

ОЦІНКА ЛІКУВАЛЬНОГО ЕФЕКТУ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ ТА ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ РЕВМАТОЇДНОМУ АРТРИТІ ЗА ГЕМАТОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ

Гладких Ф.В. <https://orcid.org/0000-0001-7924-4048>

*Інститут проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України,
Державна установа «Інститут медичної радіології та онкології ім. С.П. Григор'єва
Національної академії медичних наук України», Харків, Україна*

fedir.hladkykh@gmail.com

Актуальність. Кріоконсервованій екстракт плаценти (КЕП) підвищує стійкість слизової оболонки шлунково-кишкового тракту до пошкоджуючої дії нестероїдних протизапальних засобів. Превентивне введення КЕП послаблює ульцерогенну дію мелоксикаму, ібупрофену, диклофенаку натрію (ДН) та ін. Наявні дані про власну протизапальну активність КЕП, що може вдало поєднуватись із фармакологічними властивостями нестероїдних протизапальних засобів, покращуючи при цьому їх профіль безпечності.

Ціль: охарактеризувати лікувальну активність комбінованого застосування КЕП та ДН за даними гематологічних показників на моделі експериментального ревматоїдного артрити (РА).

Матеріали та методи. Дослідження проведені на 28 нелінійних лабораторних щурах. Щурів розділили на 4 групи: I (n=7) – інтактні щури; II (n=7) – щури з експериментальним РА; III (n=7) – щури з експериментальним РА, ліковані ДН; IV (n=7) – щури з експериментальним РА, ліковані ДН та КЕП. Ад'ювантний артрит моделювали шляхом субплантарного введення повного ад'юванту Фрейнда. Лікування проводили з 14 по 28 день. КЕП вводили на 14, 17, 20, 23 та 26 дні, ДН – щоденно. Дослідження крові проводили на 28 добу експерименту.

Результати. Комбіноване застосування КЕП та ДН супроводжується більш виразним нівелюванням ознак запалення з боку гематологічних показників – швидкість зсідання еритроцитів знизилась на 72,2 % ($p < 0,001$), а кількість лейкоцитів зменшилась на 54,8 % ($p < 0,001$) відносно показників щурів з ад'ювантним артритом без лікування. Відбулося нівелювання ознак анемії хронічного запалення – рівень гемоглобіну та еритроцитів збільшився ($p < 0,001$) на 17,6 % і 36,8 %, відповідно, щодо показників щурів з ад'ювантним артритом без лікування.

Висновки. Комбіноване застосування КЕП та ДН переважає за лікувальною активністю монотерапію вказаним нестероїдним протизапальним препаратом експериментального ревматоїдного артрити.

Ключові слова: кріоконсервованій екстракт плаценти, диклофенак натрію, нестероїдні протизапальні засоби, анемія хронічного запалення.

Актуальність. У світі ревматоїдний артрит (РА) має непересічне медико-соціальне значення, оскільки за відсутності ефективного лікування призводить до швидкої інвалідизації та скорочення тривалості життя пацієнтів [1, 2]. В Україні поширеність РА становить 340 випадків на 100 тис. дорослого населення, причому хвороба вражає переважно людей працездатного віку (20-50 років), що призводить до частої і тривалої госпіталізації. Лікування хворих на РА має бути комплексним із застосуванням різних груп лікарських засобів, локальної терапії, екстракорпоральних методів терапії, а за необхідності – хірургічної корекції суглобів, медичної і соціальної реабілітації [3, 4, 5].

На сьогоднішній день в лікуванні хворих на захворювання кістково-м'язової системи та сполучної тканини, зокрема артритів – остеоартриту, спонділоартриту, РА та ін., широко застосовуються нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ). Це обумовлено унікальним поєднанням протизапального, знеболюючого, жарознижуючого та антитромботичного ефектів, які

вдало перекривають практично увесь спектр симптомів, які характерні для ревматичних захворювань.

Проте, у всіх представників НПЗЗ є суттєвий недолік, який значно знижує їх терапевтичний потенціал, – можливість розвитку «клас-специфічних» небажаних реакцій [6, 7]. Відомо, що побічні ефекти НПЗЗ здебільшого обумовлені пригніченням ізоферменту циклооксигенази (ЦОГ) першого типу, внаслідок чого порушується синтез простагландинів E₂ та I₂, що обумовлює їх ульцерогенну дію на шлунково-кишковий тракт (ШКТ), порушення клубочкової фільтрації та секреції реніну та ін. Крім того, інгібування ЦОГ-шляху метаболізму арахідонової кислоти викликає гіперактивацію ліпооксигеназного та, як наслідок, – гіперпродукцію лейкотрієнів, які здатні викликати бронхоспазм та інші реакції гіперчутливості, інгібувати синтез тромбоксану A₂ і, відповідно – викликати підвищення ризику розвитку кровотеч [8].

Оскільки переважна більшість хворих на ревматичні захворювання потребує тривалого або пожит-

тевого застосування НПЗЗ, а кількість таких хворих прогресивно зростає через тенденцію до постаріння населення, то проблема покращення профілю безпечності вказаних препаратів привертає все більшу увагу дослідників у всьому світі [9]. Найзагрозливішим з усіх небажаних реакцій НПЗЗ по праву виступає їх токсична дія на слизову оболонку ШКТ. Відомо, що застосування НПЗЗ підвищує ризик ерозивно-виразкових ушкоджень ШКТ у 2-5 рази, а ризик перфорації або кровотеч – у 8 разів [5, 6].

У якості засобу, спроможного підвищувати стійкість слизової оболонки ШКТ до пошкоджуючої дії НПЗЗ, нашу увагу привернув вітчизняний біотехнологічний засіб – кріоконсервованій екстракт плаценти (КЕП) людини, який було створено науковцями Інституту проблем кріобіології і кріомедицини Національної академії наук України (ІПКіК НАН України). Попередні дослідження показали, що превентивне введення КЕП може послаблювати ульцерогенну дію мелоксикаму та ін. [9]. В той же час в літературі наявні дані про власну протизапальну активність КЕП, що може вдало поєднуватись із фармакологічними властивостями НПЗЗ, покращуючи при тому його профіль безпечності.

Ціль: охарактеризувати лікувальну активність комбінованого застосування кріоконсервованого екстракту плаценти та диклофенаку натрію за даними гематологічних показників на моделі експериментального ревматоїдного артриту.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження *in vivo* проведені на 28 нелінійних лабораторних щурах-самцях масою 200-220 г, які утримувались в умовах віварію ІПКіК НАН України, розділених на 4 групи:

I – інтактні щури (n=7);

II група (контрольна група) – щури з експериментальним РА (n=7);

III група (n=7) – щури з експериментальним РА, ліковані диклофенаком натрію (ДН);

IV група (n=7) – щури з експериментальним РА, ліковані ДН та КЕП.

Модель хронічного імунного запалення. Для відтворення умов введення щурам НПЗЗ, відповідних їх клінічному застосуванню, нами було обрано модель експериментального РА – ад'ювантний артрит (АА) у щурів, яка має всі морфофункціональні ознаки РА та супроводжується типовою реакцією, основною ланкою якої є Т-клітинний імунітет. АА моделювали шляхом субплантарного введення повного ад'юванту Фрейнда (ПАФ) (Thermo Fisher Scientific, США) в задню праву кінцівку з розрахунку 0,1 мл на щура [10]. ПАФ вміщує вакцину БЦЖ (*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. 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.

Режим застосування і дозування досліджуваних препаратів. Лікування АА проводилось з 14 по 28 день. Препарат КЕП «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» (ДП «Міжвідомчий науковий центр кріобіології і кріомедицини», Україна), згідно інструкції, застосовується у пацієнтів парентерально в разовій дозі 1,8 мл. Відповідно разова доза для щурів становить: $(1,8 \text{ мл} / 70 \text{ кг}) \times 6,35 = 0,16 \text{ мл/кг}$ маси тіла [10, 11]. Перед застосуванням препарату «Кріоцелл-кріоекстракт плаценти» разову дозу (0,16 мл/кг) екстемпорально (*ex tempore* – за потребою) розводили у 0,9 % розчині NaCl (Дарниця, Україна) з розрахунку 0,1 мл 0,9 % NaCl / 100 г маси тіла та вводили внутрішньом'язово (в/м). 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 [12].

Диклофенак натрію (Здоров'я, Україна) вводили щоденно внутрішньошлунково (в/шл) в дозі, яка дорівнювала ЕД50 за протизапальною активністю – 8 мг/кг у вигляді емульсії на полісорбаті Twin-80 [13]. 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 [13].

На 28 добу тварин виводили з експерименту. Зразки змішаної (венозної та артеріальної) крові після декапітації тварин відбирали у пробірки з попередньо внесеним антикоагулянтом (двох-заміщеною калійною сіллю етилен-діаміно-тетраоцтової кислоти – K2 EDTA). Гематологічні дослідження проводили із визначенням наступних показників: еритроцити ($\times 10^{12}/\text{л}$), гемоглобін (г/л), тромбоцити ($\times 10^9/\text{л}$), швидкість зсідання еритроцитів (ШОЕ, мм/год.), лейкоцити ($\times 10^9/\text{л}$) з лейкоцитарною формулою (гранулоцити, лімфоцити, моноцити, %).

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», затвердженій 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 № 944 від 14 грудня 2009 р. «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». До початку експерименту щури впродовж 14 діб перебували в умовах карантину (Наказ № 755 від 12.08.1997 р. «Структура та утримання експериментальних біологічних клінік»), після чого проводилась рандомізація на групи по 7 особин в кожній із подальшим утриманням в умовах стандартного водно-харчового раціону (Наказ № 163 від 10.03.1996 р. «Про добові норми годування лабораторних тварин та продуцентів») з вільним доступом (*ad libitum*) до води та їжі [10].

Комплексну програму досліджень розглянуто та погоджено Комітетом з біоетики при ІПКіК НАН України (Протокол № 2 від 11 березня 2020 р.).

Статистична обробка результатів. Статистичну обробку одержаних результатів проведено з використанням прикладної програми для роботи з електронними таблицями «Microsoft Office Excel 2003; 2013» (Microsoft Corporation, CLIA) за допомогою розширення «Real Statistics» (<http://www.real-statistics.com/>). Оцінку характеру розподілу величин в кожній групі вибіркової сукупності проводили з використанням W-критерію Шапіро-Вілкі (*Shapiro-Wilk test*, $n < 50$). Однорідність дисперсій визначали за критерієм Левена (*Levene's test*). Для оцінки значущості виявлених відмінностей досліджуваних показників за різних умов експерименту проводили статистичний аналіз з використанням параметричних або непараметричних критеріїв.

При нормальному розподілі незалежних величин відмінності між групами визначали попарно за t-критерієм Ст'юдента. При ненормальному розподілі принаймні однієї з груп незалежних величин відмінності між ними визначали попарно за непараметричним ранговим U – критерієм Манна-Уїтні (*Mann-Whitney*).

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 % ($p \leq 0,05$) та вище 99,0 % ($p \leq 0,01$).

Цифрові дані у разі нормального розподілу величин наведені у вигляді $M \pm m$ ($M \pm SE$), де M – се-

реднє 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 (першого) квартиля (lower quartile – LQ) та нижня межа верхнього (третього) квартиля (upper quartile – UQ) [10].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

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. Ці показники становили відповідно 18,0 [15,5; 22,5] мм/год та $16,4 \pm 0,9 \times 10^9$ /л (рис. 1, 2).

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 (рис. 1, 2).

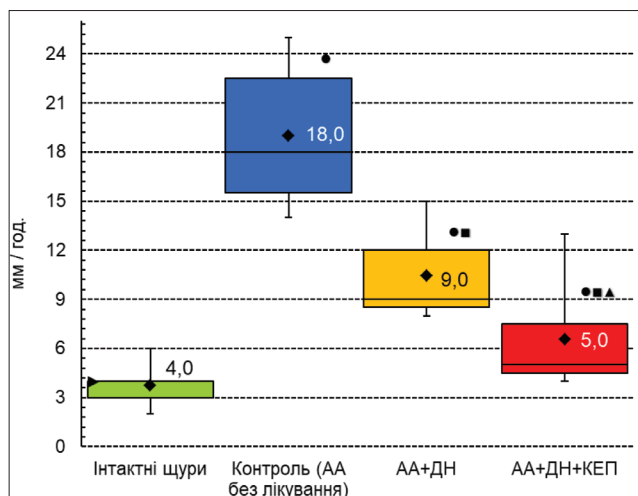


Рис. 1. Вплив ДН та його комбіації з КЕП на ШОЕ в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

Примітки. Розподіл величин ненормальний. Бокси включають результати від 25-го до 75-го перцентилію, вертикальні лінії за межами боксів – мінімальне та максимальне значення. Горизонтальна лінія всередині боксу – медіана (▶ – медіана дорівнює 25 (75) перцентилію, ♦ – середнє значення; ● – $p < 0,05$ відносно показників інтактних щурів, ■ – $p < 0,05$ відносно показників щурів з АА без лікування; ▲ – $p < 0,05$ 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 грануло-

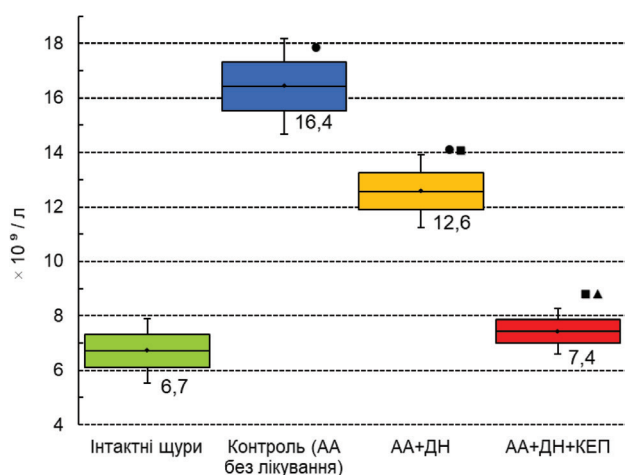


Рис. 2. Вплив ДН та його комбіації з КЕП на кількість лейкоцитів в периферичній крові у щурів з АА на 28 добу експерименту

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

цитів у 2,1 рази та пропорційне зниження кількості лімфоцитів ($p < 0,001$) в 1,6 рази відносно показників інтактних щурів. Застосування ДН та ДН з КЕП призводило до відновлення пропорційності лейкоцитарної формули – на тлі комбінованого застосування ДН з КЕП доля гранулоцитів практично співставлялась з показниками інтактних тварин та становила відповідно $24,1 \pm 1,8$ % та $21,9 \pm 0,9$ % (табл. 1).

Встановлено, що розвиток АА у щурів супроводжується статистично вірогідним ($p < 0,001$) зниженням вмісту гемоглобіну на 14,7 % щодо показників інтактних щурів, рівень гемоглобіну склав відповідно

$121,0 \pm 3,08$ г/л (табл. 2), 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 до 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 достовірно ($p < 0,001$) збільшився на 17,6 % і 36,8 %, відповідно, щодо показників щурів з АА без лікування.

Виявлені зміни узгоджуються з даним літератури, що анемія при РА вважається симптомом основного запального захворювання [14, 15]. 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 [16].

Результати ряду досліджень показали, що розвиток анемії при РА може бути пов'язаний зі здатністю прозапальних цитокінів порушувати утворення еритроцитів [16]. 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 – інтерлейкіну (ІЛ)-1 і фактора некрозу пухлини α відбувається надмірна активація сидерофагів, при якій посилюється фагоцитоз і блокується їх здатність передачі заліза в еритроблестах [14, 15, 16]. ІЛ-6 є основним індуктором синтезу гепсидину, що є негативним регулятором як вивільнення заліза з макрофагів, так і всмоктування заліза

Таблиця 1

Вплив диклофенаку натрію та його комбіації з кріоконсервованим екстрактом плаценти на показники лейкоцитарної формули периферичної крові щурів з ад'ювантним артритом на 28 добу експерименту,

Група		Показник, $M \pm m$ (95% ДІ)		
		Гранулоцити, %	Лімфоцити, %	Моноцити, %
I	Інтактні щури (n=7)	$21,9 \pm 0,91$ (95% ДІ: 20,1-23,6)	$70,6 \pm 0,72$ (95% ДІ: 69,2-72,0)	$7,6 \pm 0,65$ (95% ДІ: 6,3-8,8)
II	Контроль (АА без лікування) (n=7)	$46,4 \pm 1,04$ (95% ДІ: 44,4-48,5) $p_{1-2} < 0,001$	$43,6 \pm 1,13$ (95% ДІ: 41,4-45,8) $p_{1-2} < 0,001$	$10,0 \pm 1,41$ (95% ДІ: 7,2-12,8) $p_{1-2} = 0,14$
III	АА + ДН (n=7)	$33,4 \pm 1,80$ (95% ДІ: 29,9-37,0) $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$56,7 \pm 1,19$ (95% ДІ: 54,4-59,0) $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,001$	$9,9 \pm 2,29$ (95% ДІ: 5,4-14,4) $p_{1-3} = 0,36$ $p_{2-3} = 0,96$
IV	АА + ДН + КЕП (n=7)	$24,1 \pm 1,81$ (95% ДІ: 20,6-27,7) $p_{1-4} = 0,3$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,01$	$63,9 \pm 0,91$ (95% ДІ: 62,1-65,6) $p_{1-4} < 0,001$ $p_{2-4} < 0,001$ $p_{3-4} < 0,001$	$12,0 \pm 1,65$ (95% ДІ: 8,8-15,2) $p_{1-4} = 0,03$ $p_{2-4} = 0,38$ $p_{3-4} = 0,46$

Вплив диклофенаку натрію та його комбінації з кріоконсервованим екстрактом плаценти на рівень гемоглобіну та кількість еритроцитів і тромбоцитів периферичної крові щурів з ад'ювантним артритом на 28 добу експерименту

Група		Показник		
		Гемоглобін, г/л M±m (95% ДІ)	Еритроцити, ×10 ¹² /л Me [LQ; UQ]	Тромбоцити, ×10 ⁹ /л Me [LQ; UQ]
I	Інтактна (n=7)	141,9±2,23 (95% ДІ: 137,5-146,2)	8,0 [5,5; 9,1]	178 [175; 179]
II	Контроль (АА без лікування) (n=7)	121,0±3,08 (95% ДІ: 126,1-136,8) p ₁₋₂ < 0,001	5,7 [4,9; 6,2] p ₁₋₂ = 0,07	189 [188; 191] p ₁₋₂ < 0,001
III	АА + ДН (n=7)	131,4±2,72 (95% ДІ: 126,1-136,8) p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ = 0,03	6,8 [6,3; 7,1] p ₁₋₃ = 0,3 p ₂₋₃ = 0,01	180 [179; 182] p ₁₋₃ = 0,06 p ₂₋₃ < 0,01
IV	АА + ДН + КЕП (n=7)	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	7,8 [7,6; 8,5] p ₁₋₄ = 0,4 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,001	173 [171; 175] p ₁₋₄ = 0,048 p ₂₋₄ < 0,001 p ₃₋₄ < 0,01

в тонкій кишці. Результатом дії гепсидину є блокада заліза в клітинах системи мононуклеарних фагоцитів, гепатоцитах та ентероцитах, порушення передачі заліза трансферину і швидкий розвиток гіпоферремії. Таким чином, проблема хронічного запалення – це надпродукція гепсидину, який порушує нормальний метаболізм заліза, що в кінцевому підсумку призводить до розвитку анемії [15, 16].

ВИСНОВКИ

Комбіноване застосування кріоконсервованого екстракту плаценти та диклофенаку натрію супроводжується більш виразним нівелюванням ознак запалення з боку гематологічних показників – швидкість зсідання еритроцитів знизилась на 72,2 % (p<0,001), а кількість лейкоцитів зменшилась на 54,8 % (p<0,001) відносно показників щурів з ад'ювантним артритом без лікування. Відбулося нівелювання ознак анемії хронічного запалення – рівень гемоглобіну та еритроцитів збільшився (p<0,001) на 17,6 % і 36,8 %, відповідно, щодо показників щурів з ад'ювантним артритом без лікування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами і темами. Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи відділу експериментальної кріомедицини ІПКіК НАН України «Деструктивні та відновні процеси в тканинах *in vivo* після дії низьких температур та біологічно активних речовин» (№ 2.2.6.113, шифр 2.2.6.113, номер державної реєстрації 0117U001049, термін виконання: 2017-2021 рр.

Конфлікт інтересів. Автор рукопису свідомо за-свідчує відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи з фармацевтичними компаніями, виробниками біомедичних пристроїв, іншими організаціями, чиї

продукти, послуги, фінансова підтримка можуть бути пов'язані з предметом наданих матеріалів або які спонсорували проведені дослідження.

Інформація про фінансування. Фінансування видатками Державного бюджету України.

REFERENCES

- Anikin GS, Stozhkova IV, Kukes VG. NSAIDs: safety from the point of evidence-based medicine. *Consilium Medicum*. 2017; 19: 28-32. [in Ukrainian] DOI: 10.26442/2075-1753_19.7.2.28-32
View at: Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/nesteroidnye-protivovospalitelnye-preparaty-bezopasnost-s-pozitsii-dokazatelnoy-meditsiny>
URL: <https://omnidocor.ru/upload/iblock/8d2/8d2f-96c2485deaf5dc49676a474b6b90.pdf>
- Wasserman A. Rheumatoid Arthritis: Common Questions About Diagnosis and Management. *American Family Physician*. 2018;97(7):455-62.
View at: Publisher Site: <https://familydoctor.org/condition/rheumatoid-arthritis/>
Semanticscholar: <https://www.semanticscholar.org/paper/Rheumatoid-Arthritis%3A-Common-Questions-About-and-Wasserman/ad88a50ea1281388fc02bad089055e2f142657e3>
- Woude D, Helm-van Mil HM. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2018; 32 (2): 174-87. DOI: 10.1016/j.berh.2018.10.005.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521694218300688?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30527425/>
- Otón T, Carmona L. The epidemiology of established rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical*

- Rheumatology. 2019; 33 (5): 101477. DOI: 10.1016/j.berh.2019.101477.
View at: Scopus: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521694219301731?via%3Dihub>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31987685/>
5. Ghosh N, Kolade OO, Shontz E, Rosenthal Y, Zuckerman JD, Bosco JA 3rd, Virk MS. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) and Their Effect on Musculoskeletal Soft-Tissue Healing: A Scoping Review. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. 2019; 7 (12): e4. DOI: 10.2106/JBJS.RVW.19.00055.
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/jbjsreviews/Abstract/2019/12000/Nonsteroidal_Anti_Inflammatory_Drugs_NSAIDs_and.2.aspx https://journals.lww.com/jbjsreviews/Abstract/2019/12000/Nonsteroidal_Anti_Inflammatory_Drugs_NSAIDs_and.2.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31851037/>
 6. Cunningham K, Candelario DM, Angelo LB. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Updates on Dosage Formulations and Adverse Effects. *Orthopaedic Nursing*. 2020; 39 (6):408-13. DOI: 10.1097/NOR.0000000000000713.
View at: Publisher Site: https://journals.lww.com/orthopaedicnursing/Abstract/2020/11000/Nonsteroidal_Anti_Inflammatory_Drugs_Updates_on.12.aspx
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33234913/>
 7. Satybaldyev AM, Karateev AE. What is safer for the gastrointestinal-tract: Coxibs or meloxicam? *Modern Rheumatology*. 2017; 11 (1): 72-8. [in Russian]. DOI: 10.14412/1996-7012-2017-1-72-78.
View at: Publisher Site: <https://mrj.ima-press.net/mrj/article/view/742>
Cyberleninka: <https://cyberleninka.ru/article/n/chto-bezopasnee-dlya-zheludochno-kishechno-trakta-koksiby-ili-meloksikam>
 8. Bacchi S, Palumbo P, Sponta A, Coppolino MF. Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry*. 2012; 11 (1): 52-64. DOI: 10.2174/187152312803476255.
View at: Publisher Site: <https://www.eurekaselect.com/102932/article>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22934743/>
 9. Hladkykh FV, Chyzh MO. Modulation of meloxicam-induced changes in gastrointestinal and motor activity of the stomach by applying placenta cryoextract. *Proceedings of the Shevchenko Scientific Society. Medical Sciences*. 2021; 64 (1): 84-94. DOI: 10.25040/ntsh2021.01.08.
View at: Publisher Site: <https://mspss.org.ua/index.php/journal/article/view/400>
 10. Stefanov OV. Preclinical studies of drugs: guidelines. Kyiv: Avicenna; 2001. 527 p. [in Ukrainian].
View at: Publisher Site: <https://www.twirpx.com/file/537410/>
 11. Rybolovlev UR, Rybolovlev RS. Dosage of substances for mammals by constants of biological activity. *Reports of the USSR Academy of Sciences*. 1979; 247 (6): 1513-6. [in Russian].
 12. Goltsev AN, ed. *Placenta: cryopreservation, clinical use*. Kharkiv, 2013. 268 p. [in Russian].
View at: URL: <http://elib.umsa.edu.ua/jspui/bitstream/umsa/3692/3/kniga.pdf>
 13. Karateev AE, Nasonov EL, Ivashkin VT, Martynov AI, Yakhno NN, Arutyunov GP, Alekseeva LI, Abuzarova GR, Evseev MA, Kukushkin ML, Kopenkin SS, Lila AM, Lapina TL, Novikova DS, Popkova TV, Rebrov AP, Skorobogatykh KV, Chichasova NV. Rational use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Clinical guideline. Rheumatology Science and Practice*. 2018; 56: 1-29. [in Russian]. DOI: 10.14412/1995-4484-2018-1-29.
View at: Publisher Site: <https://rsp.mediar-press.net/rsp/article/view/2536>
 14. 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: 10.1080/08820139.2020.1742731.
View at: Publisher Site: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/08820139.2020.1742731?journalCode=iimm20>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32216485/>
 15. 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: 10.1038/s41598-020-66945-3.
View at: Publisher Site: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-66945-3>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3255299/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7303107/>
 16. 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: 10.5152/eurjrheum.2018.18114.
View at: Publisher Site: <https://eurjrheumatol.org/en/serum-hepcidin-level-and-rheumatoid-arthritis-disease-activity-133197>
PubMed: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31365340/>
PubMed Central: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6467328/>

Article history

Received: 21.07.2021

Revision requested: 12.08.2021

Revision received: 10.09.2021

Accepted: 24.09.2021

Published: 30.09.2021

ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ЭФФЕКТА КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО ЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ И ДИКЛОФЕНАКА НАТРИЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ ПО ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

Гладких Ф.В.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины Национальной академии наук Украины,
Государственное учреждение «Институт медицинской радиологии и онкологии им. С.П. Григорьева
Национальной академии медицинских наук Украины», Харьков, Украина*

fedir.hladkykh@gmail.com

Актуальность. Криоконсервированный экстракт плаценты (КЭП) повышает устойчивость слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта к повреждающему действию нестероидных противовоспалительных средств. Превентивное введение КЭП ослабляет ulcerогенное действие мелоксикама, ибупрофена, диклофенака натрия (ДН) и др. Есть данные о собственной противовоспалительной активности КЭП, что может удачно сочетаться с фармакологическими свойствами нестероидных противовоспалительных средств, улучшая при этом их профиль безопасности.

Цель: охарактеризовать лечебную активность комбинированного применения КЭП и ДН по данным гематологических показателей на модели экспериментального ревматоидного артрита (РА).

Материалы и методы. Исследования проведены на 28 нелинейных лабораторных крысах. Крыс разделили на 4 группы: I (n = 7) – интактные крысы; II (n = 7) – крысы с экспериментальным РА; III (n = 7) – крысы с экспериментальным РА, леченые ДН; IV (n = 7) – крысы с экспериментальным РА, леченые ДН и КЭП. Адьювантный артрит моделировали путем субплантарного введения полного адьюванта Фрейнда. Лечение проводили с 14 по 28 день. КЭП вводили в 14, 17, 20, 23 и 26 дни, ДН – ежедневно. Исследование крови проводили на 28 сутки эксперимента.

Результаты. Комбинированное применение КЭП и ДН сопровождается более выразительным нивелированием признаков воспаления со стороны гематологических показателей – скорость оседания эритроцитов снизилась на 72,2 % (p<0,001), а количество лейкоцитов уменьшилось на 54,8 % (p<0,001) относительно показателей крыс с адьювантным артритом без лечения. Произошло нивелирование признаков анемии хронического воспаления – уровень гемоглобина и эритроцитов увеличился (p<0,001) на 17,6% и 36,8%, соответственно, относительно показателей крыс с адьювантным артритом без лечения.

Выводы. Комбинированное применение КЭП и ДН превосходит по лечебной эффективности монотерапию указанным нестероидным противовоспалительным препаратом экспериментального ревматоидного артрита.

Ключевые слова: криоконсервированный экстракт плаценты, диклофенак натрия, НПВП, анемия хронического воспаления

EVALUATION OF THE THERAPEUTIC EFFECT OF THE COMBINED USE OF CRYOPRESERVED PLACENTA EXTRACT AND DICLOFENAC SODIUM IN EXPERIMENTAL RHEUMATOID ARTHRITIS BY HEMATOLOGICAL PARAMETERS

Hladkykh F. V.

*Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine,
State of Organization «Grigoriev Institute of Medical Radiology and Oncology of the National Academy
of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, Ukraine*

fedir.hladkykh@gmail.com

Relevance. Cryopreserved placenta extract (CPE) increase the resistance of the mucous membrane of the gastrointestinal tract to the damaging effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Preventive administration of CPE can reduce the ulcerogenic effect of meloxicam, ibuprofen, diclofenac sodium (DS) and others. There is evidence of CPE's own anti-inflammatory activity, which can be successfully combined with the pharmacological properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, while improving their safety profile.

Objective: to characterize the therapeutic activity of the combined use of CPE and DS according to hematological parameters in the model of experimental rheumatoid arthritis (RA).

Materials and methods. Studies were performed on 28 nonlinear laboratory rats. The rats were divided into 4 groups: I (n = 7) – intact rats; II (n = 7) – rats with experimental RA; III (n = 7) – rats with experimental RA, treated with DN; IV (n = 7) – rats with experimental RA, treated with DN and CPE. Adjuvant arthritis was modeled by subplantar administration of complete Freund's adjuvant. Treatment was performed from 14 to 28 days. CPE was administered on days 14, 17, 20, 23 and 26, and DS – daily. Blood tests were performed on day 28 of the experiment.

Results. The combined use of CPE and DS is accompanied by a more pronounced leveling of inflammatory signs by hematological parameters – erythrocyte clotting rate decreased by 72.2% (p<0.001), and the number of leukocytes decreased by 54.81% (p<0.001) relative to rats with adjuvant arthritis without treatment. There was a leveling of signs of anemia of chronic inflammation – the level of hemoglobin and erythrocytes increased (p<0,001) by 17.6% and 36.8%, respectively, relative to rats with adjuvant arthritis without treatment.

Conclusions. The combined use of CPE and DS is superior in therapeutic activity to monotherapy with this nonsteroidal anti-inflammatory drug of experimental rheumatoid arthritis.

Keywords: cryopreserved placenta extract, diclofenac sodium, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, chronic inflammatory anemia