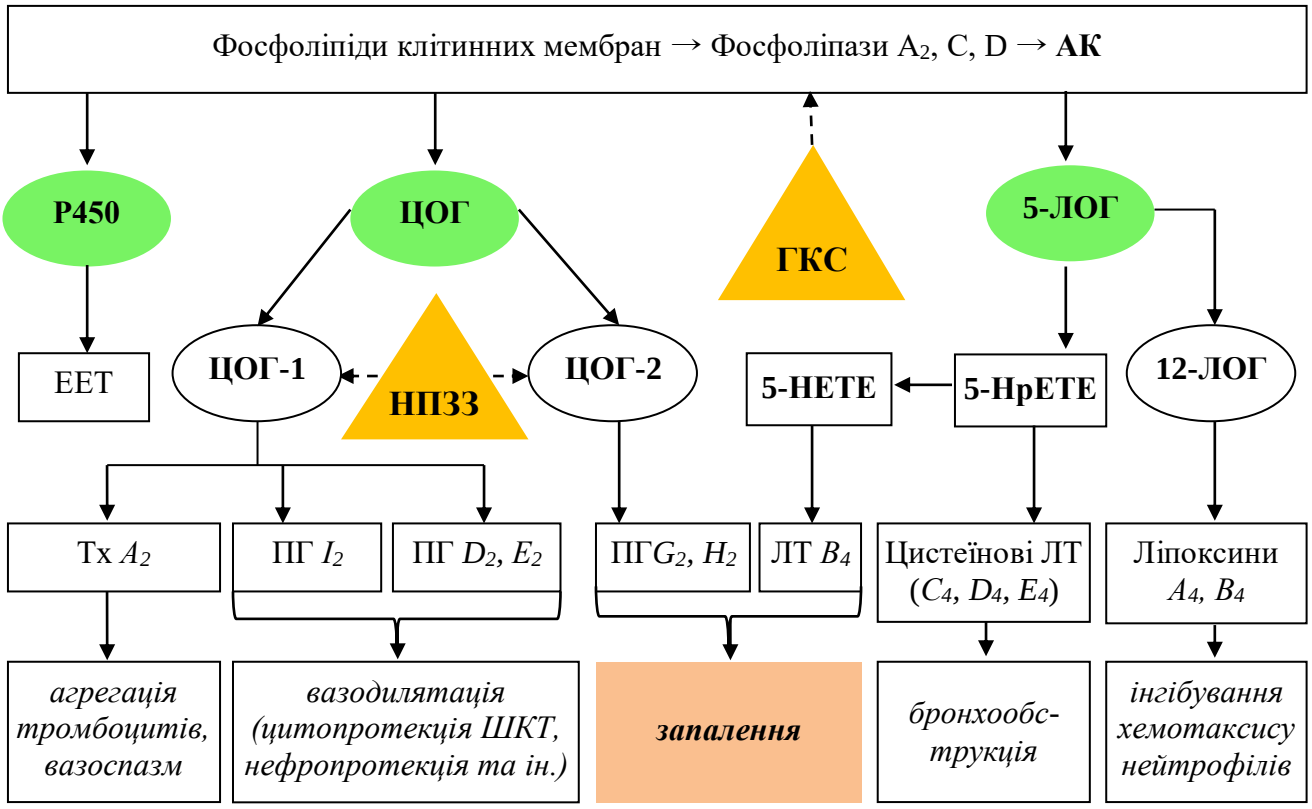


Рис. 1.1 Каскад АК та біологічні ефекти ейкозаноїдів [3, 73]

Примітки.

1. ГКС – глюкокортикостероїди;
2. ЕЕТ – епоксиейкозатетраєнові кислоти;
3. ЛОГ – ліпооксигеназа;
4. ЛТ – лейкотрієни;
5. Н(р)ЕТЕ – гідроксиейкозатетраєнова кислота;
6. НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби;
7. ПГ – простагландини;
8. Р450 – цитохром Р450;
9. ТхA_2 – тромбоксан A_2;
10. ЦОГ – циклооксигеназа.

За хімічною природою НПЗЗ в переважній більшості є похідними кислот – арилкарбонової, арилалканової, енолікової (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

Класифікація НПЗЗ за хімічною структурою [72]

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) [31] та регулює фізіологічні процеси в організмі, зокрема каталізує утворення простацикліну, гастропротекторних ПГ, а також ПГ, що підвищують нирковий кровотік, клубочкову фільтрацію та виведення йонів та води [73]. 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 ПГ*E2*, що лежить в основі центрального механізму жарознижуючої та аналгетичної дії парацетамолу та метамізолу натрію [75].

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 (ПГE_2, ПГ$F_2\alpha$) 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 помірноселективними інгібіторами обох ізоформ ЦОГ (табл. 1.3).

Таблиця 1.3

Класифікація НПЗЗ за селективністю до ізоформ ЦОГ (значення індексу селективності ЦОГ-1/ЦОГ-2) [72]

Селективні інгібітори ЦОГ-1	**Неселективні інгібітори ЦОГ-1**	**Селективні інгібітори ЦОГ-2**	**Високоселективні (специфічні) інгібітори ЦОГ-2**
НДА (166)	ДН (0,7–2,2)	МКС (0,33–0,8)	Целекоксиб
Піроксикам (150)	ІБП (15)	Німесулід (0,2)	(0,001)
ІНД (60–107)	Напроксен (0,6)	Етодолак	Рофекоксиб
Кетопрофен	Флубіпрофен (1,3)	Набуметон	(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 [3, 21, 76]. 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 [31]. Це стало поштовхом до появи наприкінці 90-х років XX 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, встановили, 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 [31].

Не зважаючи на понад столітню історію застосування НПЗЗ у клінічній практиці на сьогоднішній день жоден з препаратів цієї групи не позбавлений специфічних побічних ефектів, які притаманні всім представникам не залежно від хімічної структури. НПЗЗ здатні чинити специфічний негативний вплив на різні органи та системи організму людини, призводячи до розвитку серйозних побічних реакцій [1, 2, 5]. 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. 1.4) [77, 78, 88].

Таблиця 1.4

Основні побічні ефекти НПЗЗ [79]

Небажані побічні ефекти при застосування НПЗЗ у хворих	НПЗЗ	Частота, %
1. Ураження ШКТ (ульцерогенність): - шлунково-кишкові 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
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 патологію, 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 [21, 81]. 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. 1.2).

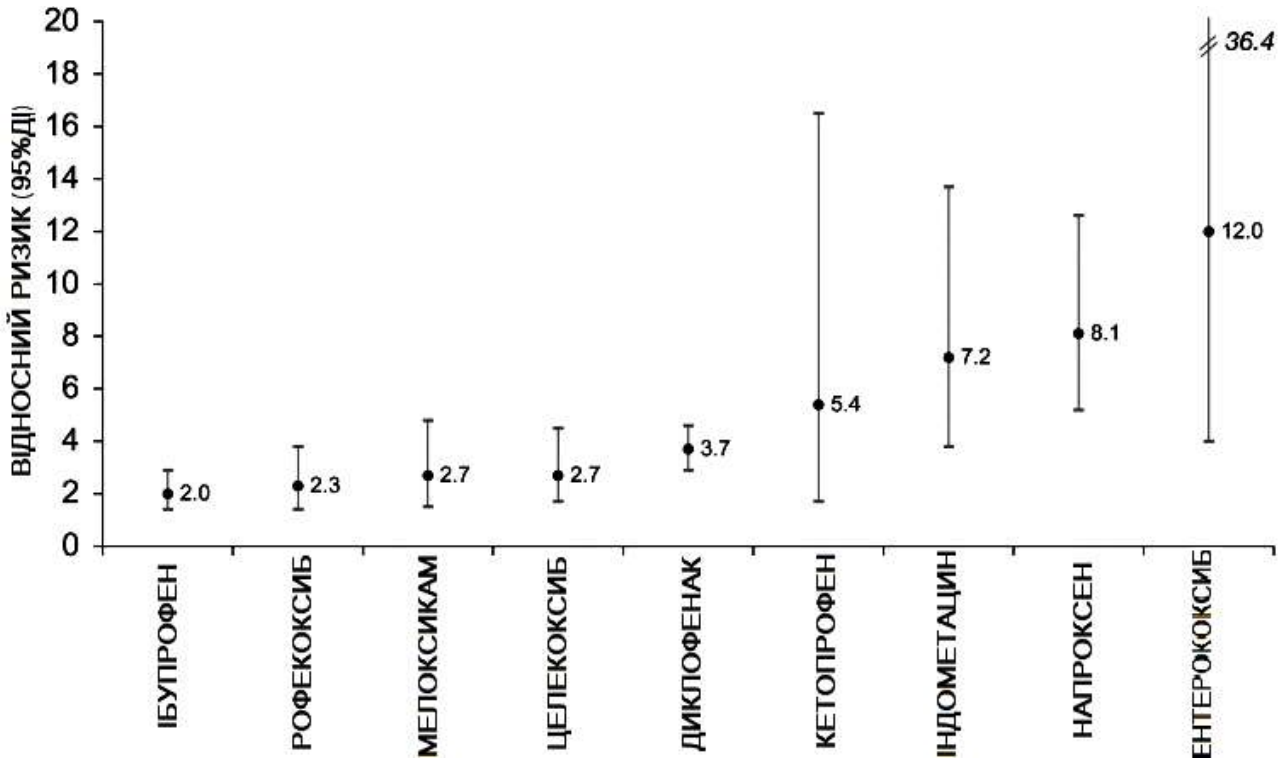


Рис. 1.2 Скорегований відносний ризик серйозних ушкоджень верхніх відділів ШКТ при використанні НПЗЗ порівняно із незастосуванням НПЗЗ [12, 80]

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 [82]. Ранжуванням НПЗЗ за значенням ВР у вказаному дослідженні дозволило розділити ці препарати на чотири групи: ВР < 2 (ацеклофенак, целекоксиб та ІБП); ВР 2–4 (рофекоксиб, диклофенак, МКС, німесулід та кетопрофен); ВР 4–5 (теноксикам, напроксен, ІНД та дифлунісал); ВР > 5 (піроксикам, кеторолак та азапропазон) [82].

Смертність від НПЗЗ-індукованих уражень ШКТ займає 15 місце серед основних причин смерті та близька за рівнем до смертності від СНІДу [84].

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 [82]. Застосування високоселективних інгібіторів ЦОГ-2 (целекоксибу, рофекоксибу та ін.) знижує частоту гастроінтестинальних ускладнень, проте, інгібуючи утворення простацикліну, вони здатні зрушувати баланс між вмістом простацикліну і ТхA_2 на користь останнього, котрий виступає протромботичним фактором, в результаті чого й розвиваються кардіоваскулярні порушення, включаючи інфаркт міокарду. [85, 86, 87].

Токсична дія НПЗЗ на стан ССС обумовлена цілою низкою патогенетичних механізмів, які лежать в основі їх фармакологічної активності – ЦОГ-опосередковане зниження продукції ПГI_2, який продукується ендотелієм судин, викликає їх вазодилятацію та інгібує агрегацію тромбоцитів, а НПЗЗ-індуковане зниження його продукції може призвести до розвитку тромбозу, особливо в світлі зниження його протидії до ТхA_2, який продукується тромбоцитами та здатен викликати спазм судин [77]. 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 гіпер тензію [77]. Крім того варто відзначити, що НПЗЗ здатні знижувати ефективність інгібіторів ангіотензин-перетворюючого ферменту, β-блокаторів та діуретиків [21]. В свою чергу затримка натрію, підвищення тонусу судин та дестабілізація артеріальної гіпертензії, обумовлені прийомом НПЗЗ, можуть виступати підґрунтям для декомпенсації хронічної серцевої недостатності у пацієнтів групи ризику [21]. 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 [21].

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 [78, 79]. Оцінка відносного ризику розвитку гострої печінкової недостатності показала, що німесулід менш небезпечний ніж парацетамол та ІБП, і фактично дорівнює за гапатотоксичністю диклофенаку та кетопрофену [88].

Диклофенак частіше викликає змішаний цитолітично-холестатичний гепатит, суліндак – холестатичний або цитолітично-холестатичний гепатит, АСК (у високих дозах) може спричинити помірний цитоліз або мікровезикулярний стеатоз [88].

Сумарний ризик ураження печінки на тлі застосування НПЗЗ (відношення шансів) становить 1,69 (95 % ДІ: 1,21–2,37), для німесуліду – 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) [21, 78].

Іншим загрозливим ускладненням застосування НПЗЗ виступає їх нефротоксичність. Застосування неселективних НПЗЗ розглядається в якості однієї з ключових причин розвитку хронічної ниркової недостатності, а збільшенням 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 чинять 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 [12].

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) [76, 95].

До останнього часу побічна дія НПЗЗ на шлунково-кишковий тракт досліджувався переважно у верхніх відділах гастроінтестинальної зони – шлунку і дванадцятипалій кишці [92]. В останній час змінилось трактування і клінічними настановами затверджено відмінності поняття «НПЗЗ-індуковане пошкодження травного тракту» та «НПЗЗ-гастропатія», які не є абсолютно синонімічні, та стратегії їхнього запобігання [91, 92].

Від 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, 92]. Так, за даними цілого рядку дослідників – Вялова В.В., Маєва І.В., Циммєрмана 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 слизової оболонки (СО) не останнє місце відіграє саме запалення, що вказує на більшу доцільність терміну «НПЗЗ-гастрит» [9, 14, 92]. Маєв І.В. та співав. вказують, що патогенез НПЗЗ-асоційованого ураження ШКТ, зокрема, супроводжується утворенням лейкотрієну (ЛТ) *B4*, який викликає запалення та ішемію тканин за рахунок адгезії нейтрофілів до ендотелію судин [9, 21, 80]. По-друге, термін «НПЗЗ-гастропатія» (або «НПЗЗ-гастрит») не доцільно використовувати при всіх ушкодженнях ШТК, 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 [89, 91]. Тому у 2018 р. Лабєзнік Л.Б. та співав. [76] 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) [76].

Відданість традиціям доходить до того, що в свідомості більшості колег поняття «НПЗЗ-індуковане пошкодження травного тракту» і «НПЗЗ-гастропатія» є абсолютно синонімічні [92]. 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 [91, 92].

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 кооперація реалізується інтенсивний селективний транспорт та забезпечується потужний захист від дії механічних, хімічних й біологічних факторів [93, 94]. Система захисту СО ШКТ включає 3 рівні: 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 [94]. Дисбаланс між факторами

захисту та факторами агресії є ключовим механізмом ульцерогенезу (рис. 1.3) [95, 96, 97, 98, 99].

<table>
<tr><th colspan="3">Ульцерогенна дія НПЗЗ</th></tr>
<tr><th rowspan="2">Топічні ефекти</th><th colspan="2">Системні ефекти</th></tr>
<tr><th>ПГ-залежні</th><th>ПГ-незалежні</th></tr>
<tr>
<td>• ↑ акцепція йонів епітеліальними клітинами шлунка
➢ ↓ мітохондріального окисного фосфорилювання
➢ ↓ транспорту електронів
➢ ↑ вмісту активних форм кисню
➢ ↑ апоптозу, некрозу

• взаємодія із позаклітинними та мембранними фосфоліпідами
➢ ↓ гідрофобності мембран та формування пор
➢ ↑ проникності мембран → ↑ чутливості до пошкодження

• ↓ зв’язування епідермального актору росту зі своїм рецептором
➢ ↓ відновлення СО</td>
<td>Інгібування ЦОГ-1
➢ ↓ кровотоку у СО
➢ ↓ продукції слизу, фосфоліпідів, бікарбонатів
➢ ↑ кислотності
➢ ↑ проникність
➢ стимуляція запальних
➢ процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження

Інгібування ЦОГ-2
• ↓ вивільнення факторів росту
➢ ↓ проліферації епітеліальних клітин
➢ ↓ ангіогенезу
• ↑ лейкоцитарної адгезії
стимуляція запальних процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження</td>
<td>• ↑ синтез ЛТ (ЛТВ4)
➢ ↑ лейкоцитарної адгезії
➢ стимуляція запальних процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження

• активація iNOS
• інактивація конституційної NO-синтази (cNOS)
• ↓ синтезу H_2S

• ↓ кровотоку у С
• ↑ лейкоцитарної адгезії
➢ ↓ ангіогенезу
➢ стимуляція запальних процесів у СО → ↑ чутливості до пошкодження</td>
</tr>
</table>

Рис. 1.3 Топічні та системні механізми ульцерогенної дії НПЗЗ [96, 97, 98, 99]

За даними літератури [92, 100, 101, 102] до основних теорій ульцерогенезу належать: судинна теорія Вірхова Р.Л. (1852 р.) згідно якої ішемія стінки шлунка вважається фактором виразкоутворення; механічна теорія Ашоффа К. (1912 р.), в основі якої положення про локальне пошкодження СО шлунка; 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»; запальна теорія Коньєджі Х. (1925 р.) з обґрунтуванням гастриту як передвиразкового стану; нейрорефлекторна теорія

Рослі Р.(1912 р.), в якій причиною виразкоутворення вважаються патологічні вісцеровісцеральні рефлекси; нейровегетативна теорія Бергмана Е. (1913 р.), відповідно до якої виразку шлунку вважають наслідком порушення функції вегетативної нервової системи; нейротрофічна теорія Сперанського А.Д. (1935 р.); кортиковісцеральна теорія Бикова К.М., Курцина І.Т. (1948 р.); теорія стресу Сельє Г. (1953 р.), теорія слизового бар'єру Холландера Д. (1954 р.), згідно з якою причиною утворення виразки вважали порушення вироблення слизу та його компонентів. На додаток отримали визнання 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 пошкоджуючу дію; теорія дуоденогастрального рефлюксу (Plessis D.J., 1965 р.), що обґрунтовує детергентну дію жовчі; теорія венозного стазу (Норкунас П.І., 1980 р.). В остання роки сформовано погляд на роль *Helicobacter pylori* в патогенезі виразкової хвороби. Проте всі зазначені теорії здебільшого орієнтовані на механізми ульцерогенезу у верхніх відділах ШКТ. Щодо механізмів ульцерогенезу в тонкій кишці то питання набуло актуальності лише в останнє десятиліття та підлягає всебічному вивченню в наші дні.

У світлі провідного механізму дії нестероїдних антифлогістиків заслуговує особливої уваги запальний механізм ульцерогенної дії НПЗЗ пов'язаний із «шунтуванням» метаболізму АК на 5-ліпоксигеназний шлях. В результаті цього збільшується синтез ЛТ*В4* та пептидолейкотрієнів – ЛТ*С4*, ЛТ*Д4*, ЛТ*Е4*, що провокують інфільтрацію СО запальними клітинами. Підтвердженням слугують літературні дані про ефективність зілеутону (інгібітор 5-ліпоксигенази) 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 [9, 103].

Другим механізмом виникнення 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 [103, 104, 105].

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 індуцибельної NO-синтази (iNOS) з NO в присутності супероксидрадикала утворюється пероксинітрат, який володіє місцевоушкоджуючою активністю на СО [106]. Окрім цього, за рахунок впливу на внутрішньоклітинну концентрацію кальцію відмічається дисфункція гастродуодинального комплексу (див. рис. 1.3).

Серед людей, які постійно приймають НПЗЗ, 25,0 % страждають від виразкових уражень гастродуоденальної зони, при цьому кровотеча або перфорація виникають в 2–4 % пацієнтів [76, 100]. 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 [25].

За даними Bjarnason I. та співав. [93, 107], 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. [93] повідомляють, що основна причина інтестинальних перфорацій і кровотеч пов’язана саме з прийомом НПЗЗ. Morris A.J. та співав. [93] при вивченні історій хвороби 46 пацієнтів з ревматоїдним артритом, які приймають НПЗЗ, відзначають, що в 41,0 % випадків мала місце залізодефіцитна анемія з характерною картиною гіперемії та виразок. Kessler W.F. та співав. [93] 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 % проявлялися кровотечею, у 33,0 % – перфорацією та у 17,0 % випадків – кишковою обструкцією. Allison M.C. та співав. [93] 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. [108], 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 [109]. Встановлено, що пошкодження, викликані прийомом НПЗЗ, також мали місце в дистальних відділах тонкої і товстої кишки, частіше за все – в ілеоцекальній ділянці [100].

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 [110]. Незважаючи на вкрай рідкісне виникнення профузних кишкових кровотеч, основна проблема полягає у неможливості точної практичної верифікації рівня ураження та проведенні адекватної локальної (як, втім, й системної) гемостатичної терапії [93].

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 ґенезу. Чутливість методу складає 75,0 %, специфічність – 84,0 % [110]. Візуалізацію слизової оболонки тонкої кишки забезпечує капсульна ендоскопія. За даними Maiden L. та співав. [110, 111] 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 слизової оболонки тонкої кишки виявляються у 80,0 % пацієнтів, які приймають НДА протягом більше двох тижнів. Подвійна балонна ентероскопія забезпечує більш повну візуалізацію змін тонкої кишки, але не використовується в якості першої лінії діагностики через інвазивність методики [110].

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-гастропатій [17, 100, 111]. 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 [91, 100]. 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 дванадцятипалої шляхом ентерогепатичної рециркуляції (рис. 1.4). НПЗЗ, які не піддаються ентерогепатичній рециркуляції, значного пошкодження кишечника в експериментах не викликали, що було підтверджено при перев'язці жовчної протоки [89, 91, 100].

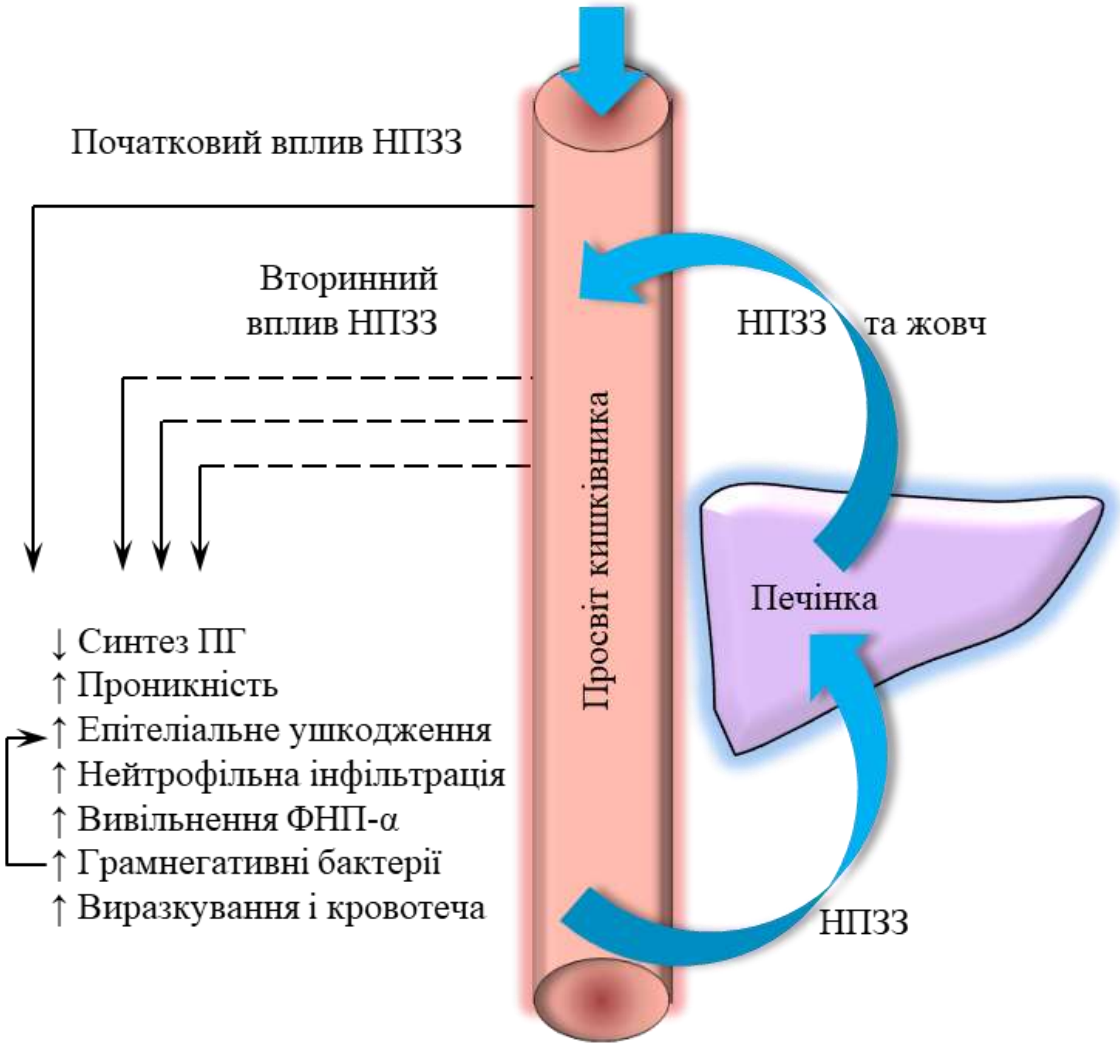


Рис. 1.4 Схема патогенезу ентеропатії, індукованої НПЗЗ за Wallace J.L. [112]

За даними літературних джерел [89, 91, 112, 113] НПЗЗ здатні безпосередньо викликати пошкодження інтестинальних епітеліальних клітин, причому ці ефекти посилюються, коли НПЗЗ впливають на слизову спільно з жовчу [89, 91, 100, 113]. Основним механізмом НПЗЗ-індукованого епітеліального пошкодження вважається роз'єднання окисного фосфорилювання, 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 фактору некрозу пухлин (TNF)-α у розвитку НПЗЗ-ентеропатії, хоча його ефект не залежать від індукції лейкоцитарної адгезії на судинному ендотелії.

Привертають увагу дані літератури [89, 91, 100, 113], 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 [116]. Клітини, асоційовані з імунною системою – М-клітини, В-клітини, Т-клітини, взаємодіючи з нормальною мікрофлорою кишківника, продукують імуноглобулін Ig*A* і тим самим нейтралізують патогени та продукують цитокіни. В результаті відбувається стимуляція імунітету або пригнічення запальної відповіді [116, 117].

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 [100, 114]. Крім того відомо, що у стерильних щурів і мишей НПЗЗ-ентеропатії не виникають [100, 113, 114]. 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 [100, 113, 114]. 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 [100, 112, 114]. Важливим є те, що зміни кишкової мікробіоти спостерігаються тільки при застосуванні НПЗЗ, здатних до ентерогепатичної циркуляції. Також важливим фактором є здатність деяких бактерій декон'югувати жовчні кислоти (рис. 1.5).

Рис. 1.5 Вадове коло патогенезу НПЗЗ-ентеропатії [74, 91]

На відміну від шлунка, на сьогоднішній день немає доказів того, що в патогенезі НПЗЗ-індукованого ушкодження відділів тонкого кишківника, розташованих нижче зв'язки Трейтця (*lig. suspensorium duodeni*) важливу роль відіграє соляна кислота (HCl) шлункового соку [100]. Проте, слід зазначити, що пригнічення шлункової секреції може призводити до розвитку надлишкового бактеріального росту в тонкій кишці, здатного підсилювати тяжкість НПЗЗ-ентеропатії [112, 114, 116]. Існуючі на сьогоднішній день підходи до послаблення ульцерогенної дії НПЗЗ спрямовані переважно на нівелювання пошкоджуючої дії на слизову оболонку шлунка 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 [100, 114].

Оскільки в патогенезі НПЗЗ-ентеропатії важливе значення мають грам-негативні бактерії, тому тривають дослідження ефективності різних антибактеріальних засобів [100, 114]. Передбачається також, що потенційно ефективним препаратом для запобігання НПЗЗ-індукованих пошкоджень кишківника, що зменшує кишкову проникність і запалення, може бути метронідазол [100, 114]. 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 [119]. В одному з досліджень показано, що застосування *Lactobacillus casei* супроводжувалося зменшенням тонкокишкових ушкоджень (за даними відеокапсульної ендоскопії) у хворих, які отримували НДА [100, 114, 119]. Однак, протективна роль пробіотиків за умов НПЗЗ-ентеропатії ще не має достатньої доказової бази.

Лікування НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії класично направлене на кислотосупресивну терапію (ІПП, H_2-гістаміноблокатори та ін.), застосування гастроцитопротекторів (де-нол, сукральфат та ін.) та препаратів, які відновлюють вміст ПГ у СО (мізопростол, ребаміпід та ін.) [120, 121, 122]. Проте всі зазначені групи лікарських засобів недостатньо задовольняють клініцистів, оскільки спрямована переважно на лікування власне НПЗЗ-гастропатії та мають власні побічні ефекти (табл. 1.5).

Таблиця 1.5

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

Група засобів	Основні представники та режим застосування	Побічні (небажані) ефекти
КИСЛОТОСУПРЕСИВНІ	**Системні антациди** - $NaHCO_3$ по 0,5–1,0 г - $CaCO_3$ по 0,5–1,0 г - MgO або $4MgCO_3 \times Mg(OH)_2 \times nH_2O$ 0,5–1 г - суміш Бурже ($4MgCO_3 \times Mg(OH)_2 \times 4–5H_2O$ - Ренні (680 мг $CaCO_3$ + 80 мг $MgCO_3$) 1–2 таб. 4 р/д. та ін.	Розвиток метаболічного алкалозу, синдром «рикошету» (вторинної гіперсекреції), підвищене газоутворення ($NaHCO_3$), гіперкальціємія, закрепи ($CaCO_3$), проноси (MgO), гіпермагніємія та ін. [117, 123].
	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 $BiNO_3(OH)$, BiONO і BiOOH) та комбіновані препарати на його основі (вікалін, вікаін) та ін.	При тривалому використанні здатні викликати пригнічення моторики кишківника, порушення мінерального кісткового обміну («ньюкастлівська кісткова хвороба», остеопороз, остеомаляція), гіпофосфатемію, розвиток нефро- і енцефалопатії та ін. [6, 117].
	Альгінати (нейтральні полісахаридні полімери бурих водоростей *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum nodosum* та ін.) – гавіскон, гевіскон, ламіналов та ін.) та ін.	Профілактична та/або лікувальна ефективність значно поступається за ефективністю підходу, спрямованого на зменшення кислотопродукції. [6, 104].

Продовження таблиці 1.5

КИСЛОТОСУПРЕСИВНІ	***М-холіноблокатори** **Неселективні:** - 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 **Селективні:** гастроцепін 0,025–0,05 г 2 р/д та ін.	Сухість у роті, зниження гостроти зору, підвищення внутрішньоочного тиску, тахікардія, затримка сечовипускання, 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. [123, 124].
	***Антагоністи гастринових рецепторів** - проглумід 0,2 г 4 р/д та ін.	Поступаються за ефективністю ІПП, оскільки залишають можливість ацетилхолінового шляху стимуляції секреції HCl [123, 124].
	H_2-гістаміноблокатори - 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.	
	ІПП - омепразол - лансопразол - езомепразол - рабепразол та ін.	Виснаження захисного кислотного-пептичного бар'єру супроводжується синдромом надлишкового бактеріального росту, що підвищує ризик розвитку кишкових інфекцій, включаючи псевдомембранозний коліт (*Clostridium difficile*), призводить до розвитку мальабсорбції певних речовин з подальшим їх дефіцитом (вітамін B_{12}, Fe^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}), 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 нітрозо-оксидативного стресу і деградації білків слизу з подальшим руйнуванням слизового бар'єру [124, 126, 127, 128, 129, 130].

Продовження таблиці 1.5

ПГ	**Синтетичні аналоги ПГ** - мізопростол 0,0002 г (аналог ПГ*E1*) - ріопростил (аналог ПГ*E1*) - енпростил (аналог ПГ*E1*) - арбапростил (аналог ПГ*E1*) - тимопростил (аналог ПГ*E2*) та ін. **Стимулятори синтезу ПГ** - ребаміпід 0,1 г 3 р/д та ін.	Діарея, метеоризм, абдомінальні судоми, головний біль, нудота, блювота, метеоризм, диспепсія, анорексія та ін. [131, 132, 133].
ГАСТРОПРОТЕКТОРИ	- сукральфат - карбеноксолон натрію **Препарати вісмуту** - 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). [21].

Примітка. * – наведено виключно в історичному аспекті. На сьогоднішній день вийшли з широкого використання.

Зважаючи на чисельні побічні ефекти зазначених вище груп лікарських засобів (кислотосупресивні препарати, гастропротектори та препарати ПГ) є актуальним напрямом створення безпечних НПЗЗ шляхом модифікації існуючих молекул. 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 H_2S, виявлений в останні роки, послужив поштовхом до серйозних досліджень можливості використання цих речовин для захисту СО ШКТ при прийомі НПЗЗ [30, 106]. Важливою мішенню газотрансміттерів є покривний епітелій шлунка і кишківника, в якому під впливом H_2S та NO встановлена активація продукції слизу і бікарбонатів [106, 133]. Доведено стимулюючу дію газів-медіаторів на проліферацію недиференційованих клітин, що забезпечує репарацію виразкових дефектів [135]. Слід зазначити, що газоподібні медіатори беруть участь в регуляції процесів апоптозу та проліферації клітин СО ШКТ [135].

Виражений 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. [136] описали похідне аспірину з антипроліферативною та протизапальною дією [106].

Оксид азоту є потужним вазодилататором, інгібує активацію лейкоцитів, сприяє підтримці цілісності судинного ендотелію, а також стимулює секрецію слизу та бікарбонатів у ШКТ [137]. 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 [94, 135]. 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. [106].

H_2S, 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 [132]. H_2S володіє широким спектром фізіологічної дії – нейромодулюючий, судинорозширюючий та протизапальний ефекти [106, 138, 139, 140]. Відкриття вказаних властивостей гідроген сульфіду лягло в основу розробки нових протизапальних засобів, що вивільняють H_2S. До теперішнього моменту отримані вагомі докази того, що H_2S-рилізинг фрагмент, інтегрований до молекул НПЗЗ, значно зменшує пошкоджуючу дію останніх на ШКТ, не знижуючи при цьому протизапальний ефект [141]. Для деяких препаратів встановлено навіть підвищення протизапальної активності гібридів НПЗЗ + H_2S-рилізинг фрагмент. Прикладом такого нового препарату є АТВ-346, що представляє собою H_2S-вивільнююче похідне напроксену [138, 106, 141].

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 [96]. Ці дані узгоджувалися з раніше опублікованими даними Dillon C.T. та співав. про поліпшення гастроінтестинального профілю безпеки ІНД при його кон'югації з Zn [142].

Модуляція «ефекторних функції» аферентних терміналів *n. vagus*

Недавно з'явився на ринку модифікований НПЗЗ амтолметину гуацил (найзилат), особливістю якого є його взаємодія із рецепторами, які здатні зв'язуватися з гомованіл-заміщеними лігандами (ванілоїдами) та селективно модулювати локальну «ефекторну функцію» первинних аферентів. Ці рецептори отримали назву ванілоїдних (капсаїцинові) рецептори (vanilloid receptor) та належать до суперсімейства TRP (transient receptor potential) катіонних каналів й утворюють в сукупності одне з шести суперсімейства – $TRPV_1$ (transient receptor potential vanilloid 1). Взаємодія амтолметилу гуацилу з $TRPV_1$ СО (до потрапляння в системний кровотік) супроводжується індукцією

каскаду біохімічних перетворень, які активують NO-синтази, знижують стимульовану продукцію HCl, пригнічують ПОЛ та ін. [143, 144].

За даними літературних джерел [145] $TRPV_1$ локалізуються на чутливих нейронах системи блукаючого нерву (*n. vagus*) та трійчастого нерву (*n. trigeminus*), в симпатичних нервових сплетеннях кишківника, сечового міхура, в деяких структурах центральної нервової системи (смугасте тіло (*corpus striatum)*, гіпокамп, ядра мозочка), а також епітеліоцитах кишківника та сечового міхура та ін. [145]. Як відомо, нервові сплетення шлунка майже на 90–100 % представлені синаптичними закінченнями прегангліонарних волокон *n. vagus* [145]. Концепція «ефекторної функції» аферентних закінчень та відомості про наявність у певної частини чутливих терміналей *n. vagus* везикул, що містять нейропептиди, такі як субстанція Р (SP), кальцитонін-ген споріднений пептид (CGRP) і ін., дозволяє розглядати модуляцію активності аферентних закінчень як перспективний підхід до гастроентеропротективної терапії. [145, 146, 147].

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, кверцетин та ін.). Так, співробітниками Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (м. Харків, Україна) у 70-х роках XX 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 індотрил – ІНД + тіотриазолін).

Крім вітчизняних у світову практику впроваджені комбіновані препарати «НПЗЗ + гастро- та/або ентеропротектор»: артротек (ДН + мізопростол), аспіфат (АСК + сукральфат), дуексис (ІБП + фамотидин), вімово (напроксен + езомепразол), аксорид (кетопрофен + езомепразол), тіоаспекард (АСК + тіотриазолін) та ін. [148, 149, 150].

Крім зазначених підходів до покращення профілю безпечності НПЗЗ та зниження їх пошкоджуючого впливу на ШТК розробляються й інші – застосування репарантів (даларгін, солкосерил та ін.), антиоксидантів (мексидол, гіпоксен), актопротекторів (метапрот та ін.), біофлаваноїдів (рутин, кверцетин та ін.), похідних амінокислот та ін. [151].

1.3 Політропність біологічних ефектів кріоконсервованого екстракту плаценти (КЕП) 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 [152]. Слід зазначити, що авторами показана співставна ефективність як субмукозного введення мезенхімальних стовбурових клітин так й екстрактів зазначених клітин при експериментальній ІНД-індукованій гастропатії [152].

Аскаров 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 [27]. Науковці тієї ж групи продемонстрували ефективність використання біорегуляторних пептидів з тканини селезінки (спленопід) на аналогічній моделі виразки у щурів. [27]. Дослідники встановили, що спленопід сприяє прискоренню зміні фаз процесу регенерації та переходу до проліферативно-репаративних процесів в ділянці виразкового дефекту [28].

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 [29].

Гулевський А.К. та співав. встановили, що внутрішньом'язове (в/м) введення низькомолекулятної фракції кордової крові (до 5 кДа) великої рогатої худоби щурам з експериментальною виразкою, індукованою АСК, сприяє нормалізації вмісту у крові ТБК-РП та активність лужної фосфатази (ЛФ), що свідчить про зниження запалювальної реакції у слизовій оболонці шлунка. Також встановлено, що введення фракції прискорює процеси регенерації слизової оболонки шлунка до повного загоєння виразкового ураження [153].

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

Плацентарна терапія застосовується в комплексному дікуванні захворювань та регенерації тканин з початку XX століття [154]. 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 [154]. Перші повідомлення про 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 [155].

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 [30, 37, 31, 32, 33, 34].

Плацента є природним «депо» та продуцентом практично всього спектру біологічно активних речовин (табл. 1.6), що забезпечують ріст та розвиток плоду під час внутрішньоутробного розвитку. Вона забезпечує процеси трофіки та білковий синтез, газообмін, гормоновиділення та гормонорегуляцію, регуляцію кров'яного тиску, зсідання крові, антитоксичну функцію та виділення метаболітів, депонування біологічно активних речовин, імунну регуляцію, регуляцію процесів перекисного окислення ліпідів та ін. [30, 31, 35, 36].

Таблиця 1.6

Біологічно активні речовини, які містяться в кріоекстракті плаценти [30]

Назва біологічно активних речовини	**Характеристика**	**Вміст**
-1-	*-2-*	*-3-*
α-фетопротеїн	Активатор (або інгібітор) 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

Продовження таблиці 1.6

-1-	*-2-*	*-3-*
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 гіпофизу, сприяє дозріванню фолікулів в яєчниках 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, імуномоделююча 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
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
ІЛ*1β*	Регуляція диференціювання поліпотентних стовбурових клітин, імуноендокринної системи	201,7 пкг/мл
ІЛ*4*	Регуляція диференціювання поліпотентних стовбурових клітин, імуноендокринної системи	21,7 пкг/мл
ІЛ*6*	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 нижче 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-діафорази, сукцинатдегідрогеназа, системи гістамін-гістаміназа, ацетилхолін-ацетилхолінестереза, фактори згортання крові та фібринолізу та ін. В плаценті також відбувається синтез білків, що відносяться до класу ІЛ – ІЛ*1*, ІЛ*6*, ІЛ*8*, ІЛ*2*, 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 [30, 37]. Крім того до складу препаратів плаценти входить ряд факторів росту: гепатоцитів (HGF), інсуліноподібний (IGF), фібробластів (FGF), епідермальний (EGF), нервів (NGF), колоніестимулюючий (CSF) та ін. [30].

Важливо й те, що плацента є джерелом системних білкових та стероїдних гормонів, цитомединів, імунних факторів та ін. [30, 37]. У тканинах плаценти синтезується пептиди, які є структурними аналогами ендорфінів та енкефалінів, які регулюють імунну відповідь клітинного та гуморального типу.

Багаторічні дослідження показали, що екстракт плаценти впливає на органи-мішені, стимулюючи їх функціонування, та підвищує неспецифічну резистентність організму до несприятливих факторів зовнішнього середовища та стресових чинників, стимулює репаративні властивості клітин при пошкодженнях та захворюваннях різного ґенезу [30].

Ряд досліджень демонструють наявність ПЗА у кріоконсервованих препаратів плаценти [156, 157]. 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 [158]. Гуліда М.О. та співав. продемонстрували клінічну ефективність КЕП за внутрішньосуглобового введення пацієнтам, хворим на РА [159]. 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 [160]. Шепітько К.В. встановив

ефективність використання препаратів плаценти в умовах експериментального гострого асептичного перитоніту за даними патоморфологічних досліджень СО кишківника [161, 162].

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 [163]. Застосування кріоконсервованих препаратів плаценти чинило лікувальну дію за антифосфоліпідного синдрому, а також вони успішно використовувались з метою імунізації вагітних [164, 165].

Рєпін М.В. та співав. показали здатність КЕП чинити нефропротекторну дію шляхом нормалізації морфофункціонального стану нирок [166].

За даними Ковальова Г.А. та співав. препарати плаценти проявляють виразний стимулюючий плив на процеси репарації на моделі холодових ран, зокрема шляхом зменшення мікробного обсемінення [167].

Ліхіцький О.О. та співав. довели стимулюючий вплив кріоконсервований препаратів плаценти на процеси проліферації та диференціювання клітинних та тканинних компонентів кісткової тканини в динаміці репаративного остеогенезу після травматичного ушкодження [168].

Окремі дослідження демонструють наявність кардіопротекторних властивостей у кріокнсервованих препаратів плаценти [169, 170].

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

Висновки до розділу 1

1. Нестероїдні протизапальні засоби на сьогоднішній день належать до найуживанішої групи препаратів в Україні та світі завдяки виразним протизапальному, знеболюючому, жарознижувальному та антиагрегантному ефектам. Використання вказаних лікарських засобів

значно обмежується притаманними їм побічними ефектами, найбільш поширеними з яких є порушення з боку шлунково-кишкового тракту.

2. Ефективність широковживаних препаратів корекції ульцерогенної дії нестероїдних протизапальних засобів (ІПП, препарати ПГ, гастропротектори та ін.) не задовольняє клініцистів, зокрема через власні побічні ефекти цих ЛЗ. Це спонукає до пошуку нових шляхів зниження езофаго-гастро-ентеротоксичності антифлогістиків нестероїдної природи.
3. Кріоконсервований екстракт плаценти людини є перспективним засобом біологічної терапії ульцерогенних ушкоджень шлункового тракту, індукованих нестероїдними протизапальними засобами.

Основні положення цього розділу викладено у публікаціях автора [41].

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проведено на базі ІПКіК НАН України у відділі експериментальної кріомедицини (в. о. завідувача відділу – к. мед. н., старший дослідник Чиж М.О.). Робота виконана в контексті планової НДР «Деструктивні та відновні процеси в тканинах *in vivo* після дії низьких температур та біологічно активних речовин» (шифр 2.2.6.113, номер державної реєстрації 0117U001049).

2.1 Характеристика предмету дослідження

Предметом дослідження є фармакологічні властивості КЕП та НПЗЗ (ДН, МКС, ІБП, ІНД та АСК).

2.1.1 Характеристика КЕП та досліджуваних НПЗЗ

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»**. Заготівля, консервування та гіпотермічне зберігання КЕП виконувалось згідно методики, розробленої в ІПКіК НАН України [171].

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, синдром набутого імунодефіциту людини (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) КСІ, 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 мілліпорові фільтри (діаметр 0,22 мкм), фасують в ампули прозорого скла по 1,8 мл та зберігають у рідкому азоті [171].

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. 2.1) [172].

Таблиця 2.1

Фармацевтична характеристика досліджуваних ЛЗ та КЕП

Міжнародна непатентована назва	Торгова назва (виробник, країна)	Дозвільні документи	Форма випуску
-1-	*-2-*	*-3-*	*-4-*
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

Продовження таблиці 2.1

-1-	*-2-*	*-3-*	*-4-*
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 "Фармацевтична 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. 2.2) [72].

Таблиця 2.2

Фармакологічна характеристика досліджуваних НПЗЗ [173, 174]

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 [174]	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. $ЛД_{50}$ – летальна доза для 50,0 % тварин
3. $УД_{50}$ – ульцерогенна доза для 50,0 % тварин;
4. $ЕД_{50}$ – ефективна доза для 50,0 % тварин за протизапальною активністю;
5. ТІ – терапевтичний індекс;
6. ІПС – індекс переносимості;
7. $Т_{1/2}$ – час напіврозпаду.

2.1.2 Експериментальні тварини та методика розрахунку доз досліджуваних засобів

Найбільш зручним об’єктом для вивчення ульцерогенної дії НПЗЗ є щури [175]. Експериментальні дослідження *in vivo* проведені на 546 нелінійних лабораторних щурах-самцях масою 200–220 г та 70 мишах масою 20–22 г, які утримувались в умовах віварію ІПКіК НАН України. До початку експерименту щури впродовж 14 діб перебували в умовах карантину (Наказ МОЗ УРСР № 755 від 12.08.1977 р. «Структура та утримання експериментальних біологічних клінік»; СТ-Н МОЗ України 42-6.0:2008 «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика») після чого проводилась рандомізація на групи

по 7 особин в кожній із подальшим утриманням в умовах стандартного водно-харчового раціону (Наказ МОЗ СРСР № 163 від 10.03.1966 р. «Про добові норми годування лабораторних тварин та продуцентів» та доповнення від 04.12.1978 р.) з вільним доступом (*ad libitum*) до води та їжі. У всіх серіях дослідження тваринам у групах наносили індивідуальні мітки. Впродовж всього експерименту контролювали масу тіла, оцінювали зовнішній вигляд та загальний стан тварин (поведінкові реакції, рефлекси, у т. ч. харчовий тощо).

Для уникнення впливу на експеримент добового ритму біологічної активності досліди виконували завжди у першій половині дня з 8 до 11 год. У разі загибелі тварин піддавали розтину та проводили макроскопічний аналіз органів черевної порожнини з метою встановлення, що летальний вихід тварини не був обумовлений маніпуляційними помилками, а також для визначення вірогідної причини загибелі.

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 середньотерапевичних доз для людини на ізоефективні дози для щурів нами здійснено перерахунок за методом Риболовлєва Ю.Р. та співав. із використанням коефіцієнту видової витривалості (R), який обчислюється за формулою 2.1 [176]:

$$R = \sqrt{Q \times V / Kc} \qquad (2.1)$$

де R – коефіцієнт видової витривалості;

Q – основний обмін, ккал/кг×год;

V – об’єм серцевої діяльності, л/кг×год;

Кс – коефіцієнт церебрації (Кс = маса мозку, г / маса тіла, кг).

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

Так для щурів $R=\sqrt{(4{,}8ккал/кг\cdot год\times 23{,}0л\cdot кг/год)/(1{,}68г/0{,}2кг)}=3{,}62$; для мишей $R=\sqrt{(7{,}1\ ккал/кг\cdot год\times 30{,}0л\cdot кг/год)/(0{,}42г/0{,}02кг)}=3{,}20$; для людини $R=\sqrt{(1{,}02ккал/кг\cdot год\times 6{,}4л\cdot кг/год)/(1400г/70{,}0кг)}=0{,}57$ [176].

Згідно методики, доза для тварин (D_2) вираховується згідно пропорції:

$$\frac{D_1}{R_1}=\frac{D_2}{R_2}$$ за формулою 2.2:

$$D_2\ (мг/кг)=(D_1\ (мг/кг)\times R_2)/R_1 \qquad (2.2)$$

де D_1 – доза для людини, мг/кг маси тіла;

D_2 – доза для тварин, мг/кг маси тіла;

R_1 – константа видової витривалості для людини;

R_2 – константа видової витривалості для тварин.

Для щурів співвідношення $R_2/R_1 = 6{,}35$. Для мишей – 5,61.

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 мл / 70 кг) × 6,35 = 0,16 мл / кг маси тіла або відповідно 0,02 мл / 100 г маси тіла щура.

Разова доза для мишей становить відповідно: (1,8 мл / 70 кг) × 5,61 = 0,14 мл / 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 (*ex tempore* – за потребою) 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 [175].

2.2 Експериментальні моделі патологічних процесів

Комплексну програму досліджень наведено в табл. 2.3.

Таблиця 2.3

Комплексна програма досліджень та групи експериментальних тварин (n = 546 щурів та 70 мишей)

<table>
<tr><th colspan="2">Експериментальні групи тварин</th><th colspan="9">Моделі патологічних процесів</th><th rowspan="3">Кількість тварин</th></tr>
<tr><td>Група № 1
(n = 7)</td><td>інтактні щури</td><td colspan="5">НПЗЗ-індукований ульцерогенез</td><td colspan="4">Запалення</td></tr>
<tr><td>Група № 2
(n = 7)</td><td>контрольна група (неліковані щури з модельною патологією (МП)):
група 2a – НПЗЗ-ульцерогенез;
група 2b – АА;
група 2c – скринінгова патологія).</td><td colspan="2">Гострий</td><td colspan="3">Субхронічний</td><td colspan="2">Гостре</td><td colspan="2">Хронічне</td></tr>
<tr><td>-1 -</td><td>-2 -</td><td>-3 -</td><td>-4 -</td><td>-5 -</td><td>-6 -</td><td>-7 -</td><td>-8 -</td><td>-9 -</td><td>-10 -</td><td>-11 -</td><td>-12 -</td></tr>
<tr><td>Група № 3
(n = 7)</td><td>щури з МП, ліковані НПЗЗ (монотерапія)</td><td rowspan="4">ІНД</td><td rowspan="4">ДН</td><td rowspan="4">МКС</td><td rowspan="4">ІБП</td><td rowspan="4">АСК</td><td rowspan="4">Альтеративне (ощтово-декстранові виразки шкіри)</td><td rowspan="4">Ексудативне (карагеніновий і зимозановий набряк)</td><td rowspan="4">Проліферативне (ватна гранульома)</td><td rowspan="4">АА</td><td rowspan="4"></td></tr>
<tr><td>Група № 4
(n = 7)</td><td>4a – щури з МП, ліковані КЕП;
4b – щури з МП, ліковані КЕП + дії низьких t˚C
4c – щури з МП + дії низьких t˚C</td></tr>
<tr><td>Група № 5
(n = 7)</td><td>щури з МП, ліковані комбіновано НПЗЗ та КЕП</td></tr>
<tr><td>Група № 6
(n = 7)</td><td>щури з МП, ліковані референс-препаратом (езомепразол)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Методики дослідження</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Дослідження морфо-функціонального стану ШКТ</td><td>Макроскопічна оцінка стану слизової оболонки стравоходу, шлунка та кишківника щурів</td><td>2a, 6, 4a</td><td>2a, 6, 4a,b, c</td><td>2a, 6, 4a</td><td>2a, 6, 4a</td><td>2a, 6, 4a</td><td>–</td><td>–</td><td>–</td><td>1, 2b, 3, 5</td><td>154</td></tr>
<tr><td>Дослідження секреторної активності шлунка за Shay H.A.</td><td></td><td>2a, 5</td><td>2a, 5</td><td rowspan="2">–</td><td rowspan="2">–</td><td rowspan="2">–</td><td rowspan="2">–</td><td rowspan="2">–</td><td rowspan="2">–</td><td>42</td></tr>
<tr><td colspan="3">1</td><td colspan="2">1, 4a</td></tr>
</table>

Продовження таблиці 2.3

-1 -	-2 -	-3 -	-4 -	-5 -	-6 -	-7 -	-8 -	-9 -	-10 -	-11 -	-12 -
	Дослідження мотороно-евакуаторних процесів за Stickney J.S. та співав. у мишей	–	2a, 5 1, 4a	2a, 5	–	–	–	–	–	–	42
	Патоморфологічні та ІГХ дослідження	–	1, 2a, 4a, 6	–	–	–	–	–	–	1, 2a, 4a, 6	56
Вивчення протизапальної активності	Онкометричні дослідження	–	–	–	–	–	–	1, 2c, 3, 5	1, 2c, 3, 5	1, 2b, 3, 5	112
	Планіметричні дослідження	–	–	–	–	–	1, 2c, 3, 5	–	–	–	28
	Гематологічні та/або біохімічні дослідження	–	1,2a,6 4a,b,c	–	–	–	–	–	–	1, 2b, 3, 5	70
Дослідження знеболюючої активності	Електроімпульсне подразнення	–	–	–	–	–	–	–	–	1, 2b, 3, 5	28
	Хімічне подразнення (*«оцтовокислі корчі» у мишей*)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	28
	Механічне подразнення (*тест Рендалла-Селітто*)	–	–	–	–	–	–	–	–	1, 2b, 3, 5	28
	Спонтанна больова реакція (*«тест інвалідності»*)	–	–	–	–	–	–	–	–	1, 2b, 3, 5	28

2.2.1 Моделі НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії

Для дослідження противиразкової активності КЕП при НПЗЗ-індукованої езофагогастроентероколонопатії (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 [177]. 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 (поліоксіетилен-20-сорбітанмоноолеат), що обумовлено хімічною нейтральністю, низькою токсичністю та стійкістю до дії слабких кислот останнього. Водно-полісорбатні суспензії НПЗЗ вводили внутрішньошлунково (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 щурам ІНД (*АТ «Софарма», Болгарія*) в дозі 60 мг/кг (6 $УД_{50}$) [173, 178]. 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 ($УД_{50}$ = 48 мг/кг) [173, 179, 179]. 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 $УД_{50}$) 1

раз/добу впродовж 3 днів за методикою, описаною [173, 181] 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 ($УД_{50}$) 1 раз/добу впродовж 3 днів за методикою [173, 182] 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 $УД_{50}$) 5 разів (3,1 $УД_{50}$) впродовж трьох днів [173, 175]. 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. 2.4).

Таблиця 2.4

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**
-1-	*-2-*	*-3-*	*-4-*	*-5-*
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

Продовження таблиці 2.4

-1-	*-2-*	*-3-*	*-4-*	*-5-*
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 (-120˚С) за відповідних режимів застосування КЕП.

У якості референс-препарату в умовах профілактичного та лікувально-профілактичного режимів застосування обрано ІПП – **езомепразол** (*АТ «Актавіс», Ісландія*) в дозі 50 мг/кг в/шл (див. табл. 2.4). [183].

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˚С) на СОШ протягом 10 с з використанням кріоапарату «Cryo Pro Maxi» (*Cortex Technology, Данія*).

2.2.2 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 повний ад'ювант Фрейнда (ПАФ) [175].

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 [173, 175].

2.2.2.1 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 [184]. День введення оцтові 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 $ЕД_{50}$ 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. 2.1) [185].

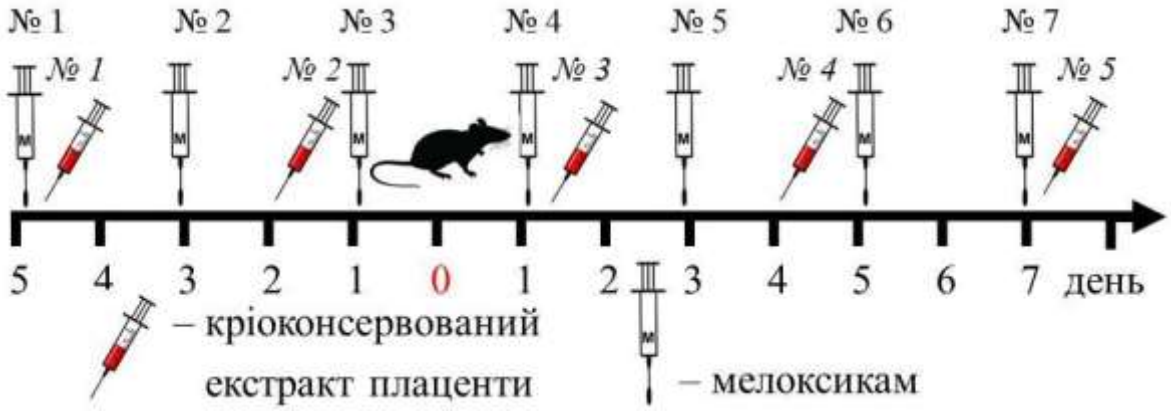


Рис. 2.1 Схема дослідження антиальтеративної активності КЕП та МКС на моделі оцтовокисло-декстранових виразок шкіри у щурів

Антиальтеративну активність оцінювали планіметрично за площею виразок у динаміці на 7, 12, 17, 22 та 27 доби дослідження [186].

2.2.2.2 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*) [175].

λ-карагінен – 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 [175, 187]. 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 [175].

Антиексудативну дію оцінювали за величиною набряку кінцівки, який оцінювали онкометрично через 30, 60, 120 та 180 хв після введення флогогену за допомогою водного плетизмометру [187].

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

Дослідження проведено на моделі «ватної гранульоми» [175]. 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°= 55 °С до постійної маси, визначали масу грануляційної тканини (в мг). Антипроліферативну активність (АПА, %) речовин розраховували за формулою 2.3:

$$АПА = \left(\frac{Мк - Мд}{Мк} \right) \times 100\ \%, \qquad (2.3)$$

де АПА – антипроліферативна активність;

Мк – середня маса грануляційної тканини у щурів контрольної групи;

Мд – середня маса грануляційної тканини щурів дослідної групи.

2.2.2.4 Модель хронічного імунного запалення (ад'ювантний артрит 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 ПАФ (*Thermo Fisher Scientific, США*) в задню праву кінцівку з розрахунку 0,1 мл на щура [175]. ПАФ вміщує 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 28–30 доби відбувається хронізація запального процесу. День введення ад'юванту вважали як «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 [188, 189, 190, 191].

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 $ЕД_{50}$ за протизапальною активністю – 8 мг/кг у вигляді емульсії на полісорбаті Twin-80 [173, 175]. 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 [21].

2.3 Характеристика методик дослідження

2.3.1 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.

2.3.1.1 Макроскопічна оцінка слизової оболонки стравоходу, шлунка та кишківника щурів

Евтаназію тварин проводили шляхом цервікальної дислокації під інгаляційним наркозом.

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

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 слизової оболонки. Для кожної групи проводили розрахунок відсоткового складу піддослідних тварин за вказаними ознаками та середнє значення їх виразності, яку оцінювали за бальною шкалою [175, 192]:

0 балів – ознака відсутня;

1 бал – ознака слабко виражена;

2 бали – ознака виражена помірно;

3 бали – ознака добре виражена.

Крім того проводили оцінку стану СОШ за бальною шкалою Яковлевої Л. В. (табл. 2.5) [175, 192]

Таблиця 2.5

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 – ВІ проводили за формулою 2.4:

$$ВІ = \frac{\text{Середній бал за шкалою Яковлевої Л.В.} \times \text{\% тварин з виразками}}{100} \qquad (2.4)$$

ПВА (%) визначали за формулою 2.5:

$$ПВА = \frac{ВІ \text{ досл. групи} - ВІ \text{ контрольної групи})}{ВІ \text{ контрольної групи}} \times 100 \qquad (2.5)$$

2.3.1.2 Дослідження секреторної активності шлунка

Шлункову секрецію досліджували за **методикою Shay H.A.** (1945 р.) [193]. 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. 2.2).

Рис. 2.2 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. 2.2) після чого тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації, проводили екстирпацію шлунка та збір його вмісту у пробірки [193].

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 [194, 195].

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.

2.3.1.3 Дослідження мотроно-евакуаторних процесів

Вивчення евакуаторної функції шлунка та моторної функції кишечника визнали за методом Koopman 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 2.6:

$$ПА = \left(\frac{L_{к.}}{L_{абс.}} \right) \times 100\ \%, \qquad (2.6)$$

де: ПА – перистальтична активність, %;

$L_к$ – довжина кишківника, пройденого контрастною масою, см;

$L_{абс.}$ – 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.

2.3.2 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).

2.3.2.1 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. 2.3). Об'єм кінцівки визначали за об'ємом рідини, яку виміщувала кінцівка при зануренні [197]. У якості рідини обрано воду. Враховуючи, що за температури 14–17ºС 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.

Рис 2.3. Визначення об'єму кінцівки у щурів.

Позначення: 1 – електронні ваги, 2 – ємкість з водою.

Протизапальну активність (ПЗА, %) в динаміці карагенін/зимозан-індукованого набряку кінцівки у щурів розраховували за формулою 2.7:

$$ПЗА = \Delta V_{n\ дослідної\ групи} - \Delta V_{n\ контрольної\ групи} \quad (2.7)$$

де: ПЗА – протизапальна активність, %;

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

2.3.2.2 Планіметричні дослідження

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 мм^2 за допомогою загальнодоступного програмного забезпечення BioVision 4.0 в середовищі Microsoft Windows (*США*). За результатами вимірювань площі ранових дефектів розраховували антиальтеративну активність [186, 198]:

АаД визначали за формулою 2.8:

$$АаД = \left(\frac{S_к - S_д}{S_к} \right) \times 100\ \%, \qquad (2.8)$$

де АаД – антиальтеративна дія, %;

$S_к$ – площа дефекту у щурів контрольної групи, мм^2;

$S_д$ – площа дефекту у щурів дослідно групи, мм^2.

2.3.3 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 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 [199].

2.3.3.1 Термічне подразнення

Больове подразнення у щурів викликали шляхом зануренням хвоста (tail immersion test) лабораторних тварин на 3 см у воду зі сталою t = 52,0 ± 0,2 ºС у лабораторний стакан (400 мл) довкола якого циркулювала вода для підтримання заданої температури води всередині ємкості за допомогою водяної бані (рис. 2.4) [175, 200].

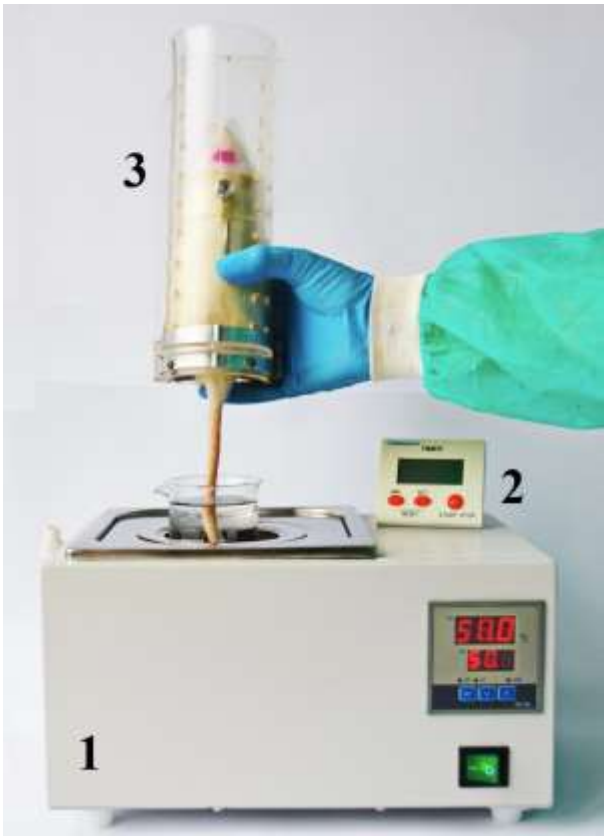


Рис. 2.4 Визначення ЛПБР у щурів при термічному подразненні.

Позначення: 1 – водяна баня, 2 – таймер, 3 – плексигласовий пенал.

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 відсмикуваня хвоста у відповідь на термічне подразнення.

2.3.3.2 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 [201, 202]. Шура 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. 2.5) [203].

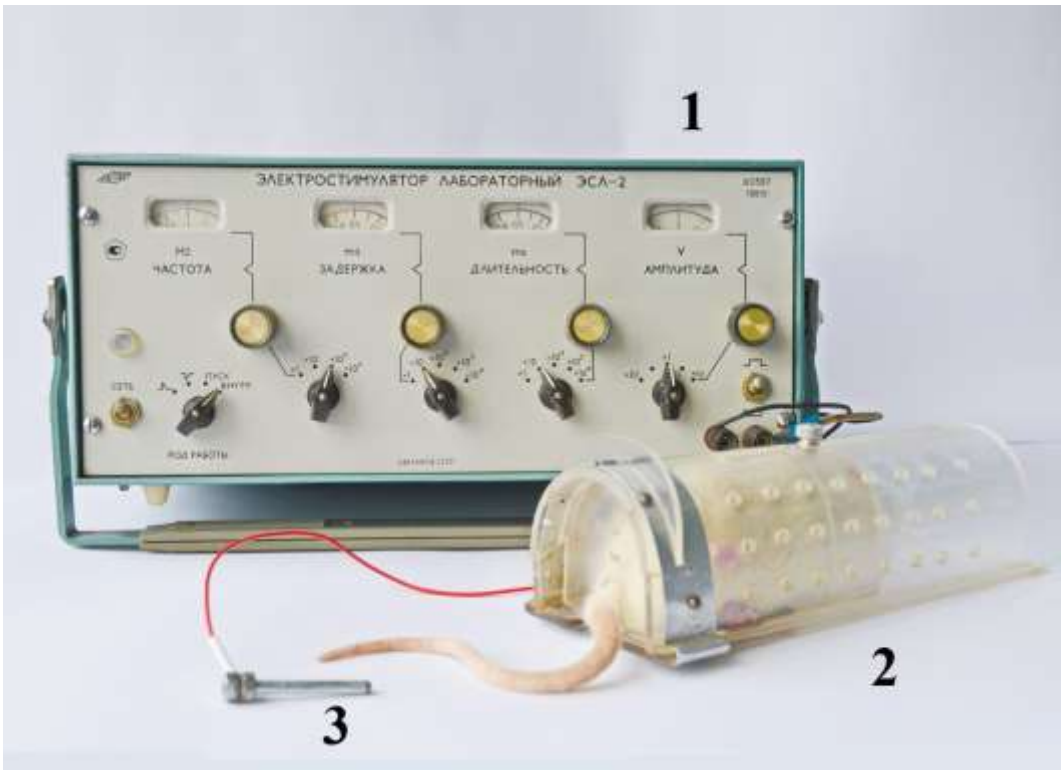


Рис. 2.5 Визначення ПБЧ у щурів при електроімпульсному подразненні. Позначення: 1 – електростимулятор, 2 – плексигласовий пенал, 3 – електрод.

Другий електрод електричного ланцюга мав вигляд металевого стрижня діаметром 0,5 см та довжиною 4 см вводили у пряму кишку шура. За ПБЧ приймали таку напругу (В) електричного струму, яка викликала ноцицептивну реакцію у щурів, яку визначали за вокалізацією [175, 201, 202].

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).

2.3.3.3 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 [175, 204] після в/шл введення НПЗЗ (ІБП). КЕП (0,16 мл/кг) вводили в/м за 60 хв до НПЗЗ. Введення р-ну оцтової кислоти виклиає місцеве вивільнення брадикініну, гістаміну, серотоніну, ПГ та ЛТ [175], що призводить до розвитку больових поведінкових реакцій 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 із їх розслаблення. Впродовж 20 хв після в/о введення оцтової кислоти підраховували кількість корчів. Антиноцицептивну активність (АНцА, %) розраховували за формулою 2.9 [175]:

$$АНцА = \left(\frac{КК_к – КК_д}{КК_к} \right) \times 100\ \%, \qquad (2.9)$$

де: АНцА – антиноцицептивна активність, %;

$КК_к$ – середня кількість корчів у мишей контрольної групи;

$КК_д$ – середня кількість корчів у мишей дослідної групи.

При дослідження антиноцицептивної активності 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* (0,1 мл / 10 г маси тіла, в/шл), 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) [173].

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

Дослідження проводили за допомогою механічного тензоалгозиметра (рис. 2.6) «Paw Pressure Analgesia Meter DAQ 37215» (*Ugo Basile, Італія*).

Рис. 2.6 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 висмикуванням кінцівки. Максимально-можливі величини тиску від приладу – 375 г (25 см).

Визначення ПБЧ проводили тричі із послідуючим розрахунком середнього арифметичного показника для кожної тварини. [205].

2.3.3.5 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. 2.7) і витримували там протягом 5 хв для адаптації.

Рис. 2.7 Визначення інтенсивності спонтанної больової реакції у щурів. 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 [206]. 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 (ІІ) за формулою 2.10 [206]:

$$ІІ = \left(\frac{М_{\text{пошкодженої кінцівки}}}{М_{\text{пошкодженої кінцівки}} + М_{\text{інтактної кінцівки}}} \right), \qquad (2.10)$$

де ІІ – індекс інвалідності (ум. од.);

М – 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 ІІ, у порівняні з вихідними даними (формула 2.11), та виражали у відсотках:

$$АнА = \frac{ІІ_2 - ІІ_1}{ІІ_1} \qquad (2.11)$$

де АнА – аналгетична активність у %;

$ІІ_1$ – значення ІІ у щурів контрольної групи;

$ІІ_2$ – значення ІІ у лікованих щурів.

2.3.4 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 – $К_2$ 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 за допомоою автоматизованого геманалізатора із визначенням наступних показників:

1. еритроцити, $\times 10^{12}$/л;
2. гемоглобін, г/л;

3. тромбоцити, $\times 10^9$/л;

4. ШОЕ, мм/год.;

5. лейкоцити, $\times 10^9$/л з лейкоцитарною формулою (гранулоцити, лімфоцити, моноцити, %).

2.3.5 Біохімічні дослідження

Матеріалом дослідження виступали цільна кров та гомогенати СОШ.

Для отримання гомогенату СОШ перфузували холодним (+ 4 °С) ізотонічним 1,15 % розчином KCl 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 KCl), 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 трихлроцтової кислоти (0,6 М) з подальшою нейтралізацією 5,0 М калію карбонатом.

1. **Вміст ТБК-РП в сироватці крові** визначали спектрофотометрично за методом Asakawa T. et al. [207] за реакцією з тіобарбітуровою кислотою та розраховували за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при довжини хвилі $\lambda = 535$ нм, враховуючи коефіцієнт молярної екстинції забарвленого у червоний колір комплексу, який дорівнює $1{,}56\times10^5$ моль$^{-1}$ / см$^{-1}$ та виражали у мкмоль/л. **Вміст ТБК-РП у СОШ** виражали у мкмоль/кг тканини.

2. **Активність СОД в сироватці крові (КФ 1.15.1.1.)** визначали спектрофотометрично за методом Костюка В.А. та співав. [208], який ґрунтується на інгібуванні реакції окислення кверцетину, за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при

довжини хвилі λ = 406 нм. Активність СОД виражали у % інгібування окислення кверцетину

3. **Активність каталази (КФ 1.11.1.6) у СОШ** визначали спектрофотометрично за методом Королюк М.А. та співав. [209] за світлопоглинанням при довжини хвилі λ = 410 нм, порівнюючи досліджувану пробу (0,1 мл сироватки крові + 2 мл 0,03 % H_2O_2) з контрольною (0,1 мл сироватки крові + 2,0 мл H_2O). Метод ґрунтується на здатності каталази розкладати H_2O_2 та утворювати стійкий комплекс жовтого кольору з амоній молібдатом (4,0 % – 1,0 мл), який додають для зупинки реакції H_2O_2 з каталазою. Активність каталази розраховували за формулою: АК = (Ек – Ед) × V × t × k, де АК – активність каталази; Ек – екстинкція (екст.) контрольної проби (2,0 мл H_2O), од. екст.; Ед – екстинкція досліджуваної проби (2 мл 0,03 % H_2O_2), од. екст.; V – об'єм проби, мл (0,1 мл); t – час інкубації; k – коефіцієнт молярної екстинкції H_2O_2 ($22{,}2\times10^3$ $M^{-1}см^{-1}$). Каталазну активність виражали у мкат/кг тканини. [210]

АПІ розраховували за формулою 2.12:

$$АПІ = \frac{\text{Активність каталази} \times 100}{\text{Вміст ТБК-РП}} \qquad (2.12)$$

4. **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 λ = 782 нм Активність ПГ-синтази виражали в мкмоль АК, окислених 1 мг білка за 1 хв – мкмоль/хв/мг білка [210].

5. **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. [211]. Активність NO-синтаз виражали у ммоль/г тканини.

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 [210].

7. **Вміст 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 [210].

8. **Активність 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 "Філісіт-Діагностика", Україна*) [210].

9. **Активність 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 декарбоксилюється 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 "Філісіт-Діагностика", Україна*) [210].

10. **Активність гама-глутамілтраспептидази (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 «ГТП» (*ТОВ НВП "Філісіт-Діагностика", Україна*) [210].

11. **Активність 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 "Філісіт-Діагностика", Україна*) [210].

12. **Вміст загального білка в сироватці крові** визначали спектрофотометричним методом за біуретовою реакцією, яка полягає в тому, що в лужному середовищі йони двохвалентного 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 "Філісіт-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 "Філісіт-Діагностика", Україна*) [210].

13. **Вміст загальних ліпідів в сироватці крові** визначали спектрофотометрично за кольоровою реакцією з сульфофосфованіліновим реактивом, яка ґрунтується на тому, що продукти розпаду ненасичених жирних кислот, що утворюються після кислотного гідролізу ліпідів, взаємодіють з фосфорнованіліновим 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. [212]. Фосфоліпіди

фракціонували за методом Svetashev V.I. та Vaskovsky V.E., шляхом двовимірної мікротонкошарової хроматографії [213]. Фосфоліпіди ідентифікували за методом [214] та виражали їх вміст за рівнем неорганічного фосфору у г/л [210].

14. **Вміст РНК та ДНК у СОШ** визначали спектрофотометрично за методикою Спірина А. С. [215], яка ґрунтується на реакції з хлорною кислотою та виражали в мкг/мл.

2.3.6 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 [216]. 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.

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 послідуючим 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 ºС 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 *(«DAKO», 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 ºС. Для візуалізації реакції антиген-антитіло застосовувалась полімерна система детекції EnVision *(«DAKO», 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 pH 7,1 (*BioOptica, Італія*). Скельця фіксувались BioMaunt (*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) [218].

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 2.13:

$$ІП_{Ki-67} = \left(\frac{N_{Ki-67}}{N_n} \right) \times 100\ \%, \text{ де} \qquad (2.13)$$

$ІП_{Ki-67}$ – індекс проліферації, %;

N_{Ki-67} – кількість Ki-67 позитивних клітин;

N_n – загальна кількість клітин в полі зору.

Експресію CPP32 – каспаза-3 оцінювали за бальною шкалою позитивної гістохімічної реакції в клітинах: 0 балів – реакція відсутня;

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

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

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

2.3.7 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*) за допомогою розширення «Real Statistics» (http://www.real-statistics.com/) у середовищі Widows 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-Уітні (*Mann-Whitney*). Співставлення показників однієї групи при повторюваних вимірюваннях за різних умов експерименту проводили за непараметричним Т-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% ($p < 0,01$).

Цифрові данні у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді “M ± m” (M ± 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). Для графічного представлення даних обрано діаграми розмаху (box-and-whiskers diagram – «шухлядові» діаграми з «вусами») [175].

2.3.8 Біоетичні аспекти дослідження

Всі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами виконано з урахуванням вимог належної лабораторної практики «GLP» (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».

Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (витяг з Протоколу № 2 від 11 березня 2020 р.; витяг з Протоколу № 4 від 16 вересня 2021 р.).

РОЗДІЛ 3
ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВИРАЗКОВОЇ ДІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ПРИ НПЗЗ-ІНДУКОВАНОМУ УШКОДЖЕННІ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ У ЩУРІВ

3.1 Характеристика виразності антиульцерогенної дії КЕП при ЕГЕКП, індукованій НПЗЗ різних хімічних груп

3.1.1. Макроскопічна оцінка впливу КЕП на стан слизової оболонки травного тракту шурів на тлі індометацин-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 % щурів та тонкої кишки у 57,1 % щурів (табл. 3.1.1.1).

Таблиця 3.1.1.1

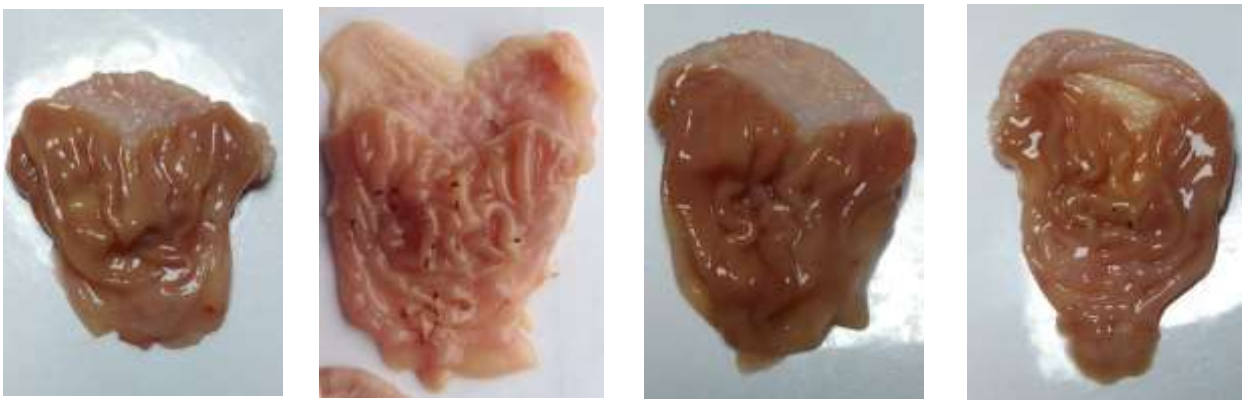
Стан СОШ на тлі ІНД-індукованої гастропатії (M ± m, n=28)

Умови досліду		Показник				
		Здуття	Ерозії та гемора-гії	Гіпере-мія	Набряк	Поруш. склад-частості
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# º (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.

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

Макроскопічна оцінка стану СОШ показала, що у всіх тварин відмічено численні точкові геморагії (рис. 3.1.1 Б), а у 49,2 % щурів відмічено слабко-виражену гіперемію та порушення складчастості (див. табл. 3.1.1.1). Інтегральна оцінка стану СОШ показала, що ВІ в групі щурів контрольної групи становив 3,5 (див. табл. 3.1.1.2).



А Б В Г

Рис. 3.1.1 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.

Таблиця 3.1.1.2

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 / Умови досліду	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. (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини		
							загальне число	з гемосиде-ринoм	перфора-тивних		загальне число	з тромбами	перфора-тивних
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 *#º	1,08	0/7# (0)	0 #º	0 #º	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. º – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ІНД та езомепразол.

Оцінка стану СО тонкої кишки показала, що у 57,1 % щурів, яким вводили тільки ІНД відмічалось 11,1 ± 4,1 виразок на 10 см довжини, з яких – 7,3 ± 2,7 з гемосидерином (див. табл. 3.1.1.2), 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 однин із ключових механізмів ентеротокисності НПЗЗ [130].

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 ± 0,26 (рис. 3.1.1 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. 3.1.1.2).

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. 3.1.1.2), 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 і КЕП геморагії відмічено у 71,4 % щурів, в той час як при застосування ІНД та ІПП тільки у 42,9 % (див. табл. 3.1.1.1). 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. 3.1.1.1). Встановлені

розбіжності можна пов’язати із підвищенням резистентності СОШ щурів, яким профілактично вводили КЕП до місцевоподразнюючої 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. 3.1.1.2), 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. 3.1.1 В).

Варто відзначити, шо на відміну від езомепразолу, на тлі введення КЕП у тварин не відмічалось ушкодження тонкого кишківника, шо вказує на виразні ентеропротективні властивості досліджуваного кріоекстракту (див. табл. 3.1.1.2).

3.1.2. Характеристика впливу КЕП та дії низьких температур на стан слизової оболонки травного тракту шурів на моделі ДН-індукованого ульцерогенезу

Проведене дослідження показало, що в/шл введення ДН у дозі 50 мг/кг призвело до ерозивно-виразкового ушкодження СОШ у 100 % щурів (табл. 3.1.2.1). Виразне здуття шлунка було відмічене у 71,4 % тварин, геморагії та порушення складчастості – у 100 %, а гіперемія СОШ – у 85,7 % тварин (див. табл. 3.1.2.1, рис. 3.1.2 Б). Помірне порушення складчастості СОШ (2 [1; 2] бали) у тварин може вказувати на локальне запалення через місцевоподразнюючу дію ДН та інфільтрацію СО, а також пов’язано із наявністю чисельних виразкових дефектів – ВІ становив 3,9 (див. табл. 3.1.2.2, рис. 3.1.2 Б).

Таблиця 3.1.2.1

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

Умови досліду		Показник				
		Здуття	Гемо-рагії,	Гіпере-мія	Набряк	Поруше-ння склад-частості
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 ()	0/7 (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. □ – тут і далі температура при кріозрошенні становила -120˚С;
2. * – 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 кріозрошення СОШ.

Варто відзначити, що введення ДН викликало ураження стравоходу у 42,9% щурів (див. табл. 3.1.2.2).

Таблиця 3.1.2.2

Вплив КЕП та дії низьких температур на стан проксимальних відділів ШКТ на тлі ДН-індукованої гастропатії

(M ± m або Me [LQ; UQ], n=42)

Відділ ШКТ		Стравохід	Шлунок		
Показник / Умови досліду	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.

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. º – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та езомепразол.

Превентивне введення езомепразолу статистично вірогідно ($p<0,05$) знижувало ульцерогенний вплив ДН на СОШ (див. табл. 3.1.2.1, табл. 3.1.2.2). Встановлено, що виразкові ушкодження в СО шлунка відмічені лише у 28,6 % щурів, а ВІ у 8,5 разів був нижчим за показники контрольної групи щурів з ДН-індукованим ушкодженням шлунка без корекції та становив 0,46 (див. табл. 3.1.2.2). Слабко виражені гіперемія та поодинокі геморагії, подібно до виразкових дефектів, було відмічено у 28,6 %, а здуття шлунка чи порушення складчастості не відмічено в жодної тварини (рис. 3.1.2. Е). Отримані результати узгоджуються з літературними відомостями про виразну ПВА ІПП, зокрема при НПЗЗ-асоційованих ураженнях шлунка [124, 223].

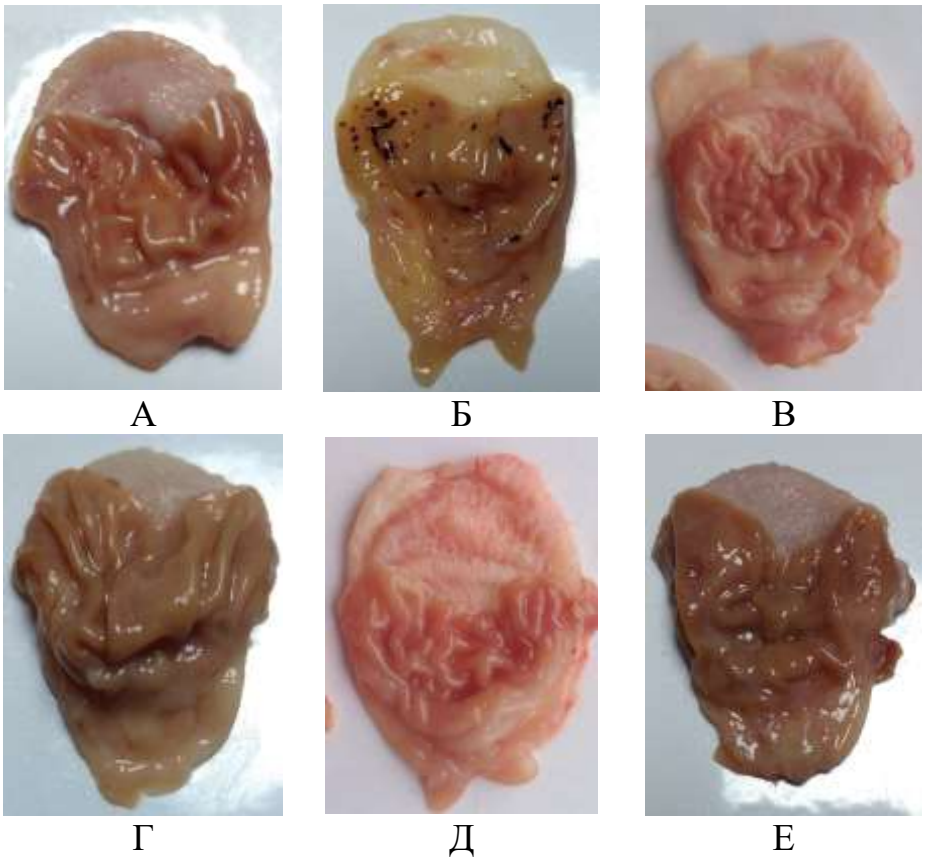


Рис. 3.1.2 Стан СОШ при ДН-індукованій гастропатії

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.

Застосування КЕП впродовж 5 днів до введення ульцерогенної дози ДН супроводжувалось співставним з езомепразолом антиульцерогенним ефектом – ВІ становив 0,31, проте у 57,1 % щурів було відмічено наявність геморагій у СОШ (див. табл. 3.1.2.1, рис. 3.1.2 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 потивиразкову ефективність – ВІ у 2,4 рази перевищував аналогічний показник у щурів на тлі застосування езомепразолу (див. табл. 3.1.2.1), а виразки шлунка були виявлені у 51,7 % щурів. Привертає увагу, що виразну гіперемію та слабковиражений набряк СОШ (рис. 3.1.2 Г) відмічено у 100 % 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.

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 корекція та у 1,5 рази перевищував за ефективністю езомепразол (див. табл. 3.1.2.2). Виразкові ураження СОШ виявлені тільки у 14,3 % тварин, а з числа інших макроскопічних змін відмічена тільки помірна гіперемія (див. табл. 3.1.2.1, рис. 3.1.2 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. 3.1.2.3, табл. 3.1.2.4).

Таблиця 3.1.2.3

Вплив КЕП та дії низьких темпетатур на стан СО тонкої кишки на тлі ДН-індукованого ушкодження (M ± m, n=42)

Показник / Умови досліду	К-ть тварин, n	К-ть тварин з виразками, абс. (%)	Кількість виразок на 10 см довжини		
			загальне число	з гемосидерином	перфоративних
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. 3.1.2.4), 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.

Таблиця 3.1.2.4

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

Показник / Умови досліду	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# º (0)	0	0	0
ДН + дія низьких температур	7	0/7# º (0)	0	0	0
ДН + дія низьких температур + КЕП	7	0/7# º (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. º – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН та езомепразол.

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. 3.1.3.4).

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

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 ± 0,42 (табл. 3.1.2.5). Вказані зміни обумовлені оксидативним стресом в СОШ, на що вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) зростання вмісту ТБК-РП на 102,5 ± 11,0% та пригнічення активності каталази на 71,1 ± 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 [16, 224]. Наявність доведеної антиоксидантної активності у КЕП [30, 34] 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.

Таблиця 3.1.2.5

Вплив ДН та його комбінації з КЕП і дією низьких температур на біохімічні показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах СОШ щурів, 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	ДН	ДН + КЕП	ДН+ кріозро-шення	ДН+ КЕП + кріозро-шення	ДН + Езомепра-зол
n	*7*	*7*	*7*	*7*	*7*	*7*
ТБК-РП, 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*# º (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*# º (95 % ДІ: 2,6–3,0)	2,7±0,08*# º (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*# º (95 % ДІ: 18,9–27,1)	17,2±0,84*# º (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.

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. µ – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ДН та виконували кріозрошення;

5. º – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ДН та езомепразол.

Аналогічні зміни з боку антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу відмічені на тлі застосування ДН та езомепразолу (VI група), де вміст ТБК-РП в СОШ зменшився у 1,9 рази, а активність каталази зросла у 1,7 рази відносно показників щурів з ДН-індукованою гастропатією.

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 с СОШ зросла до рівня інтактних щурів та становила відповідно 3,6 ± 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 ± 2,08 та 33,0 ± 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.

Оцінка активності ПГ-синтази в СОШ показала (табл. 3.1.2.6), що введення ДН призвело до статистично вірогідного (p < 0,05) пригнічення її активності на 53,6 ± 4,8 % відносно показників інтактних щурів та становила відповідно 8,4 ± 057 мкмоль/хв/мг білка. Вказані зміни узгоджувались з даними літератури [89], що пригнічення активності ПГ-синтази НПЗЗ належить до числа механізмів їх ульцерогенної дії.

Таблиця 3.1.2.6

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на окремі біохімічні показники гомогенатів СОШ щурів,

M ± 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+ кріозро-шення	ДН + кріозро-шення+ КЕП	ДН + Езомепра-зол
n	*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±057 (95 % ДІ: 7,3–9,5) *	17,0±1,2 (95 % ДІ: 15,0–19,0) # º	10,1±0,63 (95 % ДІ: 8,9–11,4) *§ º	20,1±0,67 (95 % ДІ: 18,8–21,5) #§ µ º	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] *#§ º	940 [905; 950] #§ µ º	710 [700; 715] *#§

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. µ – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ДН та виконували кріозрошення;
5. º – 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 [89, 92, 93].

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 ± 057 мкмоль/хв/мг білка) та становила 10,1 ± 0,63 мкмоль/хв/мг білка та 12,6 ± 0,78 мкмоль/хв/мг білка відповідно.

Найвиразніші зміни з боку активності ПГ-синтаз відмічені у щурів з ДН-індукованою гастропатію, 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 влив 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. 3.1.2.6) 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 [89, 92, 93].

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 [225].

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 гастропатію, 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 ($p < 0,05$) здуття шлунка у 100 % щурів (табл. 3.1.3.1). Крім того у 42,9 % щурів, яким вводили МКС відмічено наявність виразної гіперемії СОШ (див. табл. 3.1.3.1, рис. 3.1.3.1 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.

Таблиця 3.1.3.1

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

Умови досліду		Показник				
		Здуття	Ерозії та гемора-гії	Гіпере-мія	Набряк	Пору-шення склад-частості
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. º – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС та езомепразол.

Макроскопічна оцінка стану СО дистальних відділів ШКТ показала (табл. 3.1.3.2, рис. 3.1.3.2), що введення МКС призвело до статистично вірогідного ($p < 0,05$) розвитку ерозивно-виразкових уражень тонкої та товстої кишки у 100 % щурів. Виразніша множинність виразкових уражень відмічена з боку тонкої кишки – 33,7 ± 1,7 виразок / 10 см довжини кишки, з яких 8,9 ± 1,3 виразки з гемосидерином, що вказувало на ушкодження судинного русла слизової оболонки та тенденції до розвитку тонкокишкової кровотечі.

А Б В Г

Рис. 3.1.3.1 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.

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 ± 3,2 виразки / 10 см довжини кишки. З боку товстої кишки ерозивно-виразкових ушкоджень не виявлено.

Таблиця 3.1.3.2

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

Відділ ШКТ		Стра-вохід	Шлунок			Тонка кишка				Товста кишка			
Показник / Умови досліду	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. (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини		
							загальне число	з гемосиде-ринoм	перфора-тивних		загальне число	з тромбами	перфора-тивних
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 *# º	0#	0	0/7# (0)	0# º	0# º	0 º
МКС + Езомепразол	7	0/7 (0)	0/7# (0)	0#	0	7/7 (100)	22,6 ±1,6 *#	9,6 ±1,1 *º	0	7/7 (100)	14,7 ±1,1 #	9,9 ±1,3*	1,7 ±0,5 * #

Примітки. 1. * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;

2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки МКС;

3. º – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували МКС та езомепразол.

А

Б

Рис. 3.1.3.2. Стан СО тонкої кишки (А) та товстої кишки (Б) щурів з МКС-індукованою ентеро- та колонопатією.

3.1.4. Вивчення впливу КЕП на стан слизової оболонки травного тракту шурів на моделі 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. 3.1.4.1 Б). Так, геморагії, набряк та порушення складчастості СОШ мали місце у всіх тварин, а ВІ становив відповідно 2,9 (табл. 3.1.4.1, табл. 3.1.4.2). Слід зазначити, що у 14,3 % 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. 3.1.4.2), а ерозивно-виразкові зміни СОШ відмічені лише у 57,1 % тварин.

Варто відзначити, що в групі комбінованого застосування ІБП та КЕП практично не відмічено набряку та порушення складчастості СОШ (табл. 3.1.4.1), що може вказувати на пригнічення запальних явищ в СО шлунка, індукованих ІБП, які є відображенням гастриту, який за даними літератури може виникати у хворих, що застосовують НПЗЗ [92].

Таблиця 3.1.4.1

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

Умови досліду		Показник				
		Здуття	Ерозії та гемора-гії	Гіпере-мія	Набряк	Пору-шення склад-частості
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 * º (100)	3/7* (42,9)	1/7# (14,3)	0/7# (0)
	Бали	0#	1 [1; 2] º #	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. º – 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. 3.1.4.1). Встановлені зміни цілком узгоджувались з даними літератури про гастропротективні властивості ІПП в профілактиці та лікуванні НПЗЗ-індукованої гастропатії [19, 223].

А Б В Г

Рис. 3.1.4.1 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.

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 ± 2,1 виразкових дефектів на 10 см довжини кишки (див. табл. 3.1.4.2, рис. 3.1.4.2 Б), з яких кожна дев’ята перфорувала.

Таблиця 3.1.4.2

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

Відділ ШКТ		Стра-вохід	Шлунок			Тонка кишка				Товста кишка			
Показник / Умови досліду	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. (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини		
							загальне число	з гемосиде-ринoм	перфора-тивних		загальне число	з тромбами	перфора-тивних
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 *#º	0,11	7/7 (100)	26,1 ±2,5 *#º	15,4 ±2,1 *#	2,4 ±0,9 *	7/7 (100)	14,1 ±1,2 *º	10,6 ±0,4 *#º	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. º – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ІБП та езомепразол.

А

Б

Рис. 3.1.4.2 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 ± 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. 3.1.4.2), 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 $ЛД_{50}$ (310 мг/кг) призвело до розвитку колонопатії у 100,0 % щурів – загальне число виразкових дефектів в СО становило в середньому 15,0 ± 1,5 на 10 см довжин (див. табл. 3.1.4.2).

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 ± 1,2 на 10 см довжин, однак призвело до зменшення ($p=0,3$) кількості перфоративних виразок в 2 рази (див. табл. 3.1.4.2).

На тлі застосування КЕП множинність виразкових ушкоджень СО товстої кишки (див. табл. 3.1.4.2) 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 [173].

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 ослабленням 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.

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 (антиоксидантна, протизапальна, імуномоделююча та ін.) досліджуваного екстракту, які цілком вкладаються у патогенез токсичної дії НПЗЗ на ШКТ [30, 34].

3.1.5. Макроскопічна оцінка впливу КЕП на стан слизової оболонки травного тракту шурів на тлі ульцерогенезу, індукованого АСК

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. 3.1.5.1). Виявлені ознаки езофагіту можуть вказувати на розвиток гастроезофагеального рефлюксу, що може бути обумовленим як підвищенням кислотності шлункового соку так і порушенням евакуаторної функції шлунка.

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 % тварин.

Встановлено, що у всіх тварин, яким вводили тільки АСК (контрольна група) виявлені виразкові дефекти СОШ, а середній бал за шкалою [192] становив 3,3 ± 0,29 (табл. 3.1.5.2). Це узгоджувалось із даними літератури, що п’ятиразове введення АСК впродовж трьох днів призводить до модельного субхронічного ушкодження ШКТ [175].

Таблиця 3.1.5.1

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

Умови досліду		Показник				
		Здуття	Ерозії та гемора-гії	Гіпере-мія	Набряк	Пору-шення склад-частості
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.

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

Встановлено, що у всіх тварин, яким вводили тільки АСК (контрольна група) виявлені виразкові дефекти СОШ, а середній бал за шкалою [192] становив 3,3 ± 0,29 (табл. 3.1.5.2). Це узгоджувалось із даними літератури, що п’ятиразове введення АСК впродовж трьох днів призводить до модельного субхронічного ушкодження ШКТ [175].

Дослідження стану СО кишківника показало, що окрім субхронічного ушкодження шлунка АСК викликав також ураження тонкого та товстого

кишківника у 100 % та 57,1 % тварин відповідно. Так, у тонкій кишці АСК викликав в середньому 11,0 ± 0,9 виразок на 10 см довжини, а товстій – 5,9 ± 2,2 виразки на 10 см довжини (див. табл. 3.1.5.2). Слід відзначити, що у тонкій кишці, на відміну від товстої, виявлено ще й перфоративні виразки середньою кількістю 3,0 ± 0,8 на 10 см довжини (див. табл. 3.1.5.2).

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. 3.1.5.1, рис. 3.1.5 Г).

На тлі комбінованого застосування АСК та КЕП відмічено слабковиражену гіперемію СОШ у 28,6 % щурів та помірновражені 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. 3.1.5.1). Це можна вважати ознакою відсутності запальної реакції у СОШ та пов’язати із протизапальними властивостями КЕП [30, 226].

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 [145].

А Б В Г

Рис. 3.1.5 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 тлі комбінованого застосування АСК та езомепразолу – у 100 % щурів, а середня кількість виразок у 1,8 рази перевищувала аналогічний показник щурів контрольної групи та становила відповідно 10,4 ± 1,3 та 5,9 ± 2,2 виразок на 10 см довжини відповідно (див. табл. 3.1.5.2).

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. 3.1.5.2).

Таблиця 3.1.5.2

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

Відділ ШКТ		Стравохід	Шлунок			Тонка кишка				Товста кишка			
Показник / Умови досліду	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. (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини			Кількість тварин з виразками, абс (%)	Середня к-ть виразок на 10 см довжини		
							загальне число	з гемосидерином	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 *# º	0,97	0/7# º (0)	0# º	0# º	0*# º	0/7# º (0)	0 #º	0# º	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. 1. * – p < 0,05 відносно показників інтактних тварин;
2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували тільки АСК;
3. º – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували АСК та езомепразол.

3.2 Оцінка впливу ДН та КЕП за їх комбінованого застосування на морфологічний стан СОШ щурів за даними імуногістохімічного дослідження

Проведене ІГХ дослідження показало (рис. 3.2.1), що на тлі розвитку ДН-індукованої гастропатії у щурів відмічено статистично вірогідне ($p < 0,01$) зниження проліферацiйної активності епітеліоцитів СОШ на 45,5 % відносно показників інтактних тварин, а ІП відповідно становив 0,06 % (рис. 3.2.2).

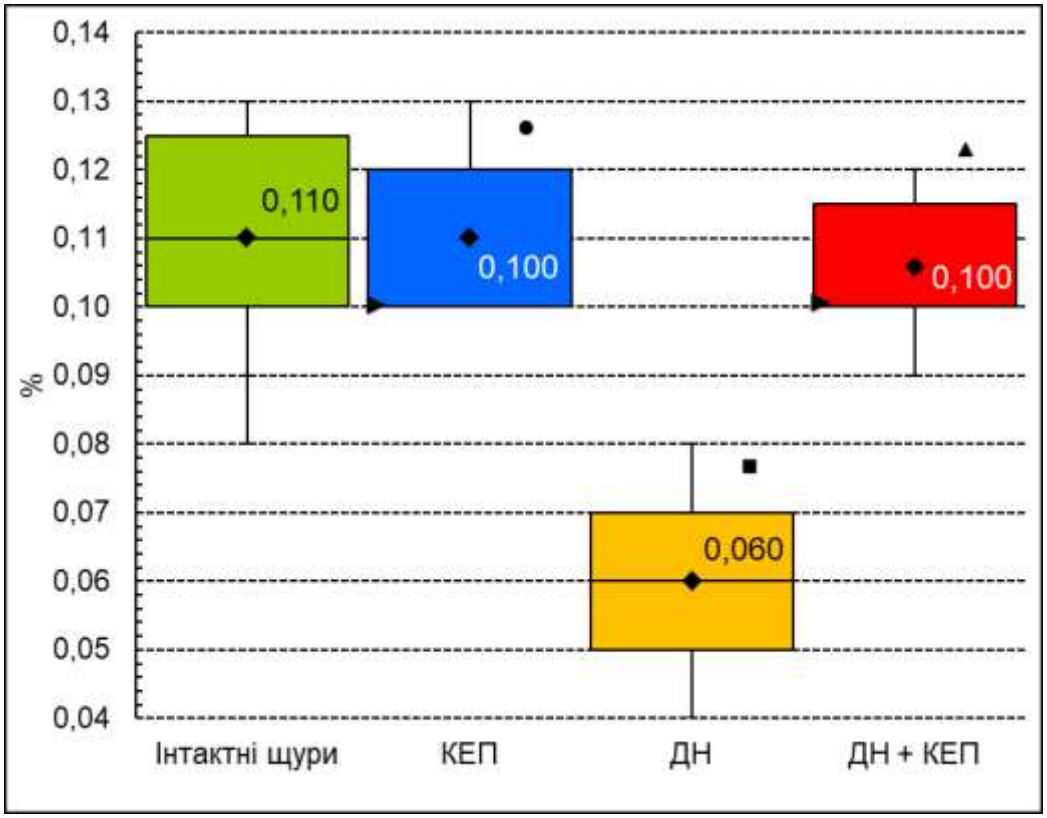


Рис. 3.2.1 Вплив КЕП та ДН на проліферацiйну активність епітеліоцитів СОШ щурів (ІП за Кі-67)

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.

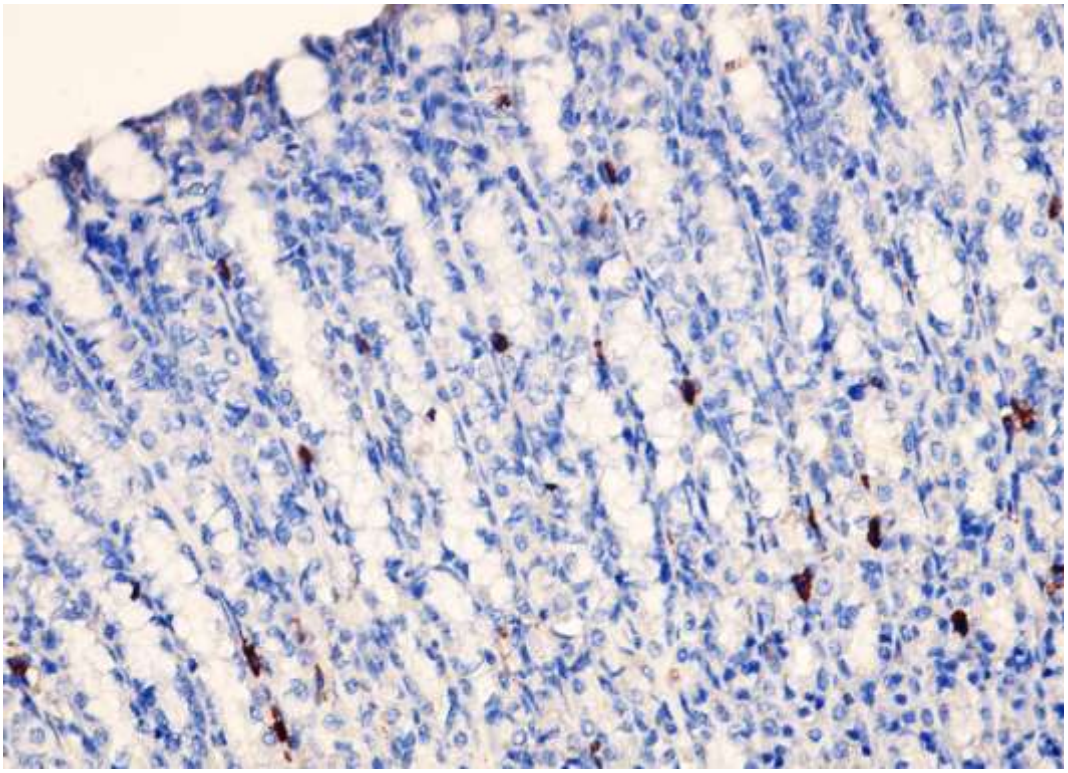


Рис. 3.2.2 Слабка експресія маркеру Ki-67. Група III (ДН), 28 день. ІГХ-маркування Ki-67, ×200

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. 3.2.3).

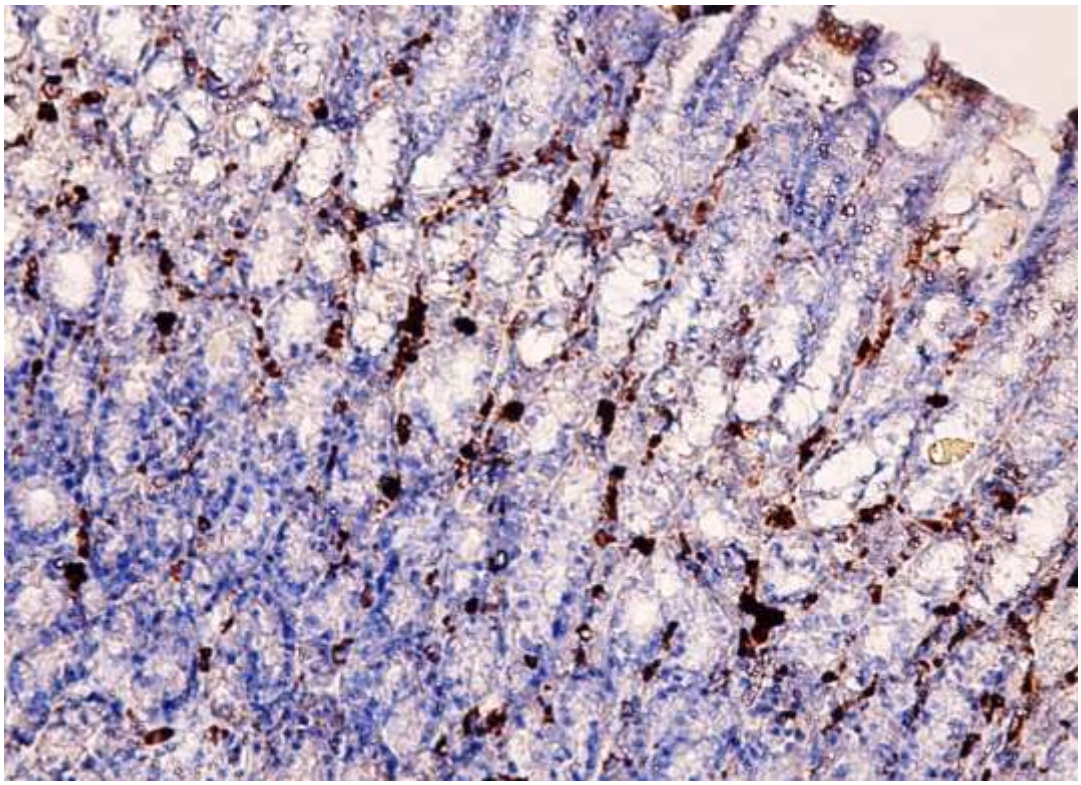


Рис. 3.2.3 Сильна експресія маркеру Ki-67. Група IV (ДН+КЕП), 28 день. ІГХ -маркування Ki-67, ×200

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

Дослідження процесів апоптозу в СОШ показало (табл. 3.2), що введення ДН викликало активацію процесів апоптозу в СОШ щурів. На це вказувало зростання експресії рецепторів каспази-3 (CPP32) – найвиразніше у шийкових мукоцитах та пілоричних екзокриноцитах, де рівень експресії сягав трьох балів (3 [2; 3] та 3 [2,5; 3] бали відповідно). Експресія CPP32 у поверхневих епітеліоцитах ямок та валиків та головних екзокриноцитах становила відповідно 2 [1,5; 2,0] та 2 [1,5; 2,0] бали.

Як відомо, стимуляція процесів апоптозу епітеліоцитів СОШ є одним з механізмів ульцерогенної дії НПЗЗ [11, 218]. 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 [11, 218].

Таблиця 3.2

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на експресію рецепторів каспази-3 (CPP32) 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
n	*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 CPP32 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 CPP32 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) [218].

Так за даними літератури [218, 219, 220, 221, 222] 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 С з послідовною активацією каспаз-9 та каспаз-3 – безпосереднього індуктора апоптозу [218, 219, 220, 221, 222].

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 [218]. НПЗЗ, блокуючи механізми «виживання» клітини, впливають на проліферацію епітеліоцитів та знижують здатність епітелію до репарації [218]. 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 [218, 219, 220, 221, 222].

3.3 Дослідження шлункової секреції щурів на тлі застосування ДН та МКС за їх нарізного введення з КЕП

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 ± 4,1 % та 31,6 ± 7,3 % відповідно, відносно показників інтактних тварин (табл. 3.3).

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.

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. 3.3), 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. 3.3). Отримані показники вказують на здатність КЕП знижувати агресивність шлункового соку шляхом зниження вільної та збільшення зв'язаної кислотності шлункового соку, не впливаючи при цьому на рівень загальної кислотності, забезпечуючи таким чином підтримку його ролі у перетравленні вмісту шлунка, на відміну кислотосупресивних засобів.

Таблиця 3.3

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	ДН	МКС	ДН + КЕП	МКС + КЕП
n		*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] º
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] # º
	Вільна	75 [74; 76]	48 [47; 49] *	91 [88; 92] *#	80 [76; 82] #	60 [59; 62] *#§	53 [52; 54] *# º
	Зв’язана	56 [50; 58]	85 [85; 87] *	59 [58; 61] #	62 [60; 67] *#	73 [71; 78] *#§	77 [76; 78] *# º
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] *# º

Примітки. 1. * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;

2. # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;

3. § – $p < 0,05$ відносно показників щурів які отримували ДН;

4. º – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС.

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 $ЕД_{50}$ 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. 3.3). 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 ± 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 епітеліоцитів та викликати появу ерозій і навіть неглибоких виразок, переважно верхніх відділів шлунка. Водночас слизова оболонка шлунка «пристосовується» до ушкоджуючої дії НПЗЗ – феномен адаптації описаний для засобів із коротким періодом напіввиведення. Він опосередкований ростовими факторами та проявляється загоєнням поверхневих ерозій при продовженні прийому НПЗЗ. Через зниження вмісту ПГ*E1* 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 [3, 9, 14].

3.4 Дослідження впливу ДН та МКС за їх нарізного введення з КЕП на моторно-евакуаторні процеси шлунково-кишкового тракту мишей

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 ± 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 ± 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 ± 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 [120, 227, 228].

У групі мишей, які отримували комбіновано ДН і КЕП показник ПА склав 60,3 ± 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.

Таблиця 3.4

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	ДН	МКС	ДН + КЕП	МКС + КЕП
n	*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) * # º
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) * # º

Примітки.

1. * – $p < 0,05$ відносно показників інтактних тварин;

2. # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;

3. § – $p < 0,05$ відносно показників щурів які отримували ДН;

4. º – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували МКС.

Другим фактором, що впливають на розвиток патології верхніх відділів ШКТ є стан моторики. Встановлено, що на тлі введення як ДН так і МКС у мишей підвищувалась ПА, що може обумовлюватись не тільки гіпермоторикою шлунка, а і виступати ознакою ураження кишківника. За даними літератури одним з патогенетичних механізмів ураження кишківника виступає підвищення проникності та запалення слизової оболонки кишки [229].

Таким чином встановлено здатність КЕП послаблювати гіперсекрецію шлункового соку та гіпермоторику за умов індукції експериментальної медикаментозної гастропатії та ентеропатії.

Висновки до розділу 3

1. 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 щурів, яким вводили КЕП). При гострій ДН-індукованій гастропатії ПВА КЕП становила 92,1 %, а виразкові дефекти СОШ при застосуванні досліджуваного екстракту виявлені лише у 28,6 % тварин, що у 3,5 рази нижче за показник щурів контрольної групи. ПВА КЕП при лікувальному режимі застосування у щурів з субхронічною МКС-індукованою гастропатією становила 100 %, проте слід зазначити, що виразкові ушкодження СОШ, викликані МКС виявлені тільки у 74,1 % щурів, в той час яв всі інші досліджувані НПЗЗ викликали виразкування СОШ у 100 % тварин, що узгоджується з даними літератури при низький ульцерогенний потенціал вказаного НПЗЗ у шлунку. Застосування КЕП у лікувально-профілактичному режимі супроводжувалось співставною ПВА на моделях субхронічних ІБП та АСК-індукованій гастропатій та становила 72,8 % та 70,6 % відповідно.
2. Встановлено, що профілактичне застосування КЕП здатне нівелювати антипроліферативну дію ДН на СОШ у щурів на що вказувало

зростання ІП за Кі-67 на 40,0 % відносно показників щурів з НПЗЗ-індукованою гастропатією. Крім того комбіноване застосування КЕП та ДН приводить до нівелювання проапоптичної активності останнього, на що вказувало зниження експресії CPP32 у епітеліоцитах СОШ.

3. Отримані дані вказують на здатність КЕП нівелювати МКС та ДН-індуковану гіпермоторику шлунка та гіперсекрецію шлункового соку. 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, що ПА на тлі застосування тільки КЕП статистично вірогідно знижувалась ($p < 0,05$) на 14,5 % відносно показників інтактних тварин.

Основні положення цього розділу викладено у 18 публікаціях автора [38, 39, 42, 45, 48, 49, 50, 52, 56, 57, 59, 61, 62, 63, 64, 67, 68, 70].

РОЗДІЛ 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.

4.1 Вивчення впливу КЕП на антиальтеративну активність МКС

Проведене дослідження показало, що підшкірне введення оцтової кислоти з одночасним введенням декстрану призводить до формування некротичних виразок у 100 % щурів на 7 добу експерименту з середньою сумарною площею 317,1 мм^2 після чого відбувається поступове загоєння шкірних дефектів. Так, на 27 день експерименту площа некротичних виразок у щурів контрольної групи зменшилась до 60,0 мм^2, проте у жодної особини ще не відмічено повного загоєння у вказаний строк (табл. 4.1).

Серед груп щурів з оцтовокисло-декстрановими виразками шкіри, яким проводили лікування (II–IV групи) на 7 день експерименту найменшу АаД 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 [30, 226].

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 та розглядати його антиальтеративну дію як один з механізмі його протизапальної активності.

Виявлена АаД МКС узгоджуються з даними [185], де комплексне дослідження протизапальної дії вказаного протизапального препарату проведено у тому числі на моделі експериментальних ран у щурів. В той же час варто зазначити, що не всі НПЗЗ володіють АаД у аналогічні строки дослідження. Так, в роботі Дроговоз С.М. та співав. [184] 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 послідуючі 5 днів, відповідно на 12, 17, 22 та 27 дні експерименту (рис. 4.1).

Таблиця 4.1

Вплив КЕП та МКС на динаміку площі некротичних виразок шкіри у щурів, мм^2

(M ± 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)* # º	23,9%	61,4±2,6 (95 % ДІ: 56,3–66,5) * º§	40,0±3,1 (95 % ДІ: 34,0–46,0) *# º§	21,4±2,6 (95 % ДІ: 16,3–26,5) * # º§	0,0 [0,0; 0,0]* º§	100,0%	7/7 (100)

Примітки. 1. * – p < 0,05 відносно показників тварин контрольної групи;

2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували КЕП;

3. º – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували МКС;

4. § – p < 0,05 відносно показників на 7 добу експерименту (*T – критерій Вілкоксона*).

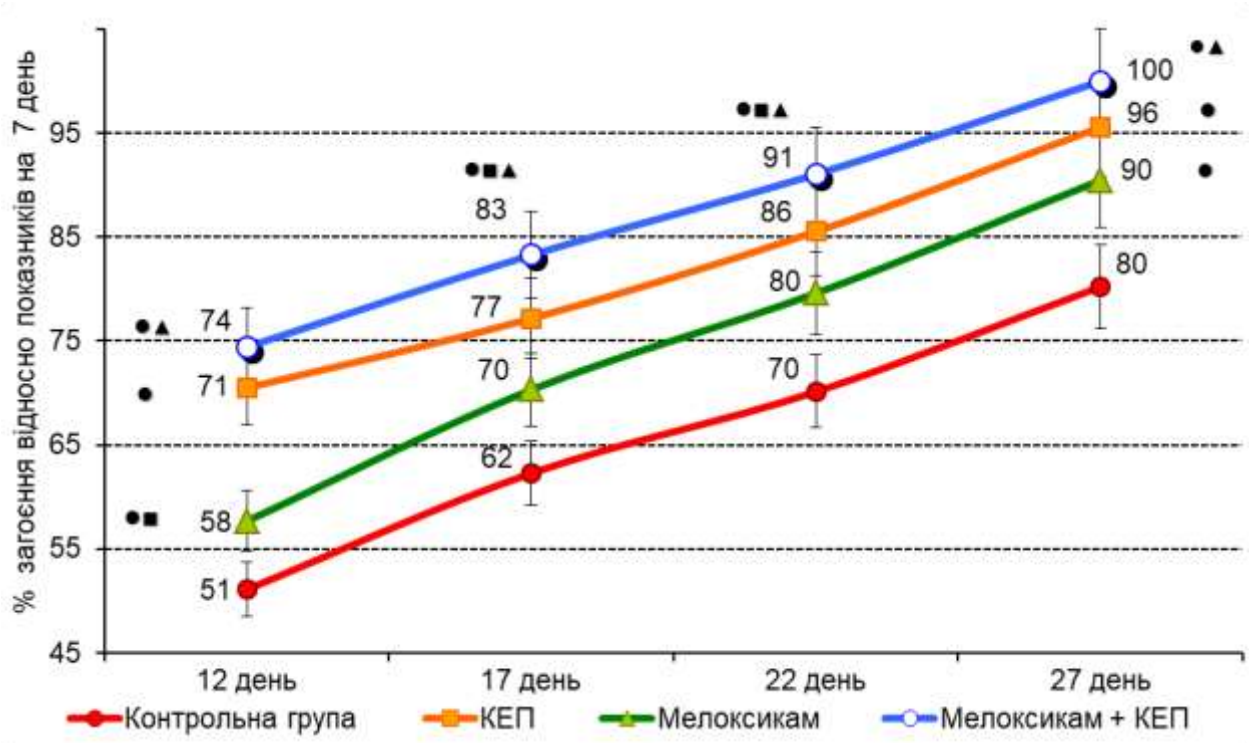


Рис. 4.1 Вплив КЕП та МКС на динаміку загоєння некротичних виразок шкіри у щурів, %

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.

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.

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 мм^2 та 60,0 мм^2 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. 4.1) – 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 антиексудативну активність ДН

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 ± 3,3 % відносно вихідних показників та становив відповідно 2,04 ± 0,06 мл (табл. 4.2.1). 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 [175]. Відомо, шо після 3 години після введення відбувається поступова регресія запальної відповіді тому спостереження проводили впродовж саме перших трьох годин [175].

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 ± 6,4 %, а на 180 хв – перевищував вихідні показники на 62,0 ± 4,2 % ($p < 0,05$) (рис. 4.2.1). 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. 4.2.1).

Таблиця 4.2.1

Вплив КЕП та ДН на динаміку карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів (M ± 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) * # º §	52,6	1,81±0,07 (95 % ДІ: 1,68–1,95) § * #	46,4

Примітки. 1. * – $p < 0,05$ відносно показників тварин контрольної групи;

2. # – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували КЕП;

3. º – $p < 0,05$ відносно показників щурів, які отримували ДН;

4. § – $p < 0,05$ відносно вихідних (фон) показників (*T – критерій Вілкоксона*).

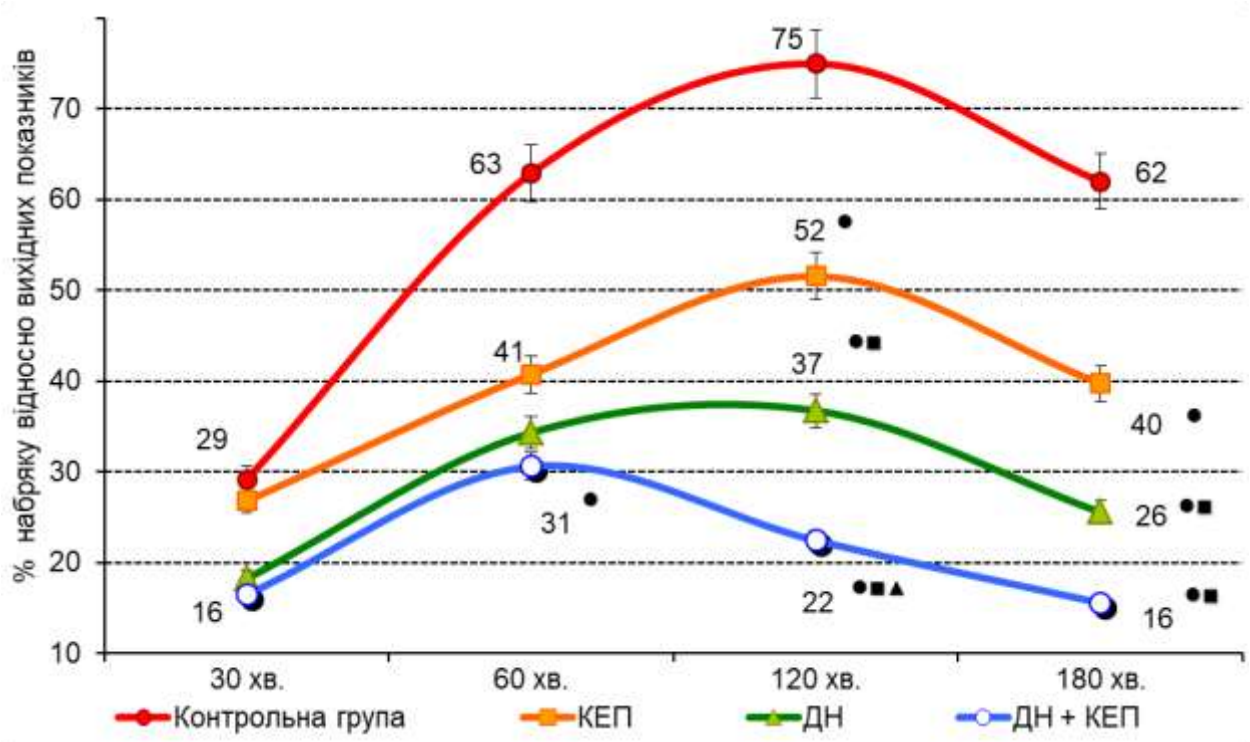


Рис. 4.2.1 Вплив КЕП та ДН на динаміку карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів, %

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.

Так збільшення об’єму кінцівки у щурів, яким вводили КЕП та λ-карагеніну на 30 хв становив 26,8 ± 3,2 % відносно вихідних показників (табл. 4.2.1). 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 ± 4,7 %, на 120 хв – на 51,5 ± 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.

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. 4.2.1). 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 ± 0,07 мл) практично співсталявся із вихідними показниками до введення λ-карагеніну (1,57 ± 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 [175].

Виявлена відсутність ПЗА КЕП на 30 хв спостереження на нашу думку пов’язана із коротким проміжком часу від його застосування, оскільки за даними [30] 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 λ-карагеніну) чинить супресивну дію на кініни, оскільки саме вони виступають провідними медіаторами запалення в проміжку 1,5–2,5 год. після введення флогогену [175].

В простагландиновий 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 діє КЕП [226]. 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 [226]. 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 [226]. 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 [34, 226].

Отже, КЕП модулює перебіг запалення, яке, як відомо, є поєднанням реакцій системи крові, мікроциркуляторного русла та сполучної тканини [226].

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 ± 5,4 % відносно вихідних показників та становив 2,01 ± 0,06 мл (табл. 4.2.2). 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 ± 6,5 % у щурів III групи (рис.4.2.2).

Варто зазначити, що ПЗА на тіл 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. 4.2.2).

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 ± 8,6; та 99,6 ± 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. 4.2.2) і в незначній мірі впливають на ЛОГ-опосередкований шлях, який є ключовим у розвитку зимозан-індукованого запалення [175].

Таблиця 4.2.2

Вплив КЕП та ДН на динаміку зимозан-індукованого набряку кінцівки у щурів (M ± 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) * º §	53,2	1,84±0,04 (95 % ДІ: 1,77–1,92) * º §	84,0	1,84±0,08 (95 % ДІ: 1,68–2,00) * º	79,7

Примітки. 1. * – p < 0,05 відносно показників тварин контрольної групи;

2. # – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували КЕП;

3. º – p < 0,05 відносно показників щурів, які отримували ДН;

4. § – p < 0,05 відносно вихідних (фон) показників (*T – критерій Вілкоксона*).

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. 4.2.2).

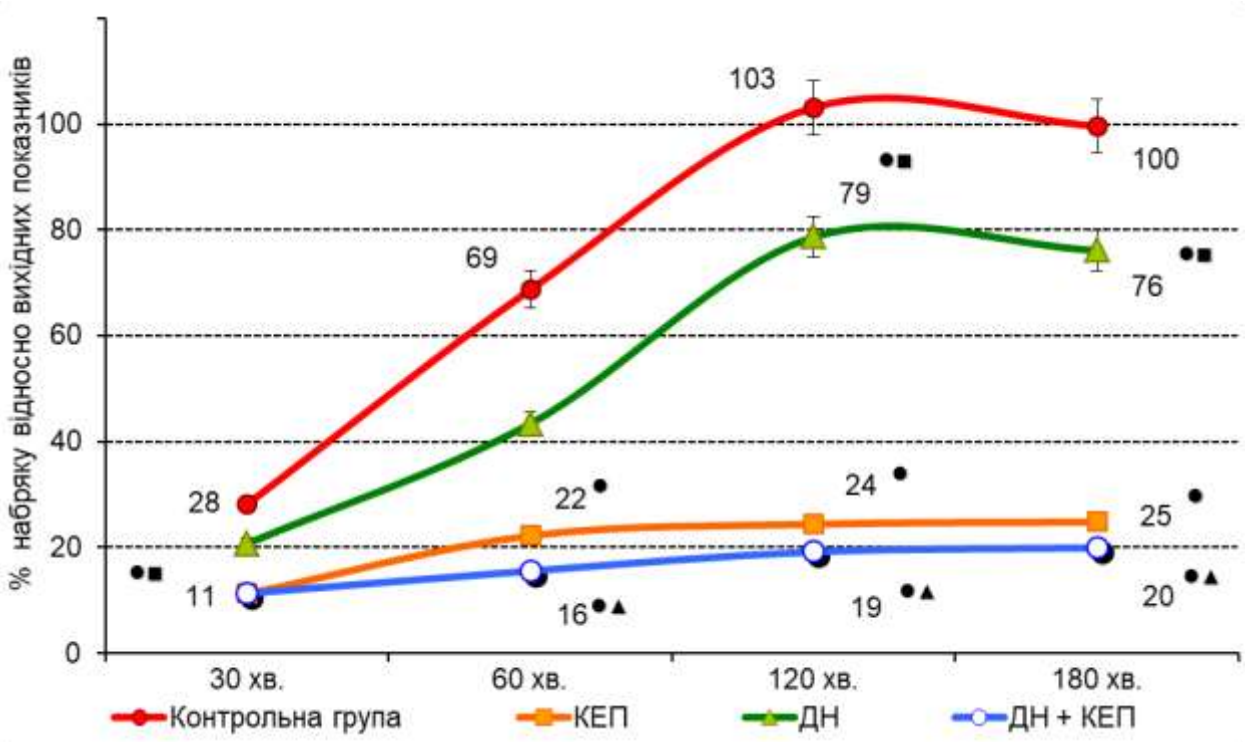


Рис. 4.2.2 Вплив КЕП та ДН на динаміку зимозан-індукованого набряку кінцівки у щурів, %

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.

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

Дослідження АПА показало, шо маса сухої грануляційної тканини, яка утворилась у інтактних щурів становила 42,0 [40,5; 44,0] г (рис. 4.2.3).

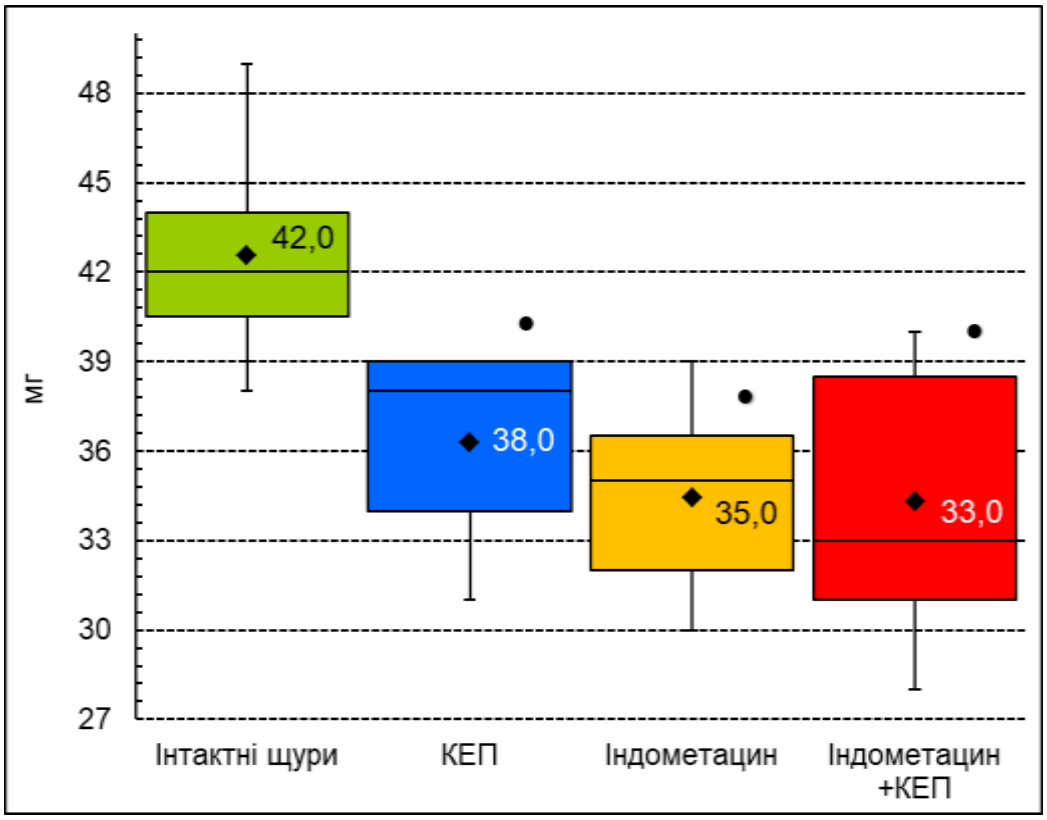


Рис. 4.3 Вплив КЕП та ІНД на утворення грануляційної тканини у щурів з ватною гранульомою

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 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.

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

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

Застосування КЕП не призвело до суттєвого зниження кількості корчів, що вказує на відсутність власної антиноцицептивної активності у досліджуваного екстракту.

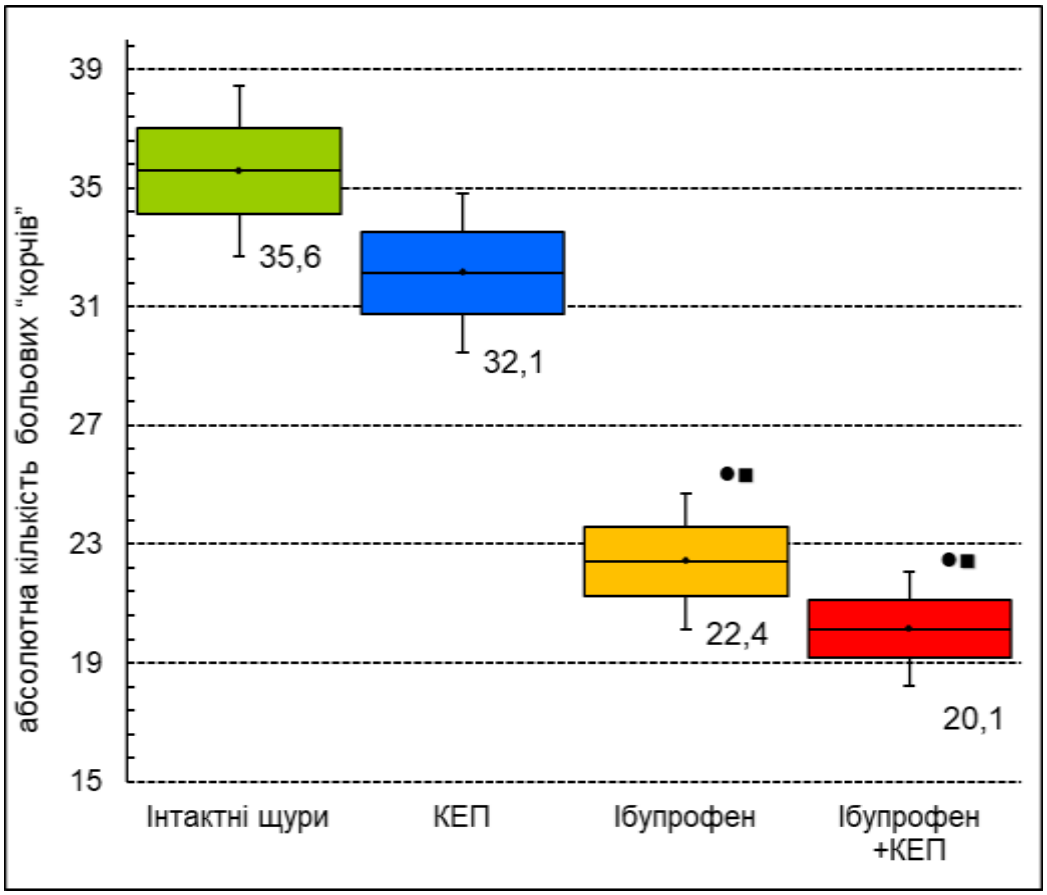


Рис. 4.4 Вплив КЕП на аналгетичну активність ІБП на моделі вісцерального болю у мишей.

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 %, проте різниця з групою монотерапії ІБП рівня статистичної вірогідності не досягла ($p = 0,16$).

Висновки до розділу 4

1. На тлі комбінованого застосування МКС та КЕП на 7 день експерименту відмічено виразну АаД (23,9 %) – площа некротичних виразок 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 перевищувала показники щурів групи монотерапії МКС та у 1,2 рази перевищував показники групи монотерапії КЕП.
2. На моделі карагенін-індукованого запалення показано, що КЕП через 4 год після введення 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.
3. Встановлено, що одним з механізмів ПЗА КЕП виступає інгібування ЛОГ-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.

4. Дослідження впливу КЕП на знеболюючу активність ІБП показало, що комбіноване застосування КЕП та ІБП не мало статистично вірогідної різниці відносно показників монотерапії ІБП. Так, АНА ІБП становила 37,1 % ($p < 0,05$), КЕП – 9,8 % ($p > 0,05$), комбінованого застосування вказаного НПЗЗ та досліджуваного кріоекстракту – 43,5 % ($p > 0,05$).

Основні положення цього розділу викладено у 5 публікаціях автора [40, 41, 43, 46, 60].

РОЗДІЛ 5
ДОСЛІДЖЕННЯ 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, оскільки виникало припущення, що механізмом ПВА активності КЕП може виступати зниження біодоступності та відповідно терапевтичної ефективності НПЗЗ.

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. 5.1.1), 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 [175, 190, 191]. Монотерапія ДН щурів з 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 [1, 175].

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. 5.1.1).

Таблиця 5.1.1

Вплив КЕП та ДН на величину набряку кінцівки у щурів з АА, мл (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	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%]^{д0}	3,21±0,07 (95 % ДІ: (3,08–3,35) $p_{д0}$ = 0,009 [102,7%]^{д0}	3,17±0,07 (95 % ДІ: (3,04–3,30) $p_{д0}$ = 0,009 [105,6%]^{д0}	3,16±0,14 (95 % ДІ: (2,89–3,42) $p_{д0}$ = 0,009 [99,1%]^{д0}	<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%]^{д0} $p_{д14}$ = 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. 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.

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. 5.1.2).

Таблиця 5.1.2

Вплив КЕП та ДН на ПБЧ при механічному подразненні кінцівки за Рендаллом-Селітто у щурів з АА, г (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	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) $p_{д0} = 0,3$ $[3,1\%]^{д0}$	153±4 (95 % ДІ: (145–161) $p_{д0} = 0,009$ $[53,1\%]^{д0}$	157±5 (95 % ДІ: (147–167) $p_{д0} = 0,009$ $[46,7\%]^{д}$	154±6 (95 % ДІ: (142–166) $p_{д0} = 0,009$ $[51,6\%]^{д0}$	<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. 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.

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.

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. 5.1.3).

Таблиця 5.1.3

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) $p_{д0} = 0,2$ $[0,8\%]^{д0}$	0,291 ±0,007 (95 % ДІ: (0,277–0,305) $p_{д0} = 0,009$ $[38,7\%]^{д0}$	0,292 ±0,01 (95 % ДІ: (0,273–0,311) $p_{д0} = 0,009$ $[37,1\%]^{д0}$	0,298 ±0,01 (95 % ДІ: (0,276–0,319) $p_{д0} = 0,009$ $[37,3\%]^{д0}$	<0,0001 [39,5%]	0,9 [0,2%]	0,6 [2,3%]	0,7 [2,1%]

Продовження таблиці 5.1.3

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. p_{2-1} – 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.

Так на 14 добу у щурів контрольної групи II становив 0,291 ± 0,007, що обумовлено розвитком запального процесу, індукованого введенням ад'юванту Фрейнда. Монотерапія ДН щурів з АА призвела до статистично вірогідного ($p = 0,01$) збільшення на 28 добу експерименту II 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 II 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.

Дослідження впливу КЕП та ДН на ПБЧ при електроімпульсному подразненні у щурів з АА 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 %.

У щурів, лікованих ДН на 28 добу експерименту відмічено збільшення ПБЧ практично до рівня вихідних показників (6,1 ± 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 %) (табл. 5.1.4).

Таблиця 5.1.4

Вплив КЕП та ДН на ПБЧ при електроімпульсному подразненні у щурів з АА, В (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	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) $p_{д0} = 0,4$ $[1,2\%]^{д0}$	3,1±0,21 (95 % ДІ: (2,7–3,6) $p_{д0} = 0,009$ $[47,6\%]^{д0}$	2,9±0,14 (95 % ДІ: (2,6–3,1) $p_{д0} = 0,009$ $[54,5\%]^{д0}$	3,1±0,17 (95 % ДІ: (2,7–3,4) $p_{д0} = 0,009$ $[50,0\%]^{д0}$	<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. p_{2-1} – 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.

5.2 Характеристика лікувального ефекту ДН та КЕП за динамікою гематологічних та біохімічних показників крові щурів з ад'ювантним артритом

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. 5.2.1, рис. 5.2.2).

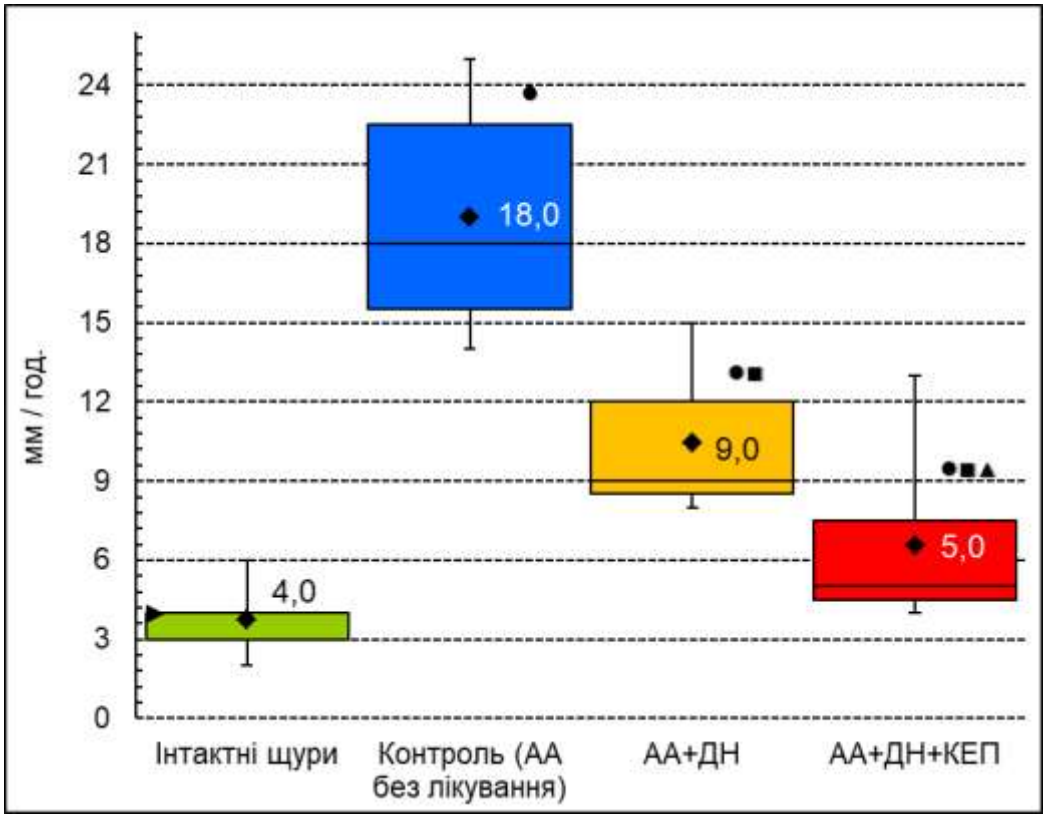


Рис. 5.2.1. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на ШОЕ в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

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. 5.2.1, рис. 5.2.2).

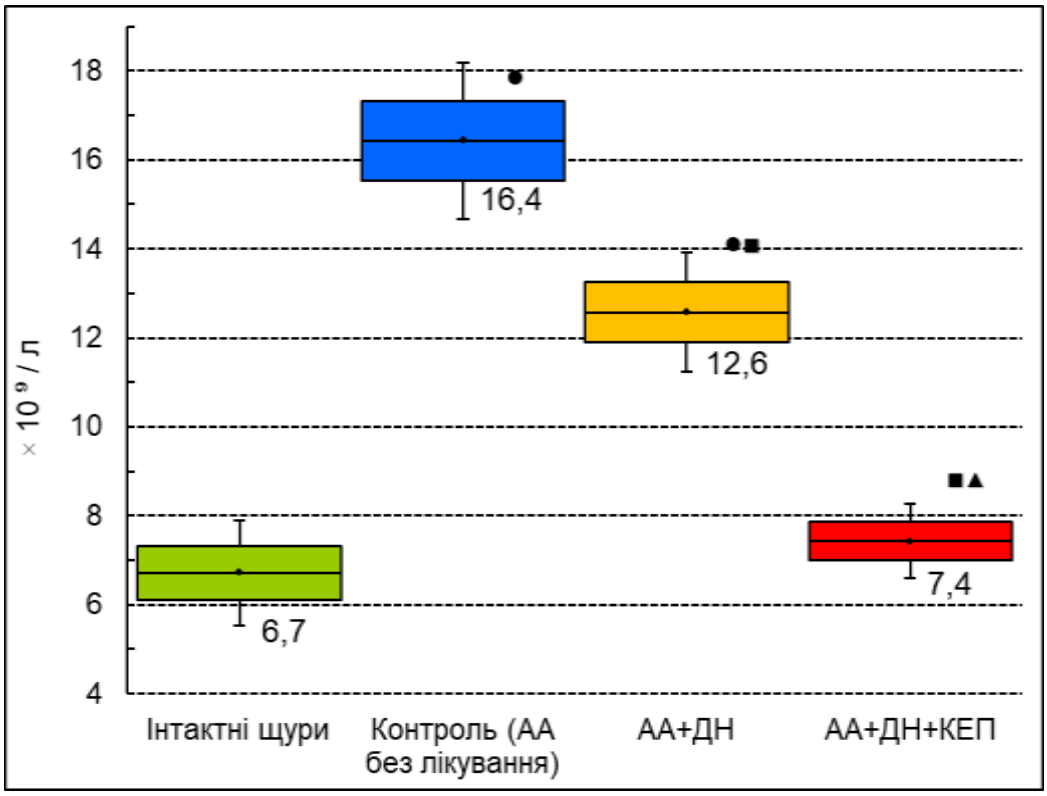


Рис. 5.2.2. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на кількість лейкоцитів в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

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. 5.2.1).

Таблиця 5.2.1

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники лейкоцитарної формули периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту (M ± 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
-1-	*-2-*	*-3-*	*-4-*	*-5-*
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) $p_{1-4} = 0,3$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$

Продовження таблиці 5.2.1

-1-	*-2-*	*-3-*	*-4-*	*-5-*
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.

1. Індексами $_1$, $_2$, $_3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
2. p_{2-1} – 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. 5.2.1).

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 ± 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. 5.2.2).

Таблиця 5.2.2

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, $\times 10^{12}$/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, $\times 10^{9}$/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.

1. Індексами $_1$, $_2$, $_3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Виявлені зміни узгоджуються з даним літератури, що анемія при РА вважається симптомом основного запального захворювання [230, 231, 232, 233]. 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 слизової оболонки, викликаних прийомом НПЗЗ. Відповідно, поширеність анемії безпосередньо пов'язана з тяжкістю основного захворювання і тривалістю прийому нестероїдних препаратів [234].

Результати ряду досліджень показали, що розвиток анемії при РА може бути пов’язано зі здатністю прозапальних цитокінів порушувати утворення еритроцитів [234]. 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 – ІЛ*1* і фактора некрозу пухлини α відбувається надмірна активація сидерофагів, при якій посилюється фагоцитоз і блокується їх здатність передачі заліза в еритробластах [232, 233, 234]. ІЛ*6* 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 [230, 231, 234].

Біохімічні дослідження периферичної крові щурів з АА (контрольна група) показало статистично вірогідне ($p < 0,001$) збільшення вмісту ТБК-РП на 53,7 % щодо показників інтактних тварин (рис. 5.2.3), що вказує на активацію ПОЛ, що ймовірно обумовлено розвитком системного запального процесу.

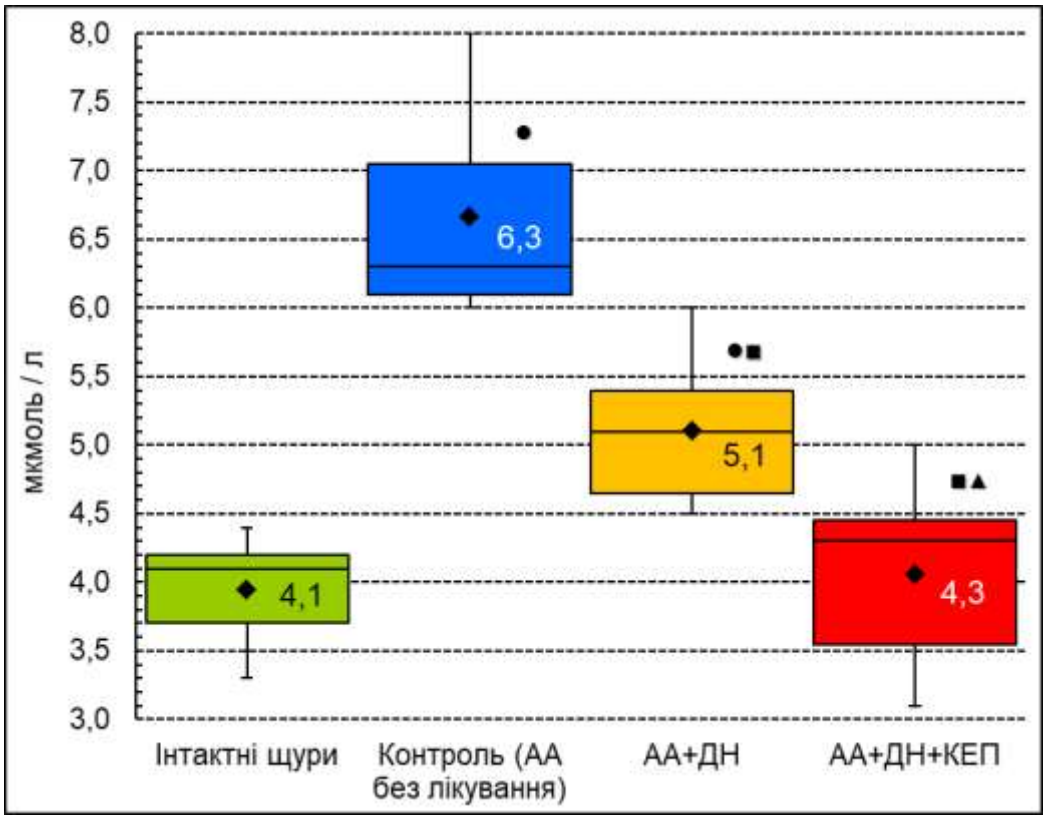


Рис. 5.2.3. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень ТБК-РП в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

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 [210]. ТБК-РП виступають ендогенними альдегідами, які є клініко-

лабораторними маркерами оксидативного стресу та широко застосовуються для контролю ефективності лікування цілого ряду захворювань – РА, остеоартриту, ішемічної хвороби серця та ін. [235].

Монотерапія ДН щурів з АА привела до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження рівня ТБК-РП 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 ТБК-РП 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 ТБК-РП на 28 день експерименту практично зіставлявся з показниками інтактних щурів і становив 4,3 [3,6; 4,5] мкмоль/л (див. рис. 5.2.3), 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. 5.2.4).

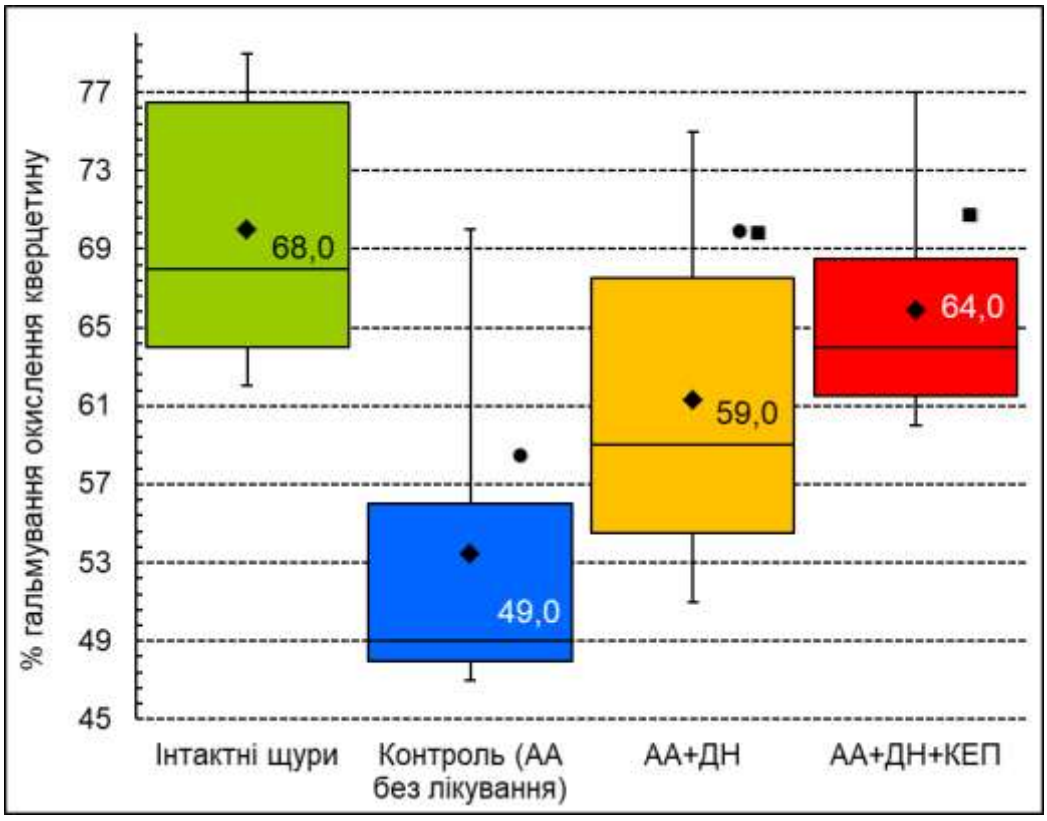


Рис. 5.2.4. Вплив ДН та його комбінації з КЕП **на рівень СОД** в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

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.

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.

Монотерапія 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.

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.

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. 5.2.5).

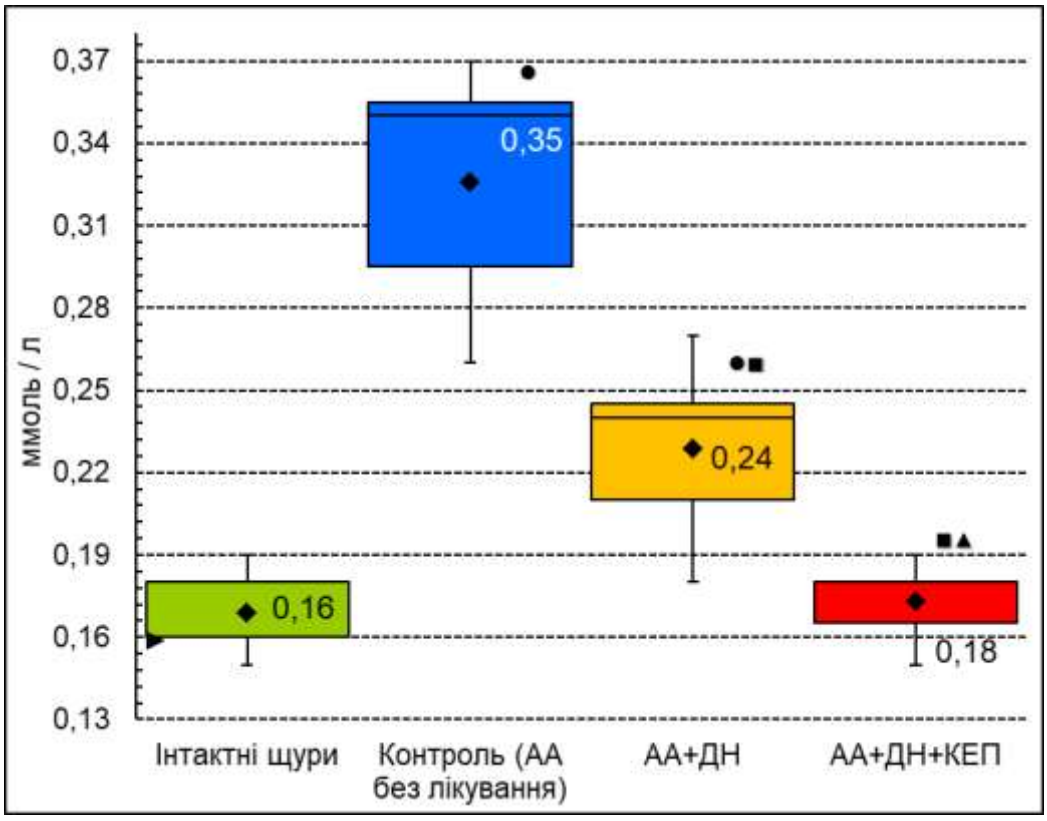


Рис. 5.2.5 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень серомукоїду в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

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

«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 злоякісних новоутвореннях, а при некрозі тканин і зовсім може протягом доби зростати до 300 мг/л [210].

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. 2.5.6).

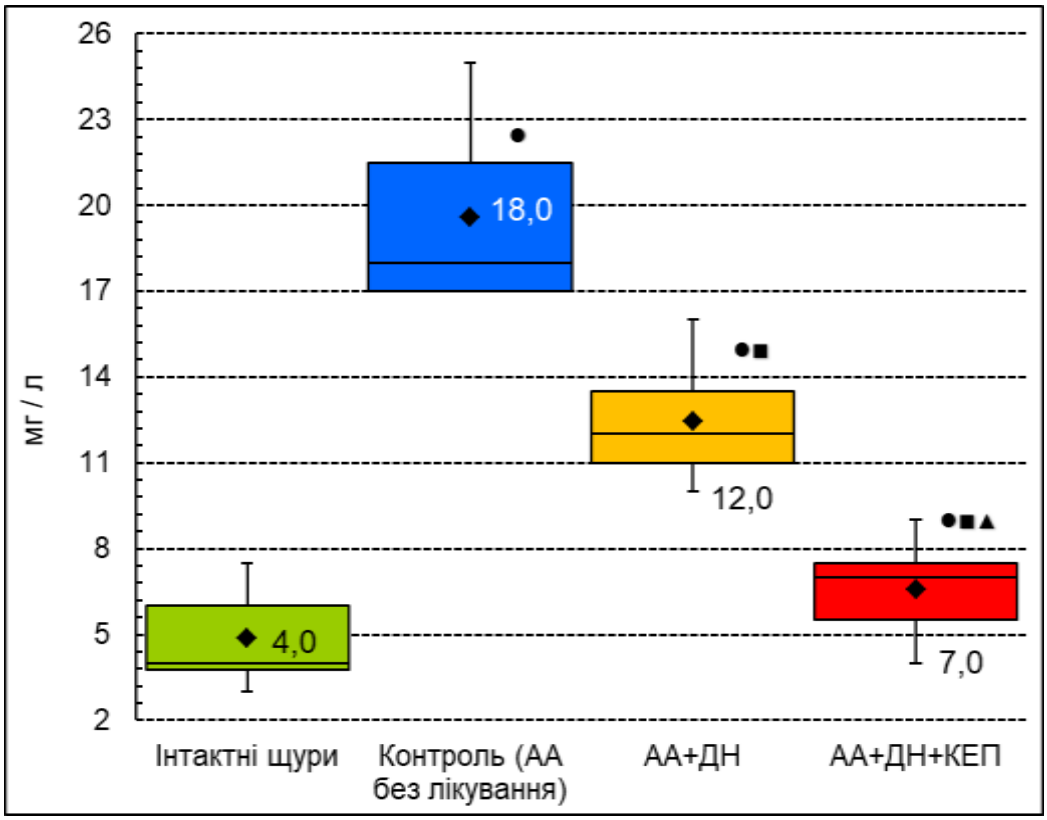


Рис. 5.2.6. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень С-РБ в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки.

1. Розподіл величин ненормальний.

2. Бокси включають результати від 25-го до 75-го 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.

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 [30, 226].

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 ГГТП.

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 (табл. 5.2.3).

Згідно з літературними даними [210], амінотрансферази є складними білками-ферментами, які каталізують процеси трансамінування та забезпечуючи синтез окремих амінокислот в організмі. Доведено, що під впливом пошкоджуючого чинників порушується енергетичний метаболізм гепатоцитів, що призводить до підвищення проникності клітинних мембран та появи в сироватці крові компонентів цитоплазми.

Таблиця 5.2.3

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на маркери цитолізу в 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
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. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Оскільки маркер пошкодження клітинних – ГГПТ 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 [190].

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. 5.2.3). Зазначені зміни з боку активності амінотрансфераз узгоджуються з даними про гепатотоксичну дію ДН [20, 88, 236, 237].

Також встановлено, що на тлі застосування ДН ГГТП статистично вірогідно ($p < 0,001$) знизилась на 22,9 % щодо показників тварин контрольної групи (див. табл. 5.2.3).

Особливу увагу привертають показники цитолітичних процесів у щурів з АА на тлі комбінованого застосування ДН та КЕП (див. табл. 5.2.3).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 сидром, але й ДН-індукований, що вказує на універсальність його цитопротекторної активності, ймовірно, зумовленої його здатність стабілізувати клітинні мембрани, а також його антиоксидантними властивостями [30].

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. 5.2.3).

Оцінка рівня ЛФ в периферичної 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. × л (рис. 5.2.7).

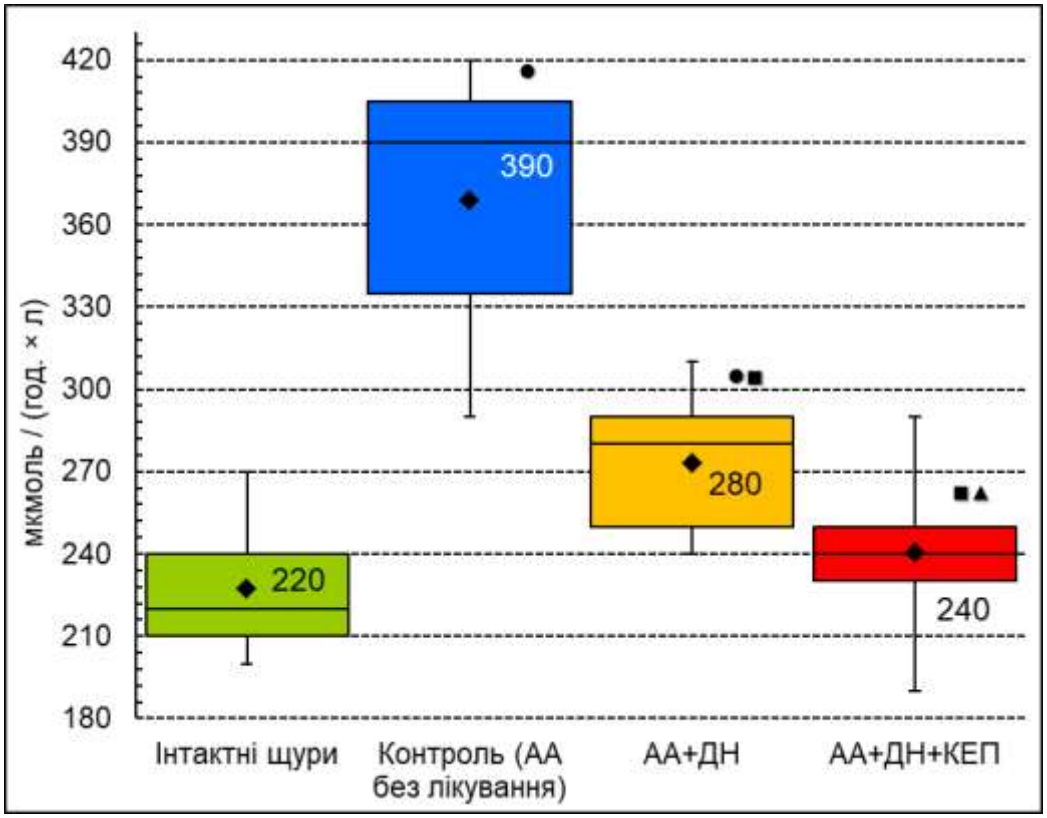


Рис. 5.2.7. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на активність ЛФ в сироватці крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

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.

ЛФ – гетерогенний ензим, що складається з окремих ізоферментів, кожен з яких зосереджений в певному органі: печінці, кістковій тканині, кишечнику, плаценті. Локалізуючись на клітинній мембрані, фермент

підключається до транспортування біологічно важливих сполук, в першу чергу, фосфору. ЛФ бере активну участь в процесах фосфорно-кальцієвого обміну в організмі. Зростання активності ЛФ вказує на активацію процесів ремоделювання кісткової тканини, оскільки її кісткова фракція синтезується остеобластами та їх попередниками і бере участь в мінералізації кісткового матриксу [23]. Підвищення активності даного ферменту може вказувати на підвищення остеобластної активності та посилення деструктивних змін у печінці або виникнення холестазу у щурів з АА [23].

Монотерапії ДН привела до статистично вірогідного ($p < 0,01$) зниження активності ЛФ на 28,2 %, а комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжувалося більш вираженим зниженням активності зазначеного ферменту на 38,5 % ($p < 0,01$) щодо показників нелікованих щурів з АА (див. рис. 5.2.7).

Вивчення білкового спектра крові щурів з АА показало, що рівень ЗБ практично не мав відмінностей у інтактних щурів і щурів з АА (табл. 5.2.4).

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 [238].

Таблиця 5.2.4

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники білкового гомеостазу в 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
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.

1. Індексами $_1$, $_2$, $_3$ вказано номер групи, між показниками яких проведено зрівняння;
2. p_{2-1} – рівень статистичної вірогідності розбіжності показників.

Зазначені зміни приводили до статистично вірогідного ($p < 0,001$) зниження значення альбумін/глобулинового співвідношення периферичної крові на 34,2 % щодо показників інтактних тварин (див. табл. 5.2.4). Зміна співвідношення протеїнових фракцій, як правило, відповідає тяжкості РА та відображає динаміку запального процесу [210].

Монотерапія ДН призвела до статистично вірогідного ($p = 0,04$) зниження значення альбумін / глобулинового 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. 5.2.4).

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 [210].

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. 5.2.5). Комбіноване застосування ДН та КЕП призводило до повного нівелювання вказаних змін.

Таблиця 5.2.5

Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники ліпідного гомеостазу в 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
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. 5.2.8) та зниження ($p < 0,05$) вмісту РНК та ДНК на 27,5 % та 14,3 % відповідно (рис. 5.2.9, рис. 5.2.10) відносно показників інтактних тварин.

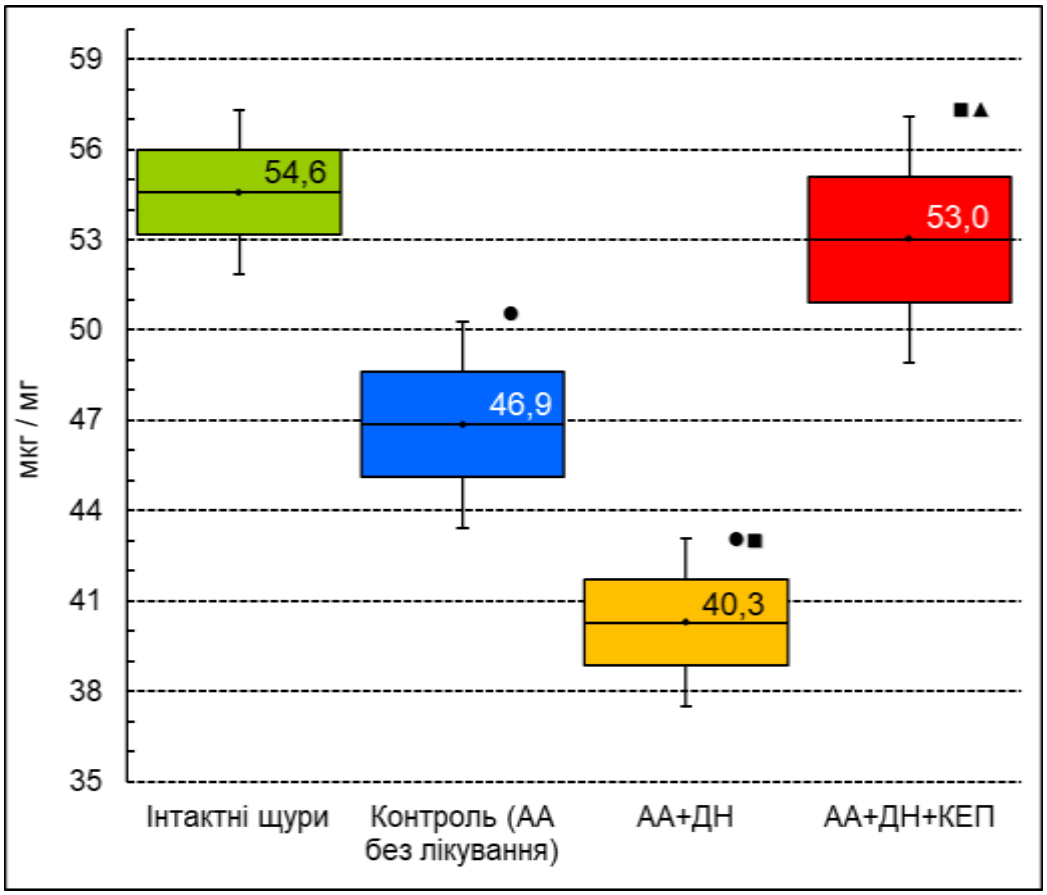


Рис. 5.2.8. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст загального білка в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту

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 ± 1,43 мкг/мг) щодо показників інтактних тварин (54,6 ± 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 ± 0,57 мкг/мл та 2,21 ± 0,27 мкг/мл відповідно.

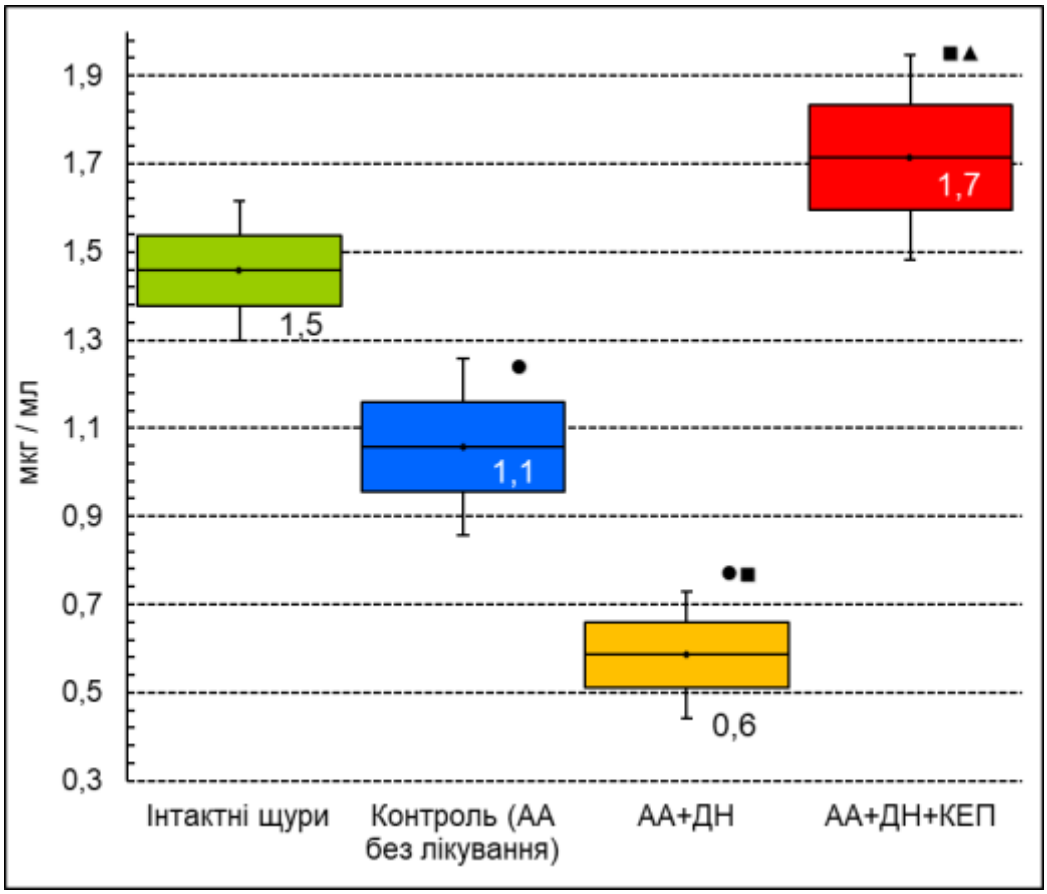


Рис. 5.2.9. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст РНК в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту

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 ± 2,09 мкг/мг, що лише на 2,9 % було нижче за показники інтактних тварин (54,6 ± 1,39 мкг/мг), а вміст ДНК на 5,1 % (p = 0,3) був нижчим за показники інтактних тварин (3,1 ± 0,12 мкг/мл) та становив відповідно 2,94 ± 0,08 мкг/мл.

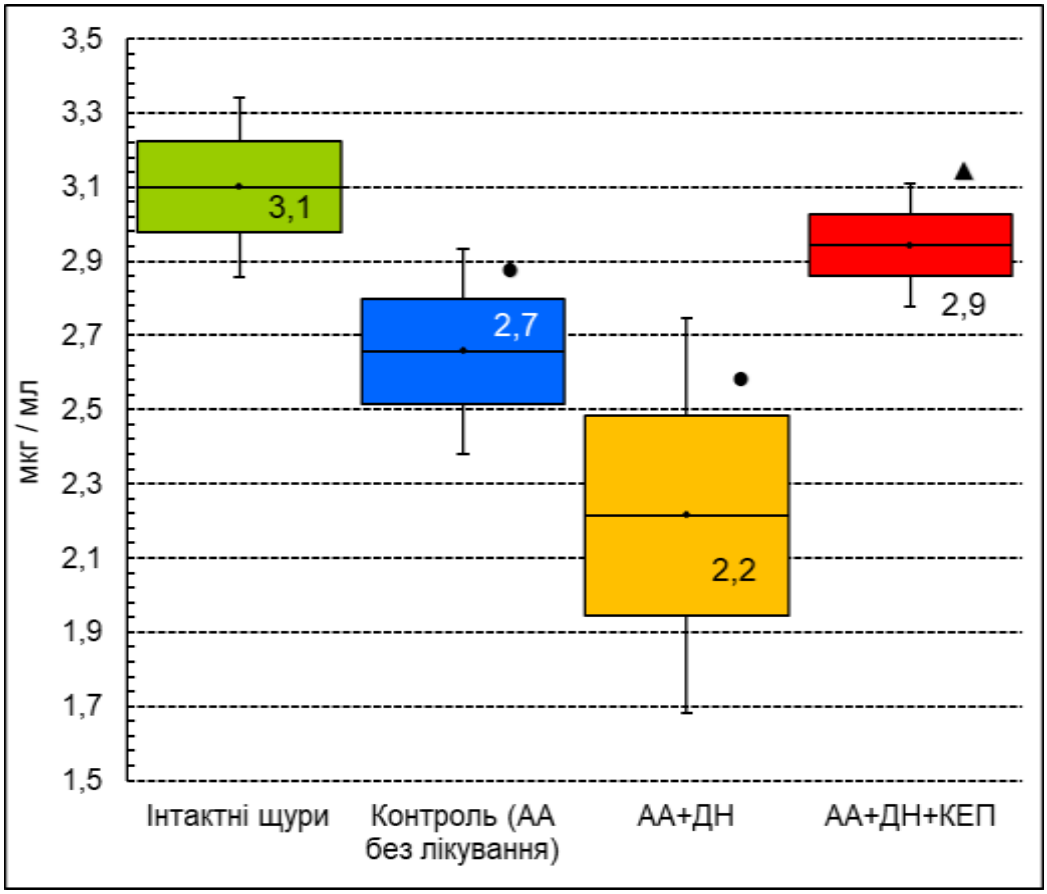


Рис. 5.2.10. Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст ДНК в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту

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.

Також встановлено, що рівень РНК на тлі комбінованого застосування ДН та КЕП в гомогенаті СОШ (1,72 ± 0,12 мкг/мл) на 17,6 % перевищував ($p = 0,1$) показники інтактних тварин (1,46 ± 0,08 мкг/мл).

5.3 Оцінка впливу ДН та КЕП за їх комбінованого застосування на стан СОШ щурів з АА за даними патоморфологічного дослідження

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. 5.3.1). 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 сплощене 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 [239, 240].

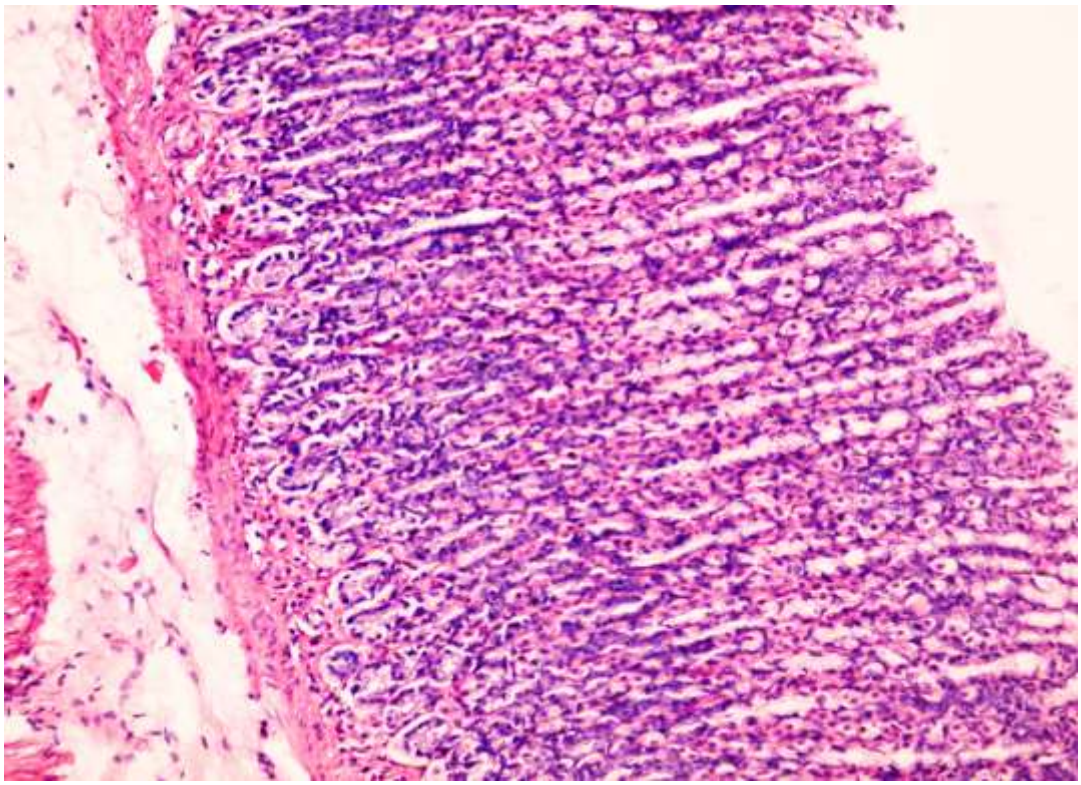


Рис. 5.3.1 Незмінена гістологічна структура СОШ щура. Група I (інтактні щури), 28 день. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200

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 мікроциркуляторного русла у підслизовому прошарку з глибше розташованими м'язовою та серозною оболонками шлунка [241].

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. 5.3.2).

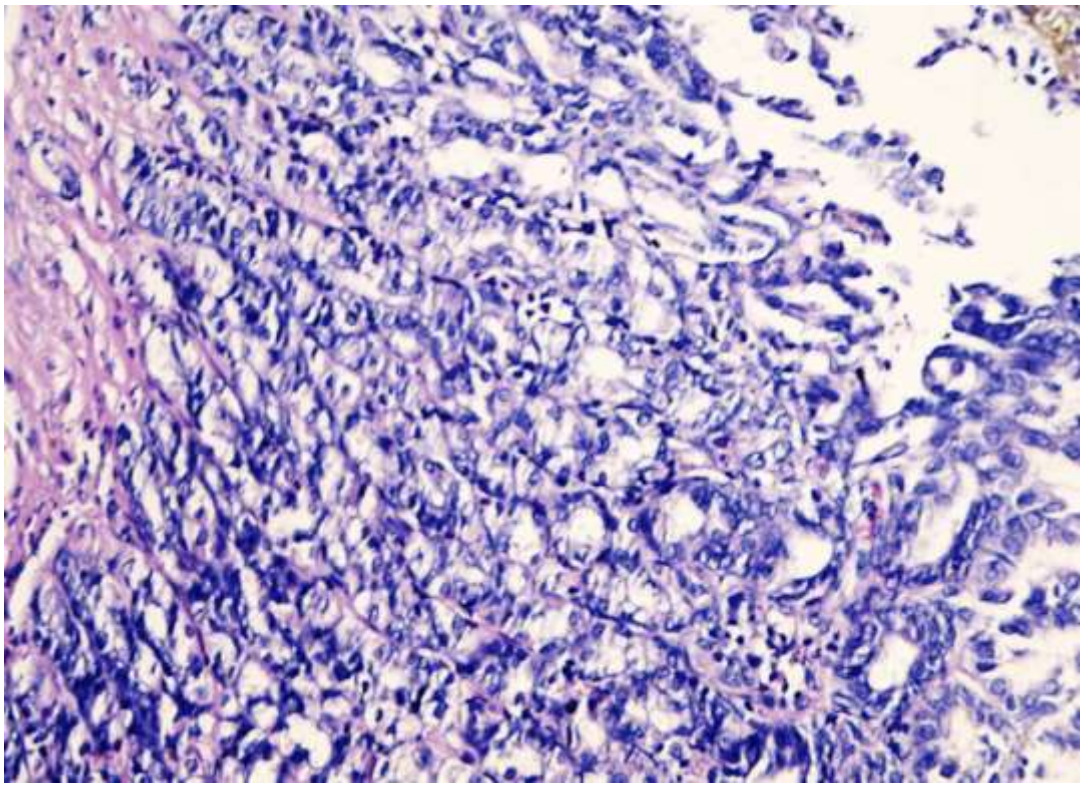


Рис. 5.3.2 Гістологічна структура СОШ щура з десквамованим епітелієм.
Група II (АА без лікування), 28 день.
Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200

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 виразкових 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. 5.3.3). 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

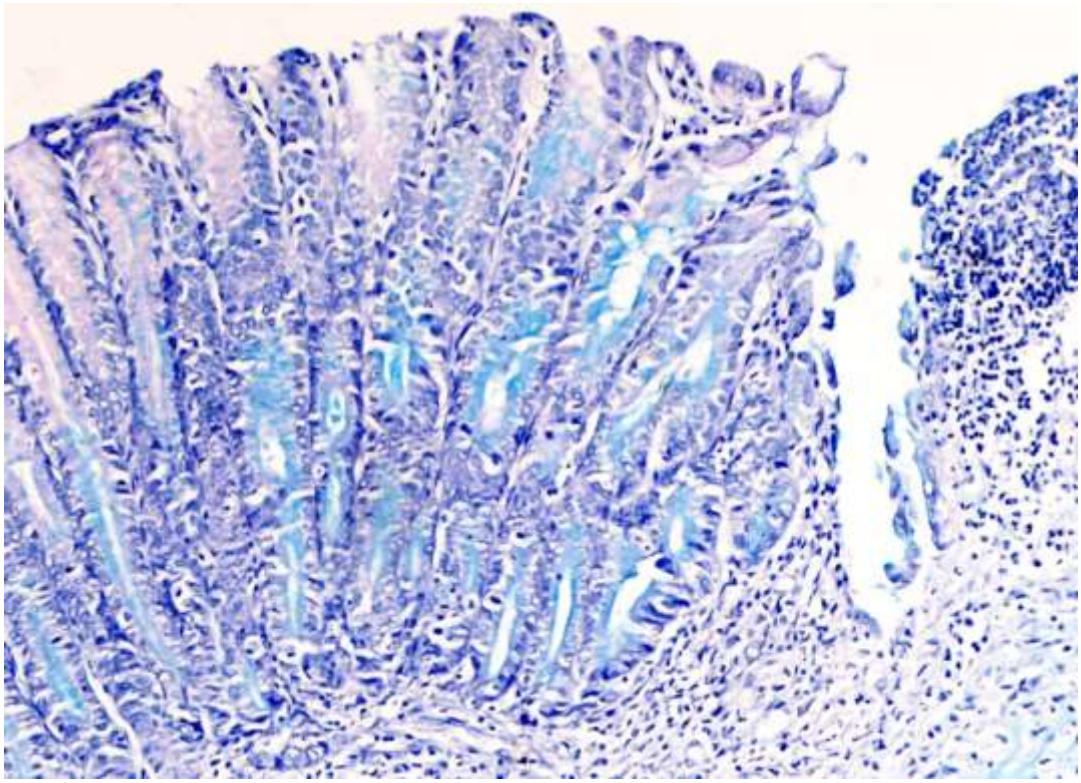


Рис. 5.3.3 Гостра виразка СОШ щура з клітинним детритом. Група III (АА+ДН), 28 день. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200

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 гістоархітектоніки СОШ, окрім поодиноких вогнищ десквамації поверхневого епітелію. Особливу увагу привертає виявлена при забарвленні ШИК-реакцією з альціановим синім виразна секреція нейтральних глікопротеїнів (рис. 5.3.4).

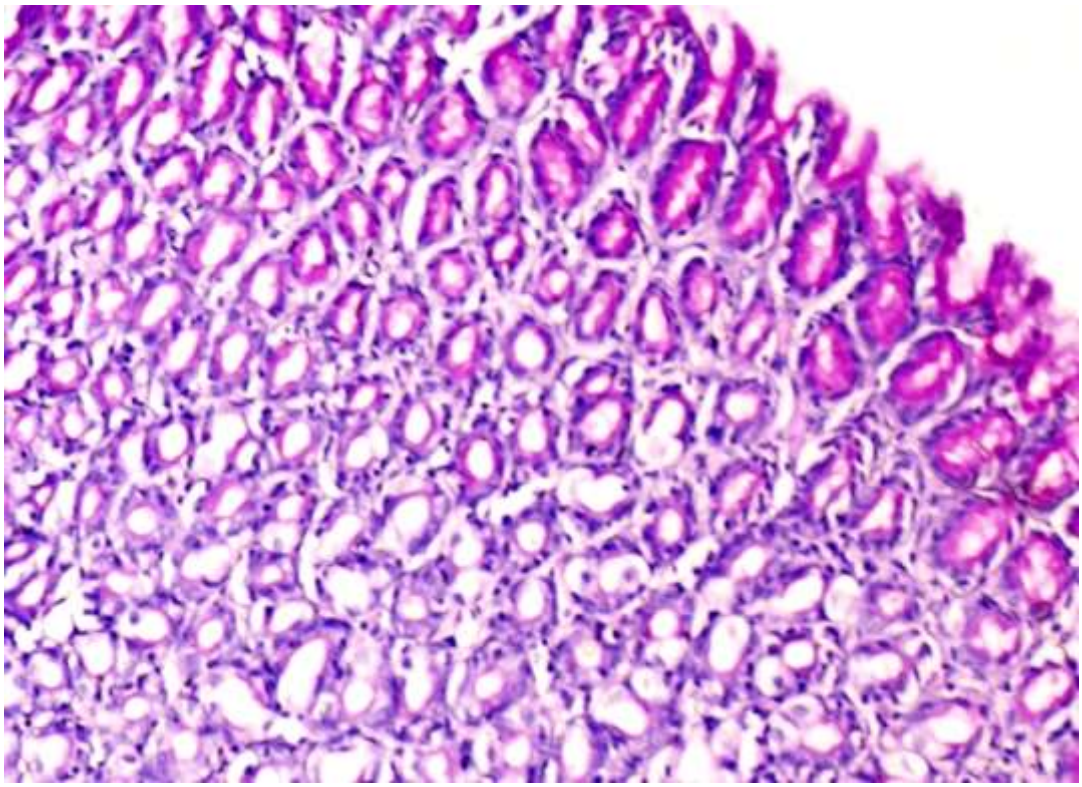


Рис. 5.3.4 Виразна секреція нейтральних глікопротеїнів поверхневими епітеліоцитами СОШ щура. Група IV (АА+ДН+КЕП), 28 день. Комбінована ШИК-реакція та альціановим синім, ×200

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

Висновки до розділу 5

1. На тіл комбінованого застосування ДН та КЕП на 28 добу експерименту об’єм кінцівки у щурів з АА зменшився ($p = 0,01$) на 42,5 % відносно показників на 14 день, що на 14,4 % перевищувало ($p = 0,01$) вихідні показники.
2. Комбіноване застосування ДН та КЕП супроводжується виразнішим знеболюючим ефектом ніж монотерапія ДН, що виражалось статистично вірогідно більшим ($p = 0,01$) на 14,1 % зростанням ПБЧ у щурів з АА на 28 добу експерименту.

3. Встановлено, що комбіноване застосування кріоконсервованого екстракту плаценти та ДН супроводжується більш виразним нівелюванням ознак запалення з боку біохімічних показників – рівень С-реактивного білка 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. Крім того виявлено статистично вірогідне ($p = 0,01$) підвищення рівня супероксиддисмутази на 30,6 % щодо значень у щурів контрольної групи.
4. Комбіноване застосування КЕП та ДН призводить до нівелювання негативного впливу останнього на білковий обмін в СОШ щурів з АА. Так, рівень ЗБ становив 53,0 ± 2,09 мкг/мг, що лише на 2,9 % було нижче за показники інтактних тварин.
5. Виявлене відновлення порушеної ДН секреції муцинів та виразна секреція нейтральних глікопротеїнів поверхневими епітеліоцитами покривно-ямковим епітелієм СО виступає одним з механізмів цитопротективної активності КЕП при ДН-індукованому ульцерогенезі.

Основні положення цього розділу викладено у 9 публікаціях автора [44, 51, 53, 54, 55, 58, 65, 66, 69].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

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 [229, 240]. 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 [242, 244].

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 %, 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 % тварин, що узгоджується з даними літератури при низький ульцерогенний потенціал вказаного НПЗЗ у шлунку [10].

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 [245, 246].

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 % нівлювання 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 % нівелювання ульцерогенної дії на товстий кишківник останнього, а кількість виразкових дефектів у тонкій вишці знизилась у 4,6 рази порівняно з показниками у щурів контрольної групи з МКС-індукованим ульцерогенезом без корекції та становила відповідно 7,4 ± 3,2 та 33,7 ± 1,7 виразок на 10 см довжини тонкої кишки відповідно.

На тлі лікувально-профілактичного застосування КЕП відмічено 100 % 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 [120, 229]. Радикальне пригнічення шлункової секреції ІПП може призводити до розвитку надлишкового бактеріального росту в тонкій кишці, здатного підсилювати тяжкість НПЗЗ-ентеропатії [229, 246].

Для з’ясування механізмів гастро-ентеропротективної активності КЕП нами проведені дослідження функціонального стану ШКТ – секреторної активність 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 зниження співвідношення вільної та зв’язаної кислотності на 43,0 ± 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, викликаної введенням зазначеного антіфлогістіка. 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. [244]. 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 [248].

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 гастропатію 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 ($p < 0,05$) зростанні 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 у підтримці тонусу судин, а відповідно – забезпеченні адекватної трофіки СО [250, 251].

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 [30] дозволили сформувати цілісне уявлення про механізми реалізації його гастропртективної активності (рис. 5.4).

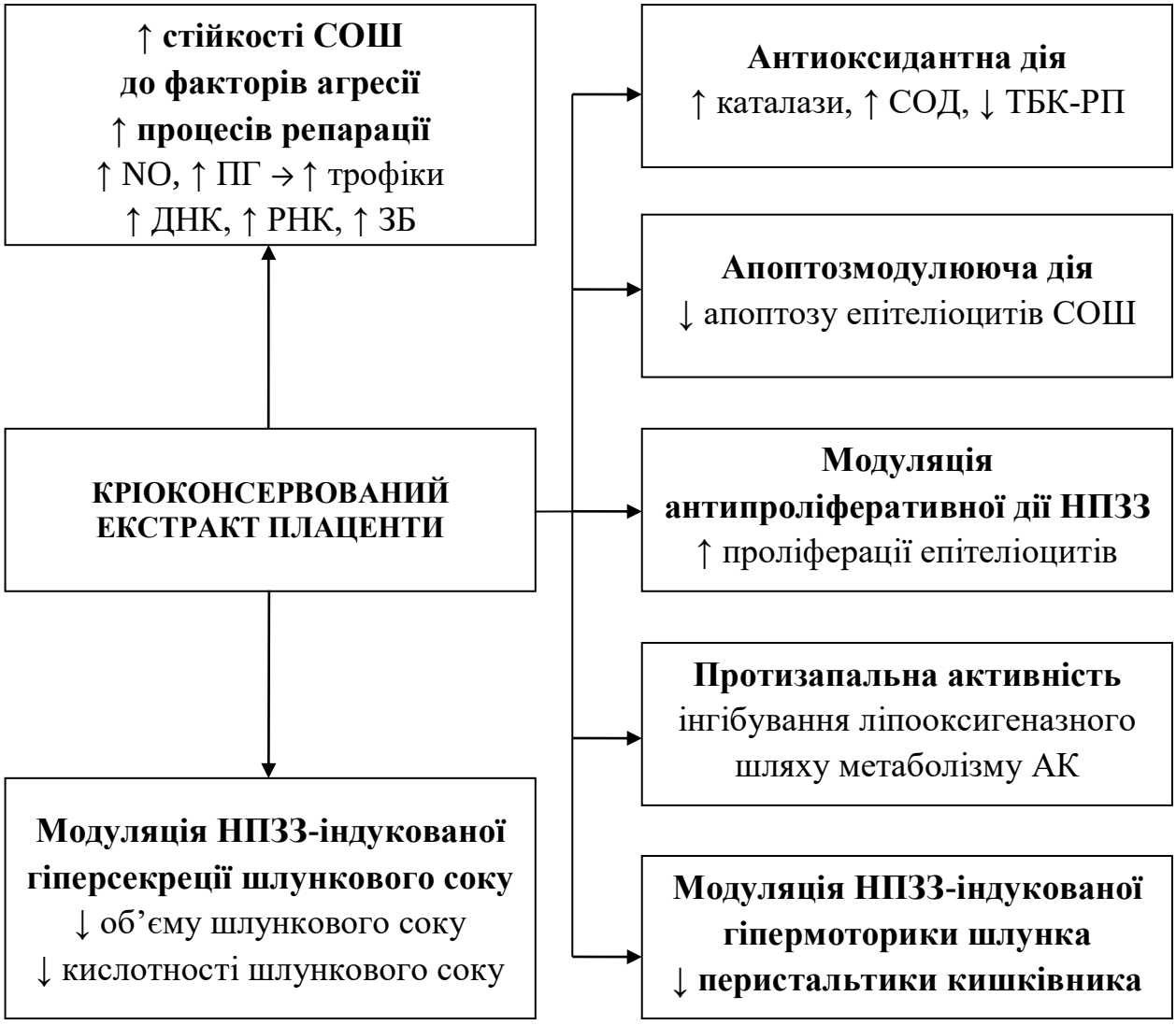


Рис. 5.4 Механізми реалізації гастропротективної активності КЕП на тлі ульцерогенної дії НПЗЗ

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, зокрема їх протизапальної та знеболюючої активності, оскільки виникало припущення, що механізмом ПВА КЕП може виступати зниження біодоступності та відповідно ефективності НПЗЗ.

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.

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 аналгетичної 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 аналгетичної 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 електроімпульному подразненні комбіноване застосування КЕП та ДН супроводжується виразнішим знеболюючим ефектом ніж монотерапія ДН, що виражалось 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 нормалізації рівня ТБК-РП, 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 сидром, 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 фосфоліпідів статистично вірогідно ($p = 0,02$) зріс на 22,6 % щодо показників тварин АА без лікування.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено теоретичне узагальнення та експериментальне обґрунтування нового рішення наукового завдання, спрямованого на корекцію ульцерогенної дії нестероїдних протизапальних засобів шляхом застосування кріоконсервованого екстракту плаценти та дано характеристику механізмів противиразкової активності останнього.

Встановлена антиульцерогенна активність кріоекстракту плаценти обґрунтовує доцільність проведення подальших доклінічних та клінічних досліджень з метою розширення показів до застосування досліджуваного екстракту, зокрема в гастроентерології та ревматології.

1. Противиразкова активність кріоконсервованого екстракту плаценти на тлі профілактичного введення на моделі гострого індометацин-індукованого ушкодження шлунка становила 69,1 %; на моделі гострого диклофенак натрій-індукованого ушкодження – 92,1 %. За лікувального режиму застосування у щурів з субхронічною мелоксикам-індукованою гастропатією противиразкова активність становила 100 %. За лікувально-профілактичного режиму застосування противиразкова активність кріоконсервованого екстракту плаценти на моделях субхронічних ібупрофен-індукованого та індукованого ацетилсаліциловою кислотою ушкодження шлунка становила 72,8 % та 70,6 % відповідно.
2. Комбіноване нарізне введення мелоксикаму та кріоконсервованого екстракту плаценти супроводжувалось зниженням співвідношення вільної та зв’язаної кислотності на 43,0 ± 3,0 % та статистично вірогідного ($p < 0,05$) зменшення перистальтичної активності на 12,3 % відносно показників тварин, які отримували тільки мелоксикам. Комбіноване застосування кріоконсервованого екстракту плаценти та диклофенаку натрію призводило до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження перистальтичної активності на 7,4 % щодо показників тварин, яким вводили тільки диклофенак натрію.

3. Застосування кріоконсервованого екстракту плаценти на тлі диклофенак натрій-індукованого ураження шлунка призводило до нівелювання антипроліферативної дії останнього, на що вказувало зростання індексу проліферації на 40,0 % відносно показників щурів з гастропатією. На тлі комбінованого застосування диклофенаку натрію та кріоконскрвованого екстракту плаценти у щурів з ад'ювантним артритом на 28 добу експерименту не виявлено порушень гістоархітектоніки слизової оболонки шлунка та відмічалась виразна секреція нейтральних глікопротеїнів.
4. Комбіноване застосування нестероїдних протизапальних засобів та кріоконсервованого екстракту плаценти показало підвищення протизапального ефекту за рахунок інгібування ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти. На це вказувало статистично вірогідне ($p < 0,05$) пригнічення зимозан-індукованого запалення у щурів на 78,8 % та 74,8 % на починаючи з 30–60 хв і досягаючи максимуму на 120 хв відповідно.
5. Встановлено потенціювання знеболюючої активності нестероїдних протизапальних засобів на тлі їх комбінованого застосування з кріоконсервованим екстрактом плаценти. Комбіноване застосування ібупрофену та кріоконсервованого екстракту плаценти призводило до статистично вірогідного ($p < 0,05$) зниження кількості оцтових корчів у мишей на 43,4 % відносно показників тварин контрольної групи, в той час як на тлі монотерапії ібупрофеном цей показник знизився на 36,9 % ($p < 0,001$).
6. Доведено підвищення терапевтичної ефективності нестероїдних протизапальних засобів на тлі їх комбінованого застосування з кріоконсервованим екстрактом плаценти за даними гематологічних та біохімічних досліджень. Так, у щурів з експериментальним ревматоїдним артритом встановлена нормалізація рівня реактантів з 2-тіобарбітуровою кислотою, зниження рівня С-реактивного білка ($p < 0,001$) на 61,1 %, зниження рівня серомукоїду ($p < 0,01$) на 17,1 %, зниження швидкості осідання еритроцитів на 72,2 % ($p < 0,001$) та зменшення кількості лейкоцитів на 54,8 % ($p < 0,001$) відносно показників нелікованих щурів.

ПРАКТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

В результаті розв’язання поставлених в роботі завдань отримані нові дані щодо використання кріоконсервованого екстракту плаценти з метою послаблення ульцерогенної дії нестероїдних протизапальних засобів. Встановлено ефективність використання кріоконсервованого екстракту плаценти для профілактики розвитку та лікування ерозивно-виразкових ушкоджень слизової оболонки шлунково-кишкового тракту на тлі застосування нестероїдних протизапальних засобів.

Встановлено посилення протизапальної активності при комбінованаому застосуванні нестероїдних протизапальних засобів та кріоконсервованого екстракту плаценти, ніж монотерапія вказаними засобами, за рахунок впливу на циклооксигеназну та ліпооксигеназну ланки запалення.

Наведені результати можна використовувати як теоретичне підґрунтя для розробки підходів до лікування захворювань та патологічних станів шлунково-кишкового тракту, обумовлених застосуванням нестероїдних протизапальних засобів.

Практичні результати, одержані за умов введення кріоконсервованого екстракту плаценти при моделюванні ушкодження травного тракту нестероїдними протизапальними засобами, які описують особливості макроскопічних змін слизової оболонки та функціонального стану шлунка та кишківника, а також зміни секреторної активності шлунка, можуть бути використані для курсів лекцій та практичних занять студентів закладів вищої освіти медичного та фармацевтивного профілів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. 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
2. 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.
3. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Сучасні шляхи послаблення ульцерогенності нестероїдних протизапальних засобів: досягнення, невирішені питання та шляхи оптимізації. *Запорожский медицинский журнал.* **2014**;2:82–6. Режим доступу: http://zmj.zsmu.edu.ua/article/view/25437/22932
4. Яковлєва 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
5. 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.
6. Hladkykh FV. Multimodal analgesia: polypharmacy in pain relief or rational use of non-steroidal anti-inflammatory drugs to prevent pain chronicity. *Traektoriâ Nauki = Path of Science*. **2020**;6(7):4008–18. DOI: https://doi.org/10.22178/pos.60-5
7. 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 и воспаления в неврологии. *Медицинский совет*. **2015**;7:51–2. DOI: http://dx.doi.org/10.21518/2079-701X-2015-7-51-53

8. 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
9. 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
10. Сатыбалдыев АМ, Каратеев АЕ. Что безопаснее для желудочно-кишечного-тракта – коксибы или мелоксикам? *Современная ревматология*. **2017**;11(1):72–8.
11. 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
12. 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.
13. 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

14. Вялов СС. Противовоспалительная терапия и гастротоксичность: реальные возможности профилактики. *Российский медицинский журнал*. **2014**;22:1644–8.
15. 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. *Traektoriâ Nauki = Path of Science*. **2017**;10:7001–18. DOI: http://dx.doi.org/10.22178/pos.27-8
16. Гладких ФВ. Превентивно-лечебные стратегии фармакокоррекции гастропатии, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. **2017**;4:14–23. DOI: http://dx.doi.org/10.17816/RCF15414-23
17. Голованова ЭВ. Защита слизистой желудочно-кишечного тракта от повреждающего действия нестероидных противовоспалительных средств. *Клиническая геронтология*. **2017**;1–2:47–51.
18. 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://dx.doi.org/10.18565/
19. Алексеенко СА. Современные подходы к профилактике НПВП-гастропатии. *Дальневосточнй медицинский журнал*. **2015**;4:123–8.
20. 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

21. Каратеев АЕ, Насонов ЕЛ, Ивашкин ВТ, Мартынов АИ, Яхно НН, Арутюнов ГП, Алексеева ЛИ, Абузарова ГР, Евсеев МА, Кукушкин МЛ, Копенкин СС, Лила 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

22. 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://dx.doi.org/10.11603/2415-8798.2015.2.5617

23. 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. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Lmch_2015_21_4_14

24. Волощук НІ, Таран ІВ. Вираженість гастротоксичної дії диклофенаку натрію на тлі дефіциту та надлишку гідроген сульфіду в експерименті. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. **2014**;4–5(40):17–24.

25. Zayachkivska OS, Bula NS, Pavlovskiy YaI, Pshyk-Titko IO, Gavriluk 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

26. Фоменко ІС. Вплив нестероїдних протизапальних препаратів на показники систем NO та H_2S в слизовій оболонці товстої кишки. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. **2015**;18(1):45–7.
27. Аскаров 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.
28. Аскаров 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.
29. 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.
30. Гольцев АН, ред. Плацента: криоконсервация, клиническое применение. Харьков; **2013**. 268 с.
31. Гулида МО, Мирошниченко ЕВ, Берёзка НИ, Гарячий ЕВ. Применение экстракта плаценты в комплексном лечении больных ревматоидным артритом. *Експериментальна і клінічна медицина*. **2014**;1(62):168–71.
32. Капустянська АА. Застосування препарату «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» в комплексному лікуванні загострення подагричного артриту з метаболічним артритом. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медико-стоматологічної академії*. **2010**;10.2(30):54–8.
33. Насадюк ХМ. Біохімічна характеристика та підходи до застосування екстрактів плаценти в медичній практиці. *З турботою про жінку*. **2013**;4(43):54–6.

34. Розанова СЛ, Науменко ЕИ, Розанова ЕД, Нардид ОА. Изменение антиоксидантных свойств экстрактов плаценты человека после замораживa-ния. *Проблемы криобиологии*. **2010**;20(3):288–95.
35. 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
36. Шевченко НО, Сомова КВ, Воліна ВВ, Прокопюк ВЮ, Прокопюк ОС. Динаміка активності та тривалості функціонування кріоконсервованих кpі-оекстракту, клітин та фрагментів плаценти в організмі експериментальних тварин. *Morphologia*. **2016**;10(2):93–8.
37. 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
38. 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 Режим доступу: https://mspsss.org.ua/index.php/journal/article/view/400
39. 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 & Pharmacology*. 2021; 9 (4): 278–93. DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-278-293. Режим доступу: https://www.pharmpharm.ru/jour/article/view/879
40. Hladkykh FV. The effect of meloxicam and cryopreserved placenta extract on initial inflammatory response – an experimental study. *Ceska a Slovenska Farmacie*. **2021**; 70: 179–85.

41. 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

42. 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

43. 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. Режим доступу: http://ibb.kpi.ua/article/view/237505

44. 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

45. 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. Режим доступу: https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/199

46. 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/MMT.3(50).2021.8

47. Гладких ФВ, Чиж НА. Механизмы защиты слизистой оболочки желудка в условиях применения криоэкстракта плаценты при диклофенак-индуцированной гастропатии. *Сборник материалов сателлитной дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Фундаментальная наука в современной медицине – 2021»*; 2021; Мінськ. Мінськ: Заклад освіти «Білоруський державний медичний університет»; **2021**, с. 436–40.
48. Гладких ФВ, Чиж НА. Слета ИВ. Исследование гастропротекторной активности криоконсервированного экстракта плаценты при ибупрофен-индуцированном поражении желудка в эксперименте. *Материалы VII Республиканской научно-пактической конференция молодых ученый «Современые достижения молодых учёных в медицине – 2020»*; 2020 Листопад 27; Гродно. Гродно: Заклад освіти «Гродненський державний медичний університет»; **2020**, с. 57–60.
49. Гладких ФВ, Чиж НА. Макроскопическая оценка влияния криокосервированного экстракта плаценты на состояние дистальных отделов желудочно-кишечного тракта на модели ибупрофен-индуцированного ульцерогенеза. *Материалы итоговой научно-практической конференции Гродненского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы медицины»*; 2021 Січень 28–29; Гродно. Гродно: Заклад освіти «Гродненський державний медичний університет»; **2021**, с. 191–5.
50. Гладких ФВ. Моторно-эвакуаторная активность желудка на фоне введения диклофенака натрия и криконсервированного экстракта плаценты. *Материалы LXXIV Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2021»*; **2021** Квітень 15–17; Мінськ. Мінськ: Заклад освіти «Білоруський державний медичний університет»; 2021, с. 172.

51. Гладких ФВ. Анемический синдром как индикатор противовспалительной активности диклофенака натрия и криконсервированного экстракта плаценты. *Материалы 73 научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные вопросы современной медицины и фармации»*; 2021 Квітень 21–22; Вітебськ. Вітебськ: Вітебський державний ордена Дружби народів медичний університет; **2021**, с. 726–30.
52. Hladkykh FV, Chyzh MO. The effect of cryoirrigation and cryopreserved placenta extract on the content of nitrogen monoxide in the gastric mucosa in rats with diclofenac sodium-induced gastropathy. *The 58-th Annual Meeting of the Society for Cryobiology «CRYO 2021»*, 21–23 July, Chicago. 2021; Chicago. USA, **2021**. p. 97–8.
53. Гладких ФВ, Чиж МО. Вплив диклофенаку натрію та його нарізного введення з кріоекстрактом плаценти на функціональний стан білкового обміну в слизовій оболонці шлунка на моделі ад'ювантного артриту у щурів. *Матеріали 81 міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених 81st LYSICon = 81-st Lviv Young Scientist International Conference*; 2020 Жовтень 21–23; Львів. Львів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького; **2020**, с. 166–7.
54. Гладких ФВ, Манченко АО. Бєлочкіна ІВ. Дослідження аналгетивної активності диклофенаку натрію на тлі застосування кріоконсервованого екстракту плаценти у щурів з ад'ювантним артритом. *Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини»*; 2020 Листопад 20; Запоріжжя. Запоріжжя: Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України; **2020**, с. 49–51.
55. Гладких ФВ, Бєлочкіна ІВ, Манченко АО. Онкометрична оцінка впливу кріоекстракту плаценти на протизапальну активність диклофенаку

натрію при експериментальному ревматоїдному артриті. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Матеріали міжнародної конференції молодих науковців 2020 «Annual young medical scientists` conference – 2020»*; 2020 Листопад 26–27; Київ. Київ: Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України; **2020**, с. 9.

56. Гладких ФВ, Чиж МО, Бєлочкіна ІВ. Вивчення гастропротективної активності кріоконсервованого екстракту плаценти на моделі гастропатії, індукованої ацетилсаліциловою кислотою у щурів. *Матеріали міжнародної дистанційної науково-практичної конференції «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology»*; 2021 Лютий 19; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2021**, с. 72–4.
57. Гладких ФВ, Чиж МО, Манченко АО. Модуляція антиоксидатнтно-прооксидантного гомеостазу у слизовій оболонці шлунка як механізм противиразкової активності кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів»*; 2021 Березня 11–12; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2021**, с.309–11.
58. Гладких ФВ, Михайлова ІП, Манченко АО. Вплив диклофенаку натрію та його комбінації з кріоконсервованим екстрактом плаценти на ліпідний баланс в сироватці крові при експериментальному ревматоїдному артриті. *Матеріали XXVII Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Topical issues of new medicines development»*; 2021 Березня 18–19; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; **2021**, с. 272–3.
59. Гладких ФВ, Бєлочкіна ІВ, Манченко АО. Проліферативна активність епітеліоцитів слизової оболонки шлунка на тлі застосування кріоекстракту плаценти при диклофенак натрій-індукованій гастропатії

у щурів. *Матеріали 90-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині»*; 2021 Березень 25–27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України; **2021**, с. 79.

60. Гладких ФВ. Антиноцицептивна активність кріоконсервованого екстракту плаценти та ібупрофену при їх комбінованому застосуванні в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Young science 3.0»*; 2021 Березня 26; Київ. Київ: Національний університет охорони здоров'я України ім. П. Л. Шупика МОЗ України; **2021**, с. 17–8.
61. Гладких ФВ, Манченко АО, Бєлочкіна ІВ. Макроскопічна характеристика цитопротективної дії кріоконсервованого екстракту плаценти в дистальних відділах травного тракту на моделі мелоксикам-індукованого ульцерогенезу. *Матеріали VIII Міжнародного медико-фармацевтичного конгресу «Bukovinian International Medical Congress – 2021»*; 2021 Квітень 6–9; Чернівці. Чернівці: Буковинський державний медичний університет МОЗ України; **2021**, с. 263.
62. Гладких ФВ, Манченко АО, Бєлочкіна ІВ. Експресія апоптичного маркеру каспази-3 у слизовій оболонці шлунка на тлі застосування диклофенаку натрію та кріоекстракту плаценти в експерименті. *Матеріали XXV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*; 2021 Квітень 12–14; Тернопіль. Тернопіль: Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України; **2021**, с. 190.
63. Гладких ФВ, Манченко АО, Чиж МО. Вплив мелоксикаму та кріоекстракту плаценти на моторно-евакуаторну функцію шлунка у мишей. *Матеріали XVIII Наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2021»*; 2021 Квітень 15–17, Вінниця.

Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; **2021**, с. 496–7.

64. Гладких ФВ, Чиж МО. Модуляція гастротоксичності індометацину при застосуванні кріоекстракту плаценти. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю для студентів та молодих вчених «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини»*; 2021 Квітень 22–23; Одеса. Одеса: Одеський національний медичний університет МОЗ України; **2021**, с. 56.
65. Гладких ФВ, Чиж МО. Зв'язок між рівнем С-реактивного білка та антифлогістичною активністю диклофенаку натрію і кріоконсервованого екстракту плаценти в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні»*; 2021 Квітень 22–23; Харків. Харків: Державна установа «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої Національної академії медичних наук України»; **2021**, с. 30.
66. Гладких ФВ, Манченко АО, Михайлова ІП. Стан перекисного окислення ліпідів при експериментальному ревматоїдному артриті на тлі застосування диклофенаку натрію та кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали XVIII Міжнародної наукової конференції студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»*; 2021 Квітень 22–23; Харків. Харків: Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна МОН України; **2021**, с. 46–7.
67. Гладких ФВ, Чиж МО. Режими введення і противиразкова активність кріоконсервованого екстракту плаценти при гастропатіях, індукованих нестероїдними протизапальними засобами. *Матеріали 45-ї щорічної конференції молодих вчених «Холод в біології та медицині: актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології – 2021»*; **2021**

Травень 19; Харків. Харків: Інститут проблем кріобіології Національної академії наук України; 2021, с. 26.

68. Гладких ФВ, Чиж МО. Вплив мелоксикаму та кріоконсервованого екстракту плаценти на секреторну активність шлунка в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «42 наукові читаня ім. О. О. Богомольця»*; 2021 Травень 24, Київ. Київ: Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України; **2021**, с. 47–8.
69. Гладких ФВ, Чиж МО. Інтенсивність деструктивних процесів сполучної тканини при експериментальному ревматоїдному артриті на тлі застосування кріоекстракту плаценти. *Клінічна та профілактична медицина*. 2021; 2 (16): *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених «Сучасні досягнення і перспективи розвитку профілактичної та клінічної медицини»)*; 2021 Травня 27; Київ. Київ: Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами; **2021**, с. 100.
70. Гладких ФВ, Чиж МО. Секреторна активність шлунка на тлі нарізного введення диклофенаку натрію та кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «IX наукова сесія інституту гастроентерології Національної академії медичних наук України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології»*; 2021 Червень 17–18, Дніпро. Дніпро: Державна установа «Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України»; *Гастоентерологія*. **2021**; 2: 132–3.
71. Каратеев АЕ, Успенский ЮП, Пахомова ИГ, Насонов ЕЛ. Краткий курс истории НПВП. *Научно-практическая ревматология*. **2012**.52(3):101–16.
72. Шматенко ОП, Бєлозьорова ОВ. Щодо сучасної класифікації нестероїдних протизапальних засобів для забезпечення потреб

військовослужбовців збройних сил України. *Медичний форум*. **2015**;4:24–9.

73. Bielsa-Fernandeza MV, Tamayo-de la Cuestab JL, Lizarraga-Lopezc J. et al. The Mexican consensus on the diagnosis, treatment, and prevention of NSAID-induced gastropathy and enteropathy. *Revista de Gastroenterología de México*. **2020**;85(2):190–206. DOI: https://doi.org/10.1016/j.rgmxen.2019.11.001

74. 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

75. 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

76. 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.

77. 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

78. 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

79. 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
80. Маев ИВ, Андреев ДН, Дичева ДТ. Гастропатия, вызванная нестероидными противовоспалительными средствами: патогенетически обоснованные подходы к профилактике и терапии. *Pharmatec*. **2016**;2:49–54. Режим доступа: https://www.pharmateca.ru/ru/archive/article/32547
81. 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
82. Garcia Rodríguez 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
83. 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.
84. Singh G, Triadafilopoulos G. Epidemiology of NSAID induced gastrointestinal complications. *The Journal of Rheumatology*. **1999**;56:18–24.
85. 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

86. 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

87. 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

88. Свінцицький АС. Гепатотоксичність та шляхи її подолання при застосуванні нестероїдних протизапальних препаратів. *Здоров'я України*. **2014**;4:54–5. Режим доступу: https://health-ua.com/pics/pdf/ZU_2014_Cardio_4/54-55.pdf

89. Gulmez SE, Larrey D, Pageaux GP, Lignot S, Lassalle R, Jové J, Gatta A, McCormick PA, Metselaar HJ, Monteiro E, Thorburn D, Bernal W, Zouboulis-Vafiadis I, de Vries C, Perez-Gutthann S, Sturkenboom M, Bénichou 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

90. 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

91. 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

92. Циммерман ЯС. Поражение желудка, индуцированное приемом нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП): НПВП-гастрит или НПВП-гастропатия? *Клиническая фармакология и терапия*. **2018**,27(1):1–8.

93. Евсеев МА. Повреждение кишечной трубки нестероидными противовоспалительными препаратами: клиническое значение, патогенез, возможности профилактики. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. **2013**;1–2:79–87.

94. 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

95. Балукова ЕВ. Гастропатия, вызванная НПВП: от понимания механизмов развития до разработки стратегии профилактики и лечения. *Российский медицинский журнал*. **2017**;10:697–702.

96. 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

97. 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.

98. Musumba C, Pritchard DM, Pirmohamed M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. **2009**;30:517–31. DOI: http://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2009.04086.x

99. 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

100. Балабанцева АП, Клярицкая ИЛ, Цапяк ТА, Григоренко ЕИ. Современные подходы к первичной профилактике гастропатий и энтеропатий, вызванных НПВП. *Крымский терапевтический журнал*. **2015**;3:31–8.

101. Авраменко АА, Гоженко АИ, Гойдык ВС. Язвенная болезнь (очерки клинической патофизиологии). Одесса: АРТ-В; **2008**. 304 с.
102. Циммемман ЯС. Язвенная болезнь: критический анализ современного состояния проблемы. *Вестник клуба панкреатологов*. **2019**;1:53–62. DOI: https://doi.org/10.33149/vkp.2019.01.08
103. Подплетная ЕА, Мамчур ВЙ. Механизмы гастродуоденотоксичности нестероидных противовоспалительных средств. *Журнал Академии медицинских наук Украины*. **2005**;1:47–62.
104. 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. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=23418107
105. 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
106. Сулаева ОН, Уоллес ДжЛ. Новая стратегия гастроинтестинальной протекции с использованием газообразных медиаторов. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. **2016**;3:17–23. Режим доступа: http://www.gastro-j.ru/article/832-h2-novaya-strategiya-gastrointestinalnoy-protektsii-s-ispolzovaniem-gazoobraznyih-mediatorov-h2-/show/full/
107. 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
108. Мороз ЕВ, Каратеев АЕ. Ребамипид: эффективная медикаментозная профилактика НПВП-энтеропатии возможна. *Современная ревматология*. **2016**;4:97–105.

109. 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
110. Липатова ТЕ, Дудаева НГ. Современная стратегия диагностики и лечения НПВП-индуцированной энтеропатии у пожилых пациентов. *Саратовский научно-медицинский журнал*. **2015**;11(1):52–6.
111. Maiden L. Capsule endoscopic diagnosis of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced enteropathy. *Journal of Gastroenterology*. **2009**;44(19):64–71.
112. Wallace JL. Mechanisms, prevention and clinical implications of nonsteroidal anti-inflammatory drug-eanteropathy. *World Journal of Gastroenterology*. **2013**;19:1861–76. DOI: https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i12.1861
113. 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.
114. Клярицкая ИЛ, Балабанцева АП, Фурсова ВА. Энтеропатии, индуцированные приемом нестероидных противовоспалительных препаратов. *Крымский терапевтический журнал.* **2014**;1:38–4.
115. 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
116. Звягинцева ТД, Чернобай АИ. Синдром избыточного бактериального роста: современные подходы к лечению. *Семейная медицина*. **2013**.4(48):31–8.
117. Плотникова ЕЮ. Актуальность антацидов и альгинатов в лечении заболеваний пищеварительной системы. *Терапевт*. **2015**;2:58–64. Режим доступа: https://www.lvrach.ru/2015/02/15436163/
118. Karateev AE, Nasonov EL, Radenska-Lopovok SG. The effectiveness of bismuth tricalium dicitrate ("De-nol") in gastropathies induced by non-

steroidal anti-inflammatory drugs: an open controlled 4-week study. *Gastroenterology is common*. **2005**;77(2):46–9.

119. 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
120. 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
121. Дыдыкина ИС, Коваленко ПС. Основные аспекты профилактики и лечения НПВП-гастропатии в свете новой идеологии современной медицины. *Therapy*. **2019**;1(27):182–92. DOI: https://dx.doi.org/10.18565/
122. 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-энтеро-колопатий, индуцированных нестероидными противовоспалительными препаратами. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. **2018**;(3):4–18.
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. 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

125. 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://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.07.015
126. Каратеев АЕ. Модификация традиционных НПВП как метод повышения их безопасности и удобства использования. *Российский медицинский журнал*. **2015**;7:392–6.
127. 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
128. 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
129. Ахмедов ВА, Ноздряков ВА. Современные взгляды на безопасность длительной терапии ингибиторами протонной помпы. Обзор литературы. *Российский медицинский журнал*. **2017**;10:765–7.
130. Blackler RW, Palma GDe, Manko A. et al. 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
131. Andersen JT, Mastrogiannis D, Andersen NL. et al. 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

132. Ефимов АЛ, Сигула БВ, Филаретова ЛП. Острые язвы и эрозии желудочно-кишечного тракта, индуцированные нестероидными ротивовоспалительными 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
133. 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.
134. 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
135. Magierowski M, Magierowska K, Kwiecien S, Brzozowski T. Gaseous mediator's nitric oxide and hydrogen sulfide in the mechanism of gastrointestinal ntegrity, protection and ulcer healing. *Molecules*. **2015**;20:9099–123. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules20059099
136. 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
137. Moncada S, Higgs EA. The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology. *British Journal of Pharmacology*. **2006**; 147(1):193–201.
138. 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

139. 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

140. 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.

141. Gemici B, Elsheikh W, Feitosa K.B, Costa S.K, Muscara MN, Wallace JL. H_2S-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

142. 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

143. 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

144. 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.

145. Hladkykh FV. The characteristics of the mechanisms of anti-ulcerogenic action of vanilloid receptor agonists ($TRPV_1$) on the model of gastropathy induced by acetylsalicylic acid. *Pharmacy and pharmacology*. **2017**;5(3):283–301. DOI: http://dx.doi.org/10.19163/2307-9266-2017-5-3-283-301.

146. Mozsik G, Abdel-Salam OME, Takeuchi K. Capsaicin – sensitive neural afferentation and the gastrointestinal tract: from bench to bedside. *InTech, Croatia*; **2014**. DOI: https://doi.org/10.5772/57289
147. 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
148. Гладких ФВ, Степанюк НГ. Вінборон: перший український гастропротектор – агоніст ванілоїдних рецепторів ($TRPV_1$). *Фармакологія та лікарська токсикологія*. **2016**;4–5 (50):20–9.
149. 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
150. Zupanets IA, Shebeko SK, Popov OS, Shalamay AS. Diclocor is superior to diclofenac sodium and quercetin in normalizing biochemical parameters in rats with collagen-induced ostheoarthritis. *Inflammopharmacology*. **2016**;24(1):53–7. DOI: https://doi.org/10.1007/s10787-015-0258-8
151. Булгаков СА. Гексапептид даларгин в клинической гастроэнтерологии: 30-летний опыт применения препарата. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. **2016**;3:103–12.
152. 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
153. 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. *Український біохімічний журнал*. **2008**;80(2):120–7.

154. 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.
155. 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
156. 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
157. 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 & translational immunology*. **2014**;3(5):e14. DOI: https://doi.org/10.1038/cti.2014.5
158. Білаш СМ. Особливості лектиноспецифічності структурних компонентів кардіальної частини шлунку після введення кріоконсервованої плаценти на тлі гострого експериментального запалення. *Світ біології та медицини*.**2014**;2(44):97–100.
159. Гулида МО, Мирошниченко ЕВ, Берёзка НИ, Гарячий ЕВ. Применение экстракта плаценты в комплексном лечении больных ревматоидным артритом. *Експериментальна і клінічна медицина*. **2014**;1(62):168–71.
160. Капустянська АА. Застосування препарату «Кріоцелл-кріо-екстракт плаценти» в комплексному лікуванні загострення подагричного артриту з метаболічним артритом. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. **2010**;10(30):54–8.

161. 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.
162. 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.
163. Грищенко НГ, Грищенко ВИ, Смольянинова ЕИ, Чернишенко ЛГ, Волкова НА. Влияние криоэкстракта плаценты на индукцию суперовуляции у лабораторных мышей с хроническим воспалением яичников. *Проблеми кріобіології*. **2010**;20(3):327–37.
164. 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.
165. Прокопюк ВЮ, Трифонов ВЮ, Прокопюк ОС, Черемський АК, Зуб ЛІ. Клінічна ефективність прегравідарної підготовки жінок з антифосфоліпідним синдромом. *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. **2011**;(2):78–81.
166. 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.
167. 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.

168. Лихицкий АА. Влияние криоконсервированной плацентарной ткани на остеогенез в эксперименте при переломе нижней челюсти. *Клінічна стоматологія*. **2016**;1(14):37–41.
169. 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.
170. Кондаков ИИ, Юрченко ТН. Морфологические аспекты действия криоконсервированной плаценты при экспериментальном атеросклерозе. *Вестник неотложной и восстановительной медицины*. **2012**;13(1):68–71.
171. Гріщенко ВІ, Морозова ТФ, Воротілін ОМ, Моісеєв 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.
172. Апихтіна ОЛ, Бебешко ВГ, Волошина НО, Гаврилюк АО, Гончарова ВМ, Грищенко МА, Кава ТВ, Кірєєв 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.
173. Сигидин ЯА, Шварц ГЯ, Арзамасцев АП, Либерман СС, ред. Лекарственная терапия воспалительного процесса: экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов: монография. Москва: Медицина; **1988**. 240 с.
174. Щокіна КГ. Експериментальне обґрунтування раціонального вибору сучасних і перспективних препаратів з протизапальною. Автореф. дис. Харків. **2006**. 17 с.
175. Стефанов ОВ, ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ: Авіцена; **2001**. 527 с.

176. Рыболовлев ЮР, Рыболовлев РС. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклады АН СССР*. **1979**;247(6):1513–6.
177. Волощук НІ. Вплив рівня тестостерону у самців щурів на гастртоксичну дію нестероїдних протизапальних засобів. *Медичні перспективи*. **2010**;13(18):9–16.
178. 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
179. 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
180. Stepanujk NG. Characteristics of the protective effect of quercetin and its water-soluble form of corvitin in a model of diclofenac-induced gastropathy. *Georgian medical news*. **2019**;(296):140–4.
181. Хасина ЭИ., Моисеенко ЛИ. Протективное действие пектина из амаранта багряного при гастропатии, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами. *Тихоокеанский медицинский журнал*. **2013**;(2):18–21.
182. 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://dx.doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-3-68-83
183. Wei Xie, Xielin Huang, Renpin Chen, Ruru Chen, Tang Li, Wei Wu, Zhiming Huang. 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-κB signaling pathways. *Drug Design, Development and Therapy*. **2019**;22(13):2969–84. DOI: http://doi.org/10.2147/DDDT.S193641

184. 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. Режим доступу: https://pharmj.org.ua/index.php/journal/article/view/596
185. Бандаренко ПС, Волощук НІ. Дослідження протизапальної та жарознижувальної активності поліморфної модифікації похідного n-(трифлуорометилфеніл)-4-гідрокси-2,2-діоксо-1н-2λ^6,1-бензотіазин-3-карбоксаміду у щурів. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. **2021**;25(1):27–31.
186. Яковлєва 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.
187. 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.
188. Громыко МВ, Грицук АИ. Экспериментальные модели ревматоидного артрита. *Проблемы здоровья и экологии*. **2012**;2(32):115–8.
189. 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.
190. Саратиков АС, Венгеровский АИ, Прищепт ТП. Адъювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия). Томск: Издательство Томского университета; **1983**. 101 с.

191. Freund J. Some aspects of active immunization. *Annual Review of Microbiology*. **1947**;1:291–308.
192. 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. *Traektoriâ Nauki = Path of Science*. **2017**;10:7001–18. DOI: http://dx.doi.org/10.22178/pos.27-8
193. 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.
194. Долгов ВВ, Меньшиков ВВ, ред. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство в 2 т. Москва: ГОЭТАР-Медиа; **2012**;1. 928 с.; 2. 808 с.
195. Мыш ВГ. Секреторная функция желудка и язвенная болезнь. Новосибирск: Наука; **1987**. 175 с.
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. 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
198. Попова ЛН. Как изменяются границы вновь образующегося эпидермиса при заживлении ран. Автореф. дисс. Воронеж. **1942**; 18 с.
199. Миронов АН, Шварц ГЯ, Сюбаев РД, ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I. Москва: Гриф и К; **2013**. 944 с.

200. 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.
201. Гацура ВВ. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. Москва: Медицина; **1974**. 142 с.
202. Чайка АВ, Черетаев ИВ, Хусаинов ДР. Методы экспериментального доклинического тестирования анальгетического действия различных факторов на лабораторних крысах и мышах. *Учёные записки Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского*. **2015**;1(67):161–73.
203. Западнюк ИП, Западнюк ВИ, Захария ЕА, ред. Лабораторные животные: разведение, содержаний использование в эксперименте. Київ: Вища школа; **1983**. 383 с.
204. 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 $TRPA_1$. *Кубанский научный медицинский вестник*. **2019**;26(1):77–87. https://doi.org/10.25207/1608-6228-2019-26-1-77-87
205. Randall L, Selitto J. A method for measurement of analgesic activity on inflammed tissue. *Archives of International Pharmacodynamics*. **1957**;111:409–19.
206. 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.
207. Asakawa T, Matsushita S. coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. **1980**;15(3):137–40.
208. 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.

209. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ, Токарев ВЕ. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело*. **1988**;1:16–9.
210. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕДпресс-информ; **2009**. 896 с.
211. Сумбаев ВВ, Ясинская ИМ. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге. *Современые проблемы токсикологии*. **2000**;3:3–7.
212. Bligh EG, Dyer WI. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. **1959**;37(8):911–7.
213. Svetashev VI, Vaskovsky VE. A simplified technique for thin layer microchromatography of lipids. *Journal of Chromatography*. **1972**.67:376–8.
214. Vaskovsky VE, Kostetsky EY, Vasendin IM. A universal reagent for phospholipid analysis. *Journal of Chromatography*. **1975**:114:129–41.
215. Трудолюбова МТ, Ореховича ВН. ред. Количественное определение ДНК и РНК в субклеточных фракциях клеток животных. *Современные методы в биохимии*. Москва. Медицина, **1977**:313–16.
216. Автандилов ГГ. Основы количественной патологической анатомии. Москва: Медицина; **2002**. 240 с.
217. 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://dx.doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-3-68-83
218. Гладких ФВ, Степанюк НГ, Вернигородський СВ. Дослідження апоптозмодулюючих 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.

219. 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
220. 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
221. 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
222. 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
223. 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.
224. Новиков ВЕ, Крюкова НО, Новиков АС. Гастропротекторные свойства мексидола и гипоксена. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. **2010**;73(5):15–8.

225. Каратеев АЕ. На пути к созданию новой генерации нестероидных противовоспалительных препаратов: амтолметин гуацил. *Современная ревматология*. **2014**;2:83–9.
226. 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. Режим доступа: http://dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/44519
227. 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
228. 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
229. Colucci R, Pellegrini C, Fornai M, Tirotta 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
230. Галушко ЕА, Беленький ДА, Александрова ЕН, Кашникова ЛН. Роль гепсидина в развитии анемии у больных ревматоидным артритом. *Начно-практическая ревматология*. **2014**;52(3):19–24.
231. Гармиш ЕА. Анемия хронического воспаления при ревматоидном артрите: патогенез и выбор терапии. *Український ревматологічний журнал*. **2016**;1(63):39–41.
232. 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 Hepcidin 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

233. 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

234. 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

235. 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

236. 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

237. 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

238. Кріль 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.

239. Johansson ME, Sjovall H, Hansson GC. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. **2013**;10(6):352–61. DOI: https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.35

240. 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

241. Вернигородський СВ. Актуальні питання патоморфологічного вивчення гастропатій, що індуковані нестероїдними протизапальними засобами. *Світ медицини та біології*. **2014**;4(46):186–90.

242. 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

243. 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

244. 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

245. 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

246. 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

247. 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

248. 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

249. 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

250. Олещук ОМ, Чорномидз АВ. Значення системи оксиду азоту у функціонуванні шлунка в нормі та при патології. *Медична та клінічна хімія*. **2016**;18(2):84–95. DOI: https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i2.6679

251. 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

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus або Web of Science Core Collection

1. **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. Режим доступу: https://mspsss.org.ua/index.php/journal/article/view/400 (*Видання входить до міжнародної наукометричної бази Scopus, категорія Б*).

Статті в іноземних рецензованих періодичних виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз Scopus або Web of Science Core Collection

2. **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 & Pharmacology*. 2021; 9 (4): 278–93. DOI: https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-4-278-293. Режим доступу: https://www.pharmpharm.ru/jour/article/view/879 (*Видання входить до міжнародних наукометричних баз Scopus (Q3 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank) та Web of Science Core Collection*).
3. **Hladkykh FV**. The effect of meloxicam and cryopreserved placenta extract on initial inflammatory response – an experimental study. *Ceska a Slovenska Farmacie*. 2021; 70: 179–85. (*Видання входить до міжнародної наукометричної бази Scopus (Q3 за класифікацією Scimago Journal & Country Rank)*).

Статті у рецензованих фахових періодичних виданнях України

4. **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 (*Видання категорії Б*).
5. **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 (*Видання категорії Б*).
6. **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. Режим доступу: http://ibb.kpi.ua/article/view/237505 (*Видання категорії Б*).
7. **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 (*Видання категорії Б*).
8. **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. Режим доступу: https://eumj.med.sumdu.edu.ua/index.php/journal/article/view/199 (*Видання категорії Б*).
9. **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/MMT.3(50).2021.8 (*Видання категорії Б*).

Статті у збірках матеріалів конференцій

10. **Гладких ФВ**, Чиж НА. Механизмы защиты слизистой оболочки желудка в условиях применения криоэкстракта плаценты при диклофенак-индуцированной гастропатии. *Сборник материалов сателлитной дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Фундаментальная наука в современной медицине – 2021»*; 2021; Мінськ. Мінськ: Заклад освіти «Білоруський державний медичний університет»; 2021, с. 436–40.

Наукові праці, які засвідчують апробацію дисертації

Тези в іноземних збірниках

11. **Гладких ФВ**, Чиж НА. Слета ИВ. Исследование гастропротекторной активности криоконсервированного экстракта плаценты при ибупрофен-индуцированном поражении желудка в эксперименте. *Материалы VII Республиканской научно-пактической конференция молодых ученый «Современые достижения молодых учёных в медицине – 2020»*; 2020 Листопад 27; Гродно. Гродно: Заклад освіти «Гродненський державний медичний університет»; 2020, с. 57–60.
12. **Гладких ФВ**, Чиж НА. Макроскопическая оценка влияния криокосервированного экстракта плаценты на состояние дистальных отделов желудочно-кишечного тракта на модели ибупрофен-индуцированного ульцерогенеза. *Материалы итоговой научно-практической конференции Гродненского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы медицины»*; 2021 Січень 28–29; Гродно. Гродно: Заклад освіти «Гродненський державний медичний університет»; 2021, с. 191–5.

13. **Гладких ФВ**. Моторно-эвакуаторная активность желудка на фоне введения диклофенака натрия и криконсервированного экстракта плаценты. *Материалы LXXIV Международной научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2021»*; 2021 Квітень 15–17; Мінськ. Мінськ: Заклад освіти «Білоруський державний медичний університет»; 2021, с. 172.
14. **Гладких ФВ**. Анемический синдром как индикатор противовспалительной активности диклофенака натрия и криконсервированного экстракта плаценты. *Материалы 73 научно-практической конференции студентов и молодых учёных «Актуальные вопросы современной медицины и фармации»*; 2021 Квітень 21–22; Вітебськ. Вітебськ: Вітебський державний ордена Дружби народів медичний університет; 2021, с. 726–30.
15. **Hladkykh FV**, Chyzh MO. The effect of cryoirrigation and cryopreserved placenta extract on the content of nitrogen monoxide in the gastric mucosa in rats with diclofenac sodium-induced gastropathy. *The 58-th Annual Meeting of the Society for Cryobiology «CRYO 2021»*, 21–23 July, Chicago. 2021; Chicago. USA, 2021. p. 97–8.

Тези у виданнях України

16. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Вплив диклофенаку натрію та його нарізного введення з кріоекстрактом плаценти на функціональний стан білкового обміну в слизовій оболонці шлунка на моделі ад'ювантного артриту у щурів. *Матеріали 81 міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених 81st LYSICon = 81-st Lviv Young Scientist International Conference*; 2020 Жовтень 21–23; Львів. Львів: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького; 2020, с. 166–7.
17. **Гладких ФВ**, Манченко АО. Бєлочкіна ІВ. Дослідження аналгетичної активності диклофенаку натрію на тлі застосування кріоконсервованого

екстракту плаценти у щурів з ад'ювантним артритом. *Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини»*; 2020 Листопад 20; Запоріжжя. Запоріжжя: Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України; 2020, с. 49–51.

18. **Гладких ФВ**, Бєлочкіна ІВ, Манченко АО. Онкометрична оцінка впливу кріоекстракту плаценти на протизапальну активність диклофенаку натрію при експериментальному ревматоїдному артриті. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Матеріали міжнародної конференції молодих науковців 2020 «Annual young medical scientists conference – 2020»*; 2020 Листопад 26–27; Київ. Київ: Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України; 2020, с. 9.
19. **Гладких ФВ,** Чиж МО, Бєлочкіна ІВ. Вивчення гастропротективної активності кріоконсервованого екстракту плаценти на моделі гастропатії, індукованої ацетилсаліциловою кислотою у щурів. *Матеріали міжнародної дистанційної науково-практичної конференції «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology»*; 2021 Лютий 19; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; 2021, с. 72–4.
20. **Гладких ФВ,** Чиж МО, Манченко АО. Модуляція антиоксидатнтно-прооксидантного гомеостазу у слизовій оболонці шлунка як механізм противиразкової активності кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів»*; 2021 Березня 11–12; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; 2021, с.309–11.
21. **Гладких ФВ,** Михайлова ІП, Манченко АО. Вплив диклофенаку натрію та його комбінації з кріоконсервованим екстрактом плаценти на ліпідний баланс в сироватці крові при експериментальному ревматоїдному артриті. *Матеріали XXVII Міжнародної науково-практичної конференції*

молодих вчених та студентів «Topical issues of new medicines development»; 2021 Березня 18–19; Харків. Харків: Національний фармацевтичний університет МОЗ України; 2021, с. 272–3.

22. **Гладких ФВ**, Бєлочкіна ІВ, Манченко АО. Проліферативна активність епітеліоцитів слизової оболонки шлунка на тлі застосування кріоекстракту плаценти при диклофенак натрій-індукованій гастропатії у щурів. *Матеріали 90-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині»*; 2021 Березень 25–27; Івано-Франківськ. Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України; 2021, с. 79.
23. **Гладких ФВ.** Антиноцицептивна активність кріоконсервованого екстракту плаценти та ібупрофену при їх комбінованому застосуванні в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Young science 3.0»*; 2021 Березня 26; Київ. Київ: Національний університет охорони здоров'я України ім. П. Л. Шупика МОЗ України; 2021, с. 17–8.
24. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Бєлочкіна ІВ. Макроскопічна характеристика цитопротективної дії кріоконсервованого екстракту плаценти в дистальних відділах травного тракту на моделі мелоксикам-індукованого ульцерогенезу. *Матеріали VIII Міжнародного медико-фармацевтичного конгресу «Bukovinian International Medical Congress – 2021»*; 2021 Квітень 6–9; **Чернівці**. Чернівці: Буковинський державний медичний університет МОЗ України; 2021, с. 263.
25. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Бєлочкіна ІВ. Експресія апоптичного маркеру каспази-3 у слизовій оболонці шлунка на тлі застосування диклофенаку натрію та кріоекстракту плаценти в експерименті. *Матеріали XXV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*; 2021 Квітень 12–14; Тернопіль. Тернопіль:

Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України; 2021, с. 190.

26. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Чиж МО. Вплив мелоксикаму та кріоекстракту плаценти на моторно-евакуаторну функцію шлунка у мишей. *Матеріали XVIII Наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2021»*; 2021 Квітень 15–17, Вінниця. Вінниця: Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 2021, с. 496–7.
27. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Модуляція гастротоксичності індометацину при застосуванні кріоекстракту плаценти. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю для студентів та молодих вчених «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини»*; 2021 Квітень 22–23; Одеса. Одеса: Одеський національний медичний університет МОЗ України; 2021, с. 56.
28. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Зв'язок між рівнем С-реактивного білка та антифлогістичною активністю диклофенаку натрію і кріоконсервованого екстракту плаценти в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні»*; 2021 Квітень 22–23; Харків. Харків: Державна установа «Національний інститут терапії ім. Л. Т. Малої Національної академії медичних наук України»; 2021, с. 30.
29. **Гладких ФВ**, Манченко АО, Михайлова ІП. Стан перекисного окислення ліпідів при експериментальному ревматоїдному артриті на тлі застосування диклофенаку натрію та кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали XVIII Міжнародної наукової конференції студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини»*; 2021 Квітень 22–23; Харків. Харків: Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна МОН України; 2021, с. 46–7.

30. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Режими введення і противиразкова активність кріоконсервованого екстракту плаценти при гастропатіях, індукованих нестероїдними протизапальними засобами. *Матеріали 45-ї щорічної конференції молодих вчених «Холод в біології та медицині: актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології – 2021»*; 2021 Травень 19; Харків. Харків: Інститут проблем кріобіології Національної академії наук України; 2021, с. 26.
31. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Вплив мелоксикаму та кріоконсервованого екстракту плаценти на секреторну активність шлунка в експерименті. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «42 наукові читання ім. О. О. Богомольця»*; 2021 Травень 24, Київ. Київ: Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України; 2021, с. 47–8.
32. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Інтенсивність деструктивних процесів сполучної тканини при експериментальному ревматоїдному артриті на тлі застосування кріоекстракту плаценти. *Клінічна та профілактична медицина*. 2021; 2 (16): *Матеріали науково-практичної конференції молодих вчених «Сучасні досягнення і перспективи розвитку профілактичної та клінічної медицини»)*; 2021 Травня 27; Київ. Київ: Державна наукова установа «Науково-практичний центр профілактичної та клінічної медицини» Державного управління справами; 2021, с. 100.
33. **Гладких ФВ**, Чиж МО. Секреторна активність шлунка на тлі нарізного введення диклофенаку натрію та кріоконсервованого екстракту плаценти. *Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю: «IX наукова сесія інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології»*; 2021 Червень 17–18, Дніпро. Дніпро: ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України»; *Гастроентерологія*. 2021; 2: 132–3.

Додаток Б

АПРОБАЦІЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. 81-st Lviv Young Scientist International Conference «81-st LYSICon» (**м. Львів**, Україна, 21–23 жовтня 2020 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
2. III науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (**м. Харків**, Україна, 19 листопада 2020 р.) – усна доповідь on-line;
3. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Young science 2.0» (**м. Київ**, Україна, 20 листопада 2020 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
4. XIV Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної медицини» (**м. Запоріжжя**, Україна, 20 листопада 2020 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
5. VII Республиканская научно-пактическая конференция молодых ученый «Современые достижения молодых учёных в медицине – 2020» (**м. Гродно**, Білорусь, 27 листопада 2020 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
6. Міжнародна конференція молодих науковців 2020 «Annual young medical scientists` conference – 2020» (**м. Київ**, Україна, 26–27 листопада 2020 р.) – усна доповідь on-line;
7. 55 науково-практична конференція молодих вчених «Актуальні питання гігієни праці та професійної патології» (**м. Київ**, Україна, 8 грудня 2020 р.) – усна доповідь on-line;
8. Итоговая научно-практическая конференция Гродненского государственного медицинского университета «Актуальные проблемы медицины» (**м. Гродно**, Білорусь, 28–29 січня 2021 р.) – публікація тез;

9. Міжнародна дистанційна науково-практична конференція «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology» (**м. Харків**, Україна, 19 лютого 2021 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
10. V Міжнародна дистанційна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» (**м. Харків**, Україна, 11–12 березня 2021 р.) – публікація тез;
11. XXVII Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Topical issues of new medicines development» (**м. Харків**, Україна, 18–19 березня 2021 р.) – публікація тез;
12. 90-та науково-практична конференція студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (**м. Івано-Франківськ**, Україна, 25–27 березня 2021 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
13. Сателлитная дистанционная научно-практическая конференция молодых учёных и студентов «Фундаментальная наука в современной медицине – 2021» (**м. Мінськ**, Білорусь (2021 р.) – публікація тез;
14. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Young science 3.0» (**м. Київ**, Україна, 26 березня 2021 р.) – публікація тез;
15. VIII Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес «Bukovinian International Medical Congress – 2021» (**м. Чернівці**, Україна, 6–9 квітня 2021 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
16. Науково-практична конференція з міжнародною участю для студентів та молодих вчених «Сучасні теоретичні та практичні аспекти клінічної медицини» (**м. Одеса**, Україна, 9–10 квітня 2021 р.) – публікація тез;
17. XXV Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (**м. Тернопіль**, Україна, 12–14 квітня 2021 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
18. LXXIV Международная научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2021» (**м. Мінськ**, Білорусь, 15–17 квітня 2021 р.) – публікація тез;

19. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2021» (**м. Вінниця**, 15–17 квітня 2021 р.) – публікація тез;
20. 73 научно-практическая конференция студентов и молодых учёных «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (**м. Вітебськ**, Білорусь, 21–22 квітня 2021 р.) – публікація тез;
21. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання. Неінфекційні захворювання: профілактика та зміцнення здоров'я в Україні» (**м. Харків**, Україна, 22 квітня 2021 р.) – публікація тез;
22. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих науковців та фахівців «Актуальні питання сучасної медицини» (**м. Харків**, Україна, 22–23 квітня 2021 р.) – публікація тез;
23. 45-та щорічна конференція молодих вчених «Холод в біології та медицині: актуальні питання кріобіології, трансплантології та біотехнології – 2021» (**м. Харків**, Україна, 19 травня 2021 р.) – усна доповідь on-line та публікація тез;
24. Науково-практична конференція з міжнародною участю: «42 наукові читаня ім. О. О. Богомольця» (**м. Київ**, Україна, 24 травня 2021 р.) – публікація тез;
25. Науково-практична конференція молодих вчених «Сучасні досягнення і перспективи розвитку профілактичної та клінічної медицини» (**м. Київ**, Україна, 27 травня 2021 р.) – публікація тез;
26. Науково-практична конференція з міжнародною участю: «IX наукова сесія інституту гастроентерології НАМН України. Новітні технології в теоретичній та клінічній гастроентерології» (**м. Дніпро**, Україна, 17–18 червня 2021 р.) – публікація тез;
27. 58-th Annual Meeting of the Society for Cryobiology «CRYO 2021» (**Chicago**, USA, 21–23 July, 2021) – постерна доповідь.

Додаток В

ПЕРЕЛІК РИСУНКІВ

№ з/п	Номер	Назва	Стор.
1	1.1	Каскад АК та біологічні ефекти ейкозаноїдів…….....	48
2	1.2	Скорегований відносний ризик серйозних ушкоджень верхніх відділів ШКТ при використанні НПЗЗ порівняно із незастосуванням НПЗЗ……..	53
3	1.3	Топічні та системні механізми ульцерогенної дії НПЗЗ……..	58
4	1.4	Схема патогенезу ентеропатії, індукованої НПЗЗ за Wallace J.L……	63
5	1.5	Вадове коло патогенезу НПЗЗ-ентеропатії……..	65
6	2.1	Схема дослідження антиальтеративної активності КЕП та МКС на моделі оцтовокисло-декстранових виразок шкіри у щурів…….	92
7	2.2	Дизайн дослідження впливу НПЗЗ та КЕП стан шлункової секреції (на прикладі МКС)…….	97
8	2.3	Визначення об’єму кінцівки у щурів…….	100
9	2.4	Визначення ЛПБР у щурів при термічному подразненні……..	102
10	2.5	Визначення ПБЧ у щурів при електроімпульсному подразненні……..	103
11	2.6	Визначення ПБЧ у щурів при механічному подразненні……..	105
12	2.7	Визначення інтенсивності спонтанної больової реакції у щурів……..	106
13	3.1.1	Стан СОШ при ІНД-індукованій гастропатії……....	118
14	3.1.2	Стан СОШ при ДН-індукованій гастропатії…….	124

15	3.1.3.1	Стан СОШ при МКС-індукованій гастропатії……..	135
16	3.1.3.2	Стан СО тонкої кишки (А) та товстої кишки (Б) щурів з МКС-індукованою ентеро- та колонопатією...	137
17	3.1.4.1	Стан СОШ при ІБП-індукованій гастропатії……	139
18	3.1.4.2	Стан СО тонкої кишки (А) та товстої кишки (Б) щурів з ІБП -індукованою ентер- та колонопатією…..	141
19	3.1.5	Стан СОШ при АСК-індукованій гастропатії……...	146
20	3.2.1	Вплив КЕП та ДН на проліферацийну активність епітеліоцитів СОШ щурів (індекс проліферації за Кі-67)……..	148
21	3.2.2	Слабка експресія маркеру Кі-67. Група III (АА+ДН) 28 день. ІГХ-маркування Кі-67, ×200.....	149
22	3.2.3	Виразна експресія маркеру Кі-67. Група IV (АА+ДН+КЕП) 28 день. ІГХ-маркування Кі-67, ×200.	150
23	4.1	Вплив КЕП та МКС на динаміку загоєння некротичних виразок шкіри у щурів……..	163
24	4.2.1	Вплив КЕП та ДН на динаміку карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів…….	167
25	4.2.2	Вплив КЕП та ДН на динаміку зимозан-індукованого набряку кінцівки у щурів……	173
26	4.3	Вплив КЕП та ІНД на утворення грануляційної тканини у щурів з ватною гранульомою……...	174
27	4.4	Вплив КЕП на аналгетичну активність ІБП на моделі вісцерального болю у мишей……..	176
28	5.2.1	Вплив ДН та його комбінації з КЕП на ШОЕ в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту……	185
29	5.2.2	Вплив ДН та його комбінації з КЕП на кількість лейкоцитів в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту……...	186

30 5.2.3 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень ТБК-РП в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту…… 191
31 5.2.4 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень СОД в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту…… 193
32 5.2.5 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень серомукоїду в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту……. 195
33 5.2.6 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень С-РБ в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту…… 196
34 5.2.7 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на активність ЛФ в сироватці крові у щурів з АА на 28 добу експерименту……..... 200
35 5.2.8 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст загального білка в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту…….. 205
36 5.2.9 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст РНК в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту…… 206
37 5.2.10 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на вміст ДНК в гомогенатах СОШ щурів з АА на 28 добу експерименту…… 207
38 5.3.1 Незмінена гістологічна структура СОШ щура. Група I (інтактні щури), 28 день. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200……... 209
39 5.3.2 Гістологічна структура СОШ щура з десквамованим епітелієм. Група II (АА без лікування), 28 день. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200…… 210

40 5.3.3 Гостра виразка СОШ щура з клітинним детритом. Група III (АА+ДН), 28 день. Забарвлення гематоксиліном та еозином, ×200……... 211
41 5.3.4 Виразна секреція нейтральних глікопротеїнів поверхневими епітеліоцитами СОШ щура. Група IV (АА+ДН+КЕП), 28 день. Комбінована ШИК-реакція та альціановий синій, ×200……. 212
42 5.4 Механізми реалізації гастропротективної активності КЕП на тлі ульцерогенної дії НПЗЗ……... 218

Додаток Г

ПЕРЕЛІК ТАБЛИЦЬ

№ з/п	Номер	Назва	Стор.
1	1.1	Характеристика ринку окремих НПЗЗ в Україні у 2015–2018 рр…….	47
2	1.2	Класифікація НПЗЗ за хімічною структурою……...	49
3	1.3	Класифікація НПЗЗ за селективністю до ізоформ ЦОГ……..……..	50
4	1.4	Основні побічні ефекти НПЗЗ……	52
5	1.5	Найуживаніші лікарські засоби, які застосовуються для профілактики та лікування НПЗЗ-індукованої гастроентеропатії та їх недоліки…….	67
6	1.6	Біологічно активні речовини, які містяться в кріоекстракті плаценти……	75
7	2.1	Фармацевтична характеристика досліджуваних ЛЗ та КЕП……	81
8	2.2	Фармакологічна характеристика досліджуваних НПЗЗ……..	83
9	2.3	Комплексна програма досліджень та групи експериментальних тварин…….	86
10	2.4	Режими застосування КЕП та езомепразолу на моделі НПЗЗ-ЕГЕКП……	89
11	2.5	Бальна оцінка стану СО шлунка…….	96
12	3.1.1.1	Стан СОШ на тлі ІНД-індукованої гастропатії……..…	117
13	3.1.1.2	Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ на тлі ІНД-індукованого ушкодження……..	119
14	3.1.2.1	Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СОШ на тлі ДН-індукованої гастропатії……..……	122

15	3.1.2.2	Вплив КЕП та дії низьких температур на стан проксимальних відділів ШКТ на тлі ДН-індукованої гастропатії…….	123
16	3.1.2.3	Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СО тонкої кишки на тлі ДН-індукованого ушкодження…	126
17	3.1.2.4	Вплив КЕП та дії низьких температур на стан СО товстої кишки на тлі ДН-індукованого ушкодження...	127
18	3.1.2.5	Вплив ДН та його комбінації з КЕП і дією низьких температур на біохімічні показники перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи в гомогенатах СОШ щурів…….	129
19	3.1.2.6	Вплив ДН та його комбінації з КЕП на окремі біохімічні показники гомогенатів СОШ щурів…….	131
20	3.1.3.1	Стан СОШ на тлі МКС-індукованої гастропатії……...	134
21	3.1.3.2	Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ на тлі МКС-індукованого ушкодження…….	136
22	3.1.4.1	Стан СОШ на тлі ІБП-індукованої гастропатії…….	138
23	3.1.4.2	Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ на тлі ІБП -індукованого ушкодження……..…	140
24	3.1.5.1	Стан СОШ на тлі АСК -індукованої гастропатії……..	144
25	3.1.5.2	Стан СО проксимальних та дистальних відділів ШКТ на тлі АСК-індукованого ушкодження……..	147
26	3.2	Вплив ДН та його комбінації з КЕП на експресію рецепторів каспази-3 (CPP32) в епітеліоцитах СОШ...	151
27	3.3	Вплив ДН та МКС за їх нарізного введення з КЕП на показники шлункової секреції у щурів……..	154
28	3.4	Вплив ДН та МКС за їх нарізного введення з КЕП на моторно-евакуаторну функцію шлунка у мишей…….	157
29	4.1	Вплив КЕП та МКС на динаміку площі некротичних виразок шкіри у щурів…….	162

30 4.2.1 Вплив КЕП та ДН на динаміку карагенін-індукованого набряку кінцівки у щурів……. 166
31 4.2.2 Вплив КЕП та ДН на динаміку зимозан-індукованого набряку кінцівки у щурів…… 172
32 5.1.1 Вплив КЕП та ДН на величину набряку кінцівки у щурів з АА…… 180
33 5.1.2 Вплив КЕП та ДН на ПБЧ при механічному подразненні кінцівки за Рендаллом-Селітто у щурів з АА…….. 181
34 5.1.3 Вплив КЕП та ДН на інтенсивність спонтанної больової реакції у щурів з АА…… 182
35 5.1.4 Вплив КЕП та ДН на ПБЧ при електроімпульсному подразненні у щурів з АА……... 184
36 5.2.1 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники лейкоцитарної формули периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту…….. 187
37 5.2.2 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на рівень гемоглобіну та кількість еритроцитів і тромбоцитів периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту…… 189
38 5.2.3 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на маркери цитолізу в периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту…… 198
39 5.2.4 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники білкового гомеостазу в периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту……..…… 202
40 5.2.5 Вплив ДН та його комбінації з КЕП на показники ліпідного гомеостазу в периферичної крові щурів з АА на 28 добу експерименту…….. 204

View publication stats