

СПІВЗАСНОВНИКИ

Національна академія медичних наук України •
Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України» •
Державне підприємство «Державний експертний центр
Міністерства охорони здоров'я України» •
Всеукраїнська громадська організація «Асоціація фармакологів України»

ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ЛІКАРСЬКА ТОКСИКОЛОГІЯ PHARMACOLOGY AND DRUG TOXICOLOGY

Науково-практичне видання

Журнал заснований у серпні 2007 р.

Виходить 1 раз на 2 місяці

Том 13, № 2/2019

ISSN 2524-2563 (Online)

ISSN 2227-7943 (Print)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Т. А. Бухтіарова (головний редактор)

Г. С. Григор'єва (заст. головного редактора)

А. І. Соловйов (заст. головного редактора,
науковий редактор)

Л. Б. Бондаренко
(м. Київ)

І. Ф. Беленічев
(м. Запоріжжя)

Н. О. Ветютнева
(м. Київ)

Г. М. Войтенко
(м. Київ)

В. В. Годован
(м. Одеса)

М. Я. Головенко
(м. Одеса)

А. М. Демченко
(м. Київ)

І. А. Зупанець
(м. Харків)

Т. К. Єфімцева
(м. Київ)

В. М. Коваленко
(м. Київ)

О. Ю. Коновалова
(м. Київ)

О. І. Коняєва
(м. Київ)

І. Г. Кудрявцева
(м. Київ)

О. В. Матвєєва
(м. Київ)

Н. В. Літвінова (науковий редактор)

С. О. Мисливець (відповідальний секретар)

В. І. Опришко
(м. Дніпропетровськ)

Г. І. Парамонова
(м. Київ)

С. Б. Парій
(м. Кишинів, Молдова)

О. М. Пархоменко
(м. Київ)

К. А. Посохова
(м. Тернопіль)

Н. М. Серединська
(м. Київ)

С. М. Тишкін
(м. Київ)

О. О. Цуркан
(м. Київ)

Н. І. Шарикіна
(м. Київ)

Л. М. Шеремета
(м. Івано-Франківськ)

О. К. Ярош
(м. Київ)

РЕДАКЦІЙНА РАДА

Ю. І. Губський
(м. Київ)

В. Й. Кресюн
(м. Одеса)

В. Д. Лук'янчук
(м. Луганськ)

В. Й. Мамчур
(м. Дніпропетровськ)

М. А. Мохорт
(м. Київ)

О. Р. Піняжко
(м. Львів)

Г. І. Степанюк
(м. Вінниця)

І. М. Трахтенберг
(м. Київ)

І. С. Чекман
(м. Київ)

Журнал зареєстрований Державною реєстраційною службою України

Свідцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації

Серія KB № 19717-9517ПП від 25.02.2013

Журнал зареєстрований у серпні 2007 року (свідцтво Серія KB № 13093-1977Р від 23.08.2007 Міністерства юстиції України)

Журнал включено до Переліку наукових фахових видань України (біологічні, медичні, фармацевтичні науки)

Наказ Міністерства освіти і науки України від 04.07.2014 р. № 793

Журнал № 2 (63)/2019 рекомендований до друку вченою радою ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (протокол від 16.04.2019 р. № 2)

Видавець ТОВ «Видавничий дім «Авіцена» – Свідцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавців, виготовників і розповсюджувачів видавничої продукції ДК № 2726 від 18.12.06.

Формат 70×108 1/16. Папір офсетний № 1. Ум. друк. арк. 6,65. Наклад 200 прим. Зам. № 29

Адреса редакції: ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, 03057, м. Київ.

Тел.: + 38 0 44 456-42-56, 456-40-22. Електронна пошта: ift.regedit@gmail.com

ЗМІСТ

ОГЛЯДИ

Серединська Н. М., Мохорт М. А., Хоменко В. С., Марченко-Толста К. С., Киричок Л. М., Марченко О. М. Моделювання артеріальної гіпертензії шляхом тривалого сольового навантаження. Моніторинг функціонування серцево-судинної системи та динаміки інтегральних показників життєдіяльності в щурів (частина I) 83

СУЧАСНІ АСПЕКТИ НЕЙРОФАРМАКОЛОГІЇ

Свіргун І. С., Мухаммед Адаб, Кошелєв О. С., Дроздов О. Л. Вплив лецитинів на поведінку тварин за умов інтоксикаційного стресу 93

У НАУКОВИХ ЛАБОРАТОРІЯХ

Носівець Д. С. Вплив нестероїдних протизапальних засобів на руховий, дослідницький та емоційний статус щурів у тесті «відкрите поле» за умов експериментального гіпотиреозу й остеоартрозу 98

Онищук Л. В. Вплив вагінальних супозиторіїв з протизапальною та протимікробною активністю на функціональні показники лейкоцитів крові щурів за умов експериментального вагініту 105

Серединська Н. М., Суворова О. С., Марченко-Толста К. С. Порівняльна оцінка протизапальної активності німесулідів та целекоксибу на фоні експериментального ревматоїдного артриту 114

Shevchuk O. O., Datsko T. V., Posokhova K. A., Nikolaev V. G. Histological findings at application of newly designed granular carbon enterosorbent under subchronic doxorubicin toxicity in rats 119

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

Зайченко Г. В., Стахорська М. О. Дослідження токсикологічних властивостей ректального крему комбінованого складу для лікування проктологічної патології 131

Набока Ю. М., Зубицька Н. П., Зупанець І. А., Шебеко С. К., Отрішко І. А. Дослідження хронічної токсичності препарату «Артритан»: вплив на функціональний стан і лабораторні показники щурів 139

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ ДОСЛІДНИКІВ

Непролиферативные и пролиферативные поражения женской репродуктивной системы крыс и мышей 146

СОДЕРЖАНИЕ 155

CONTENT 156

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ

Серединская Н. Н., Мохорт Н. А., Хоменко В. С., Марченко-Толстая Е. С., Киричок Л. М., Марченко О. Н. Моделирование артериальной гипертензии путем длительной солевой нагрузки. Мониторинг функционирования сердечно-сосудистой системы и динамики интегральных показателей жизнедеятельности у крыс (часть I) 83

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИИ

Свиргун И. С., Мухаммед Адаб, Кошелев О. С., Дроздов А. Л. Влияние лецитинов на поведение животных в условиях интоксикационного стресса 93

В НАУЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЯХ

Носивец Д. С. Влияние нестероидных противовоспалительных средств на двигательный, исследовательский и эмоциональный статус крыс в тесте «открытое поле» в условиях экспериментального гипотиреоза и остеоартроза 98

Онищук Л. В. Влияние вагинальных суппозиторий с противовоспалительной и противомикробной активностью на функциональные показатели лейкоцитов крови крыс в условиях экспериментального вагинита 105

Серединская Н. Н., Суворова А. С., Марченко-Толстая К. С. Сравнительная оценка противовоспалительной активности нимесулида и целекоксиба на фоне экспериментального ревматоидного артрита 114

Шевчук О. О., Дацко Т. В., Посохова Е. А., Николаев В. Г. Морфологические изменения при использовании гранулированного углеродного энтеросорбента на модели субхронической доксорубициновой токсичности у крыс 119

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТОКСИКОЛОГИИ

Зайченко А. В., Стахорская М. А. Исследование токсикологических свойств ректального крема комбинированного состава для лечения проктологической патологии 131

Набока Ю. М., Зубицкая Н. П., Зупанец И. А., Шебеко С. К., Отришко И. А. Исследование хронической токсичности препарата «Артритан»: влияние на функциональное состояние и лабораторные показатели крыс 139

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ

Непролиферативные и пролиферативные поражения женской репродуктивной системы крыс и мышей 146

CONTENT 156

CONTENT

REVIEWS

Seredinska N. M., Mokhort M. A., Khomenko V. S., Marchenko-Tolsta K. S., Kirichok L. M., Marchenko O. M. Modeling of arterial hypertension by prolonged salt loading. Monitoring of the functioning of the cardiovascular system and the dynamics of integral vital signs in rats (Part I) 83

CONTEMPORARY ASPECTS OF NEUROPHARMACOLOGY

Svirgun I. S., Mohammed Adab, Koshelev O. S., Drozdov A. L. The effect of lecithins on the behavior of animals under intoxication stress 93

IN SCIENTIFIC LABORATORIES

Nosivets D. S. An influence of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the motor, research and emotional status of rats in the open field test under experimental hypothyroidism and osteoarthritis 98

Onyshchuk L. V. The influence of vaginal suppositories with anti-inflammatory and anti-microbial activity on the functional parameters of blood leukocytes under experimental vaginitis..... 105

Seredinska N. M., Suvorova A. S., Marchenko-Tolsta K. S. Comparative study of anti-inflammatory activity of nimesulide and celecoxib at experimental rheumatoid arthritis..... 114

Shevchuk O. O., Datsko T. V., Posokhova K. A., Nikolaev V. G. Histological findings at application of newly designed granular carbon enterosorbent under subchronic doxorubicin toxicity in rats..... 119

CURRENT ISSUES OF DRUG TOXICOLOGY

Zaichenko G. V., Stakhorska M. O. Research of the toxicological properties of the rectal cream of the combined composition for the treatment of proctologic pathology..... 131

Naboka Yu. M., Zubitska N. P., Zupanets I. A., Shebeko S. K., Otrishko I. A. Study of the chronic toxicity of the drug «Arthritan»: effect on the functional state and laboratory parameters in rats..... 139

INFORMATION FOR RESEARCHERS 146

Н. М. Серединська¹, М. А. Мохорт¹, В. С. Хоменко¹,
К. С. Марченко-Толста², Л. М. Киричок¹, О. М. Марченко¹

Моделювання артеріальної гіпертензії шляхом тривалого сольового навантаження. Моніторинг функціонування серцево-судинної системи та динаміки інтегральних показників життєдіяльності в щурів (частина I)

¹Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

²Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет»

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, моделі, сольове навантаження, серцево-судинна система, інтегральні показники

Вважають, що жодна нозологічна форма не має стільки моделей, скільки артеріальна гіпертензія (АГ). За експериментальних досліджень АГ моделюють різними способами на різних видах тварин: миші, щури, кролі, коти, собаки, свині, мавпи [1, 2]. Важливим питанням для вибору моделі АГ є можливість екстраполяції отриманих в експерименті даних на організм людини. Розроблені моделі АГ не є аналогічними до гіпертензії в людини, однак вони є зручними для дослідження процесів дестабілізації артеріального тиску (АТ). Від адекватності обраної моделі АГ залежить формування уявлень щодо механізму розвитку патологічного процесу, механізму реалізації фармакологічної дії хімічних речовин, фармакодинаміки та механізму токсичної дії лікарських засобів.

Розроблені та впроваджені в практику досліджень експериментальні моделі АГ застосовуються з метою вивчення патогенезу захворювання, з'ясування причин його виникнення. Вимоги медицини сьогодення обґрунтовують необхідність застосування експериментальних моделей АГ, придатних для дослідження ефективності лікарських засобів, зокрема, їхньої гіпотензивної активності, безпечності тощо. Кожна окрема модель АГ базується на знаннях

щодо етіологічного фактора захворювання або головної ланки патогенезу відповідного виду АГ. Тому доречно нагадати, що численні етіологічні екзогенні (тривале психоемоційне збудження, травма головного мозку, ураження депресорних судинних зон тощо) та ендогенні (гормонозалежні пухлини наднирників, гіпофізу, метаболічні порушення, ревматичні захворювання тощо) фактори можуть призводити до розвитку АГ [1–3].

Основними видами АГ вважають есенційну (первинну, власне гіпертонічну хворобу) та симптоматичну (вторинну). Етіологія есенційної АГ досі невідома, однак наукова думка сьогодення засвідчує, що вона (АГ) зумовлена генетичними дефектами, що ускладнюються (або активуються) впливом факторів навколишнього середовища, харчуванням, шкідливими звичками тощо [4–6]. Первинну гіпертензію фіксують у 90 % пацієнтів з підвищеним АТ. Серед симптоматичних виділяють нейрогенну, ендокринопатичну, ангіогенну, застійну, гемодинамічну, лікарську АГ [2, 3, 5, 7].

Зрозуміло, що дана градація АГ є умовною через те, що, наприклад, гемодинамічні порушення можуть бути пов'язані як з патологією серцево-судинної системи, так і з захворюванням нирок, а гіпертензія, зумовлена ураженням мозкових або ниркових артерій, може бути віднесена як до гемодинамічних, так і до ангіогенних.

Водночас зазначена класифікація АГ створює основу для розробки методичного підходу до встановлення причин захворювання, з'ясування механізмів його розвитку, а також для розробки та застосування схем фармакологічної корекції та вибору відповідних засобів терапії.

Найближчими до гіпертонічної хвороби в людини є нейрогенні моделі АГ. Саме вони є експериментальним обґрунтуванням нейрогенної теорії гіпертонічної хвороби, що сформульована Г. Ф. Лангом і А. Л. М'ясниковим (1950 р., 1954 р.) на основі клінічних спостережень й експериментальних робіт школи І. П. Павлова. Так, АГ моделюється за порушення функції нервової системи («зіткнення» процесів умовного збудження та гальмування, що призводить до розвитку неврозу (собаки, мавпи); формування психоемоційного розладу в разі створення зоосоціального конфлікту (мавпи), іммобілізації тварин; електрична або хімічна стимуляція лімбічних структур головного мозку. По-суті, це моделі, що відтворюють у тварин негативні емоції, перенапругу нервової діяльності, що супроводжується розвитком складних рефлексів, перебудовою ситуаційних стереотипів, зміною біологічних ритмів, інстинктів тощо. На нашу думку, такі моделі АГ можуть бути придатними, зокрема, для вивчення ноотропної та гіпотензивної активності ліків на тлі розладів у функціонуванні центральної нервової системи, що супроводжуються АГ.

У тварин АГ може виникати за порушення мозкового кровообігу або лімфовідтоку (перев'язка сонних або хребетних артерій і введення каоліну у велику цистерну мозку відповідно). Таку АГ іноді називають центрогенною. Вочевидь, дані моделі АГ можуть відтворюватися, зокрема, для пошуку лікарських засобів з гіпотензивною дією, що проявлятиметься на фоні гострого чи хронічного порушення мозкового кровообігу та лімфовідтоку.

За порушення функції депресорних регуляторних систем також розвивається АГ. Це відбувається, наприклад, за пригнічення синтезу проста-

гландинів, що досягається введенням нестероїдних протизапальних препаратів (індометацинова модель). Для пошуку та розробки нових лікарських засобів, на наше переконання, застосування будь-яких ліків з метою моделювання АГ є недоцільним через можливість фармакодинамічної, фармакокінетичної або токсикокінетичної взаємодії.

Рефлексогенна гіпертензія розвивається за перерізання депресорних і синусних нервів (кролі, собаки) або в разі накладання навкруги каротидних синусів пластмасових чи металевих футлярів, що усуває гальмівні процеси від барорецепторів дуги аорти та каротидного синуса. Така модель АГ характеризується повільним зростанням АТ (максимуму цей показник досягає через 2–3 тижні, коли значення перевищують вихідні на (40–60) % у кролів та на (60–70) % у собак, але значення тиску утримуються впродовж 1–2 років (Н. Н. Горев, 1959 р.). Водночас коливання АТ надзвичайно великі в різних тварин та в різні періоди доби: наприклад, під час сну АТ нормалізується. Частота серцевих скорочень (ЧСС) і хвилинний об'єм крові за такого моделювання АГ значно підвищені. Зазначені аспекти такої моделі АГ, зрозуміло, утруднюють випробування гіпотензивної активності потенційних чи існуючих ліків.

Широко застосовуються в експериментальній медицині моделі АГ, що викликані порушенням у функціонуванні нирок. Такі порушення досягаються шляхом перев'язки обох ниркових артерій або однієї артерії та одночасного видалення контрлатеральної нирки, шляхом видалення обох нирок і надалі застосування гемодіалізу, шляхом обгортання нирок целофаном. За таких умов АГ є стабільною, водночас, вона розвивається в різні терміни (від декількох днів до декількох місяців). Вважають, що виникнення АГ через порушення функціонування нирок зумовлено активацією ренін-ангіотензивної системи. Іноді використовують модель АГ, що досягається шляхом звуження абдомінальної частини аорти над розгалуженням ниркових артерій. Вона називається коарктаційною та пов'язана з гемодинамічними

змінами, зменшенням кровозабезпечення нирок. Такі моделі АГ, вочевидь, зручно використовувати для дослідження ефективності гіпотензивних засобів на тлі нефропатології, що призводить до розвитку гіпертензії.

За порушення гормонального статусу, що моделюється введенням адреналіну, вазопресину, дезоксикортикостерону, видаленням кори наднирників, також розвивається АГ. Порушення гормонального статусу вже є патологічним станом. Тому вважаємо, що дослідження гіпотензивної активності ліків за моделювання зазначеними засобами може бути обґрунтованим як таке, що відбувається на тлі коморбідного стану з урахуванням можливої фармакодинамічної чи фармакокінетичної взаємодії з зазначеними вище речовинами.

Відомі наукові праці щодо розробки нових моделей АГ, спричиненої, наприклад, харчуванням тварин з певним дисбалансом мікроелементів та їхнього співвідношення з йодом [8]. Дану модель автори назвали біогеохімічною. Вона є неінвазивною, не викликає загибелі тварин, мало травматична. Така модель відтворюється введенням в організм нелінійних тварин (щери) хімічних агентів – макро- та мікроелементів, що впливають на вміст біологічно активних сполук, за умов використання у водно-харчовому раціоні тварин води та кормів, узятих з субрегіону мешкання населення, що є неблагополучним відносно АГ. На нашу думку, відповідний склад агентів, що можуть викликати АГ, підбирати потрібно з урахуванням захворюваності населення та, що найважливіше, за умов доведеного негативного впливу на людину саме тих хімічних агентів, що будуть включені до відповідного раціону щурів.

Запропоновано модель кардіовазеральної АГ, що зумовлена багаторакторним впливом [9]. Вона досягається шляхом призначення кардіовазонефропатогенної напівсинтетичної дієти, збагаченої холестерином, солями двозаміщеного фосфорнокислого водного натрію, з дефіцитом калію та магнію, за щоденних внутрішньом'язових ін'єкцій суспензії гідрокортизону аце-

тату та одночасною заміною питної води на 1 % розчин натрію хлориду з наступним (через 2 тижні) холодним впливом (4 год за температури 4 °С). Таким чином, у моделі кардіовазеральної АГ ініціюються механізми, зумовлені дизелектролітемією, дизліпідемією, нефрокальцинозом. Показники АТ зберігаються на високому рівні впродовж 5 місяців, що обґрунтовує можливість проведення хронічних експериментів як для оцінки ступеня порушення функціонування серцево-судинної системи, так і для пошуку ефективних фармакотерапевтичних засобів корекції АГ. Це позитивні характеристики моделі. Водночас, хоча модель відтворюється на найдоступнішому виді тварин (щери) за відсутності їхньої смертності, комплексно діє на циркуляторний гомеостаз, вона вимагає щоденних ін'єкцій, додаткового стресу (холодового), суттєво, вочевидь, змінює метаболізм у тварин. Особливістю даної моделі, як і деяких інших, про які йтиметься нижче, є патогенетичний (базовий) фактор розвитку АГ: сольове навантаження.

Останніми роками дослідники часто застосовують модель АГ, що розвивається внаслідок ендотеліальної дисфункції у разі застосування неселективного блокатора NO-синтази N-нітро-L-аргінін-метилового ефіру (L-NAME). Даний агент застосовують, власне, для моделювання ендотеліальної дисфункції та вивчення ролі NO у реалізації фізіологічних функцій, у тому числі регуляції АТ. Водночас він звужує регіональні артерії, знижує нирковий кровотік, швидкість клубочкової фільтрації та підвищує АТ, суттєве зростання якого реєструється на 8 добу після щоденного семиразового введення. Тому дана модель використовується, зокрема, у разі дослідження відносно короткочасної гіпотензивної дії фізіологічно активних речовин і препаратів [10–13] і для доведення відповідного механізму їхньої дії. Як інгібітори різних форм NO-синтази можуть використовуватися й інші похідні L-аргініну, аміногуанідин тощо.

Першочергово були розроблені та використовувалися дослідниками моделі

симптоматичних гіпертензій. Лише в другій половині XX сторіччя з'явилися лінії тварин з генетично зумовленою гіпертензією без попередніх захворювань (лінія щурів SHR, зокрема), що, певною мірою, позначилося на розумінні патогенезу, зокрема, есенційної гіпертензії [14]. В основному такі моделі відтворені на щурах, в яких АГ передається спадково. Це щури зі спонтанною гіпертензією, щури новозеландські, міланські, щури, що мають схильність до інсультів, щури, чутливі та нечутливі до сольової дієти, щури лінії НІСАГ (спадкова, індукована стресом гіпертензія) та ін. Були підтверджені основні патогенетичні ознаки АГ у спонтанно-гіпертензивних щурів SHR лінії – більш високі рівні АТ і ЧСС, а також визначені деякі механізми, завдяки яким успадковується високий рівень АТ: підвищений симпатичний тонус серця та судин, знижена барорефлексорна активність, участь Y-хромосоми та мітохондріальної ДНК, порушена функція від 1 до 6 генів, що беруть участь у регуляції АТ, знижена кількість ниркових клубочків, посилення синтезу вазоконстрикторів – простагландину H2 і тромбоксану A2 [15, 16]. Можливість фармакологічної корекції АТ у щурів лінії SHR дозволили рекомендувати використання даної моделі есенційної АГ для вивчення її патогенезу, для дослідження лікарських засобів з гіпотензивною активністю та розробки нових підходів до лікування гіпертонії.

Перевагами генетично детермінованих моделей АГ є стабільність підвищеного АТ і тривалість гіпертензії, у цьому разі тварини не потребують жодних оперативних втручань або спеціальної дієти, як цього вимагає формування АГ, фактично, будь-яким з зазначених вище способів. Водночас їхнім недоліком є вартість тварин генетично детермінованих ліній. Фактично, різні варіанти генетично детермінованої АГ базуються на схильності певних ліній тварин до інсультів, ліпідозу судин мозку, порушення синтезу простагландинів, гіперчутливості адренергічних структур до катехоламінів, гіперчутливості до солі. Тому застосування таких генетично детермінованих моделей гіпер-

тензії (відповідних генетично детермінованих ліній тварин), на нашу думку, повинно бути адекватним до певних патологічних станів і/або ефектів препаратів, що вивчаються, а також цілей дослідження. Наприклад, за дослідження нейротропних засобів потрібно використовувати лінії тварин, схильних до інсультів; у разі дослідження гіпотензивних засобів групи адреноблокаторів проводити дослідження слід на щурах з гіперчутливими адренореактивними структурами.

Серед генетично детермінованих моделей АГ найчастіше застосовують модель з використанням щурів лінії SHR. Дану модель вважають найближчим аналогом есенційної гіпертензії в людини, однак у 37 % щурів АГ набуває зловиякісного перебігу. Деякі спадкові дефекти натрієвих і кальцієвих каналів, локалізованих у гладеньких м'язах судин, порушення натрійурезу відмічалися як у пацієнтів з первинною АГ, так і в щурів лінії SHR [15]. І хоча вважається, що патогенез АГ у щурів лінії SHR наближається до розуміння механізму розвитку есенційної гіпертензії в людини, а деякі дослідники стверджують, що, наприклад, стрес, сольова дієта, нефропатія є лише факторами ризику, які можуть прискорити розвиток первинної гіпертензії, що залежить від генетично детермінованого дефекту, присутнього в тварин лінії SHR, все ж не доведено, зокрема, що в людини за підвищеного споживання натрію хлориду наявні системні спадкові дефекти, пов'язані з регуляцією АТ.

Таким чином, різні експериментальні моделі АГ є базисом для розробки засобів і методів її профілактики та лікування. Однак численні моделі АГ є досить нестабільними, потребують хірургічних втручань, наркотизації тварин, введення відповідних хімічних сполук (наприклад, L-NAME, засоби для наркозу, мезатон, індометацин та ін.), проявляються нетривалий час. Численні моделі дозволяють досліджувати лише короткотривалий вплив лікарських засобів і спонукають враховувати можливу взаємодію з наркотичними засобами або сполуками, здатними призводити до підвищення АТ, зва-

жати на стресорну реакцію (наприклад, за хірургічних втручань, психоемоціонального збудження) тощо. Крім того, за вибору адекватної моделі АГ слід також усвідомлювати, що моделювання, яке передбачає хірургічне втручання, призводить до високої смертності тварин, а в багатьох тварин, що вижили, можуть розвиватися ускладнення в функціонуванні різних систем та органів. Суттєві порушення гомеостазу реєструються за імобілізаційного стресу, тренування тварин, створення зоосоціального конфлікту, багатофакторного впливу тощо.

Власне АГ, є, по-суті, захворюванням, що потребує застосування відповідних ліків упродовж тривалого часу, найчастіше – пожиттєво. Крім того, нерідко АГ асоціюється з іншими захворюваннями, зокрема – ревматичними, цукровим діабетом, патологією нирок і міокарда, що також потребують тривалого лікування з застосуванням препаратів різних фармакотерапевтичних груп. У разі дослідження нових потенційних препаратів з гіпотензивною активністю недоцільно першопочатково їхнє застосування з іншими ліками та/або хімічними агентами, що вводяться в організм різними шляхами [1].

Зазначені обставини зумовлюють необхідність проведення досліджень щодо пошуку нових засобів з гіпотензивною дією, вибору відповідних препаратів для тривалого лікування власне АГ з різних фармакологічних груп, а також вивчення ефективності та безпечності за тривалого комбінованого застосування ліків для терапії коморбідних станів і розробки схем лікування. Це, на наш погляд, доцільно здійснювати на такій моделі АГ, за розвитку якої, принаймні, підвищення АТ реєструватиметься від початку формування АГ й утримуватиметься тривалий час (до декількох місяців) і не потрібно було би застосування ліків інших фармакологічних груп.

У науковій літературі немає достатньо переконливих відомостей щодо можливості дослідження активності та безпечності ліків за їхнього тривалого застосування на тій чи іншій моделі АГ. На нашу думку, що базується на резуль-

татах досліджень численних авторів [17–20], модель гіпертензії в щурів, викликана збільшенням вживання хлориду натрію, дозволяє не лише вивчати механізми розвитку АГ у тварин, порушення обміну вуглеводів, ліпідів, електролітів тощо, а й визначати механізми порушень у серцево-судинній та інших системах та органах, а також досліджувати механізми дії лікарських засобів упродовж їхнього тривалого застосування на тлі патологічного стану, у тому числі коморбідного.

Натрію хлорид також є хімічною сполукою, однак, такою, що вживається разом з їжею або питтям. Натрій є необхідним елементом для функціонування різних органів і систем, зокрема, нирок, він бере участь у водно-сольовому обміні та інших метаболічних процесах.

У 1958 році було встановлено, що дієта з 10 % вмістом солі призводить до підвищення АТ у щурів. Більш пізніми дослідженнями було підтверджено, що виникнення АГ у людини корелює з підвищеним споживанням солі. Водночас зазначено, що ступінь зміни тиску крові різний у різних тварин і осіб за надмірного споживання солі. Було зроблено припущення, що така відмінність є генетично детермінованою, що спонукало науковців до виведення генетичних ліній щурів, чутливих або резистентних до сольового навантаження, тобто – до розвитку сольової гіпертензії.

Отже, підвищене споживання кухонної солі відносять до одного з основних факторів ризику виникнення АГ [21, 22]. Тому, на нашу думку, для вивчення ефективності та безпечності як нових потенційних гіпотензивних засобів, так і для дослідження ефективності та безпечності існуючих препаратів за їхнього тривалого прийому, за комбінованого застосування препаратів різних фармакотерапевтичних груп, для виявлення не прогнозованих (не передбачуваних) побічних ефектів лікарських засобів тощо доцільно моделювати АГ шляхом сольового навантаження тварин за умов вільного доступу до сольового раціону (або пиття), досягаючи затримки натрію в організмі, що є, по-суті, універсальною ланкою патогенезу АГ будь-якого генезу. Такі моделі не потребують

хірургічного втручання, їхні патогенетичні аспекти більшою мірою походять на ті, що відзначаються за АГ різного генезу, стресорна реакція в тварин на зміну дієти (пиття), вочевидь, можлива у перші дні від початку сольового навантаження, і вона є менш потужною, ніж, наприклад, за формування зоосоціального конфлікту, хірургічного втручання тощо. Використання для фармакологічних досліджень лінії SHR щурів, звичайно, також виправдане, але слід зважати на особливості метаболізму в тварин цієї лінії та препаратів на тлі саме генетично детермінованої гіпертензії.

Зважаючи на роль натрію хлориду в генезі АГ та її судинних порушень, дослідники розпочали використовувати саме сольове навантаження для створення моделі АГ ще в минулому сторіччі [23–25]. Найпоширенішою виявилася модель АГ, індукована сольовим навантаженням у вигляді 1 % розчину натрію хлориду впродовж 21 доби, що надходить в організм шляхом заміни води на зазначений розчин за умов вільного доступу тварин до пиття.

На жаль, не зважаючи на те, що обмеження вживання солі є реальним, ефективним і безпечним методом нефармакологічної корекції АГ, нерідко рекомендації для людини щодо такого обмеження мають декларативний характер через погіршення смакових відчуттів, складність підрахунку кількості спожитої солі в побутових умовах тощо. Чутливість хворих на АГ до зменшення вживання солі різна. Відомі факти зниження АТ у хворих зі стійкою есенційною гіпертензією за умов жорсткого обмеження вживання кухонної солі (до 0,6 г на добу). Було доведено, що за умов припинення зазначеного обмеження нівелюється позитивна зміна АТ [26, 27].

Водночас як механізми розвитку сольової АГ, фазність та тривалість патологічного стану після припинення сольового навантаження, так і особливості дії різних лікарських засобів на тлі підвищеного споживання солі недостатньо вивчені донині [20, 22, 28].

Особливостями моделі гіпертензії, що індукована надлишковим введенням в

організм натрію хлориду та яку, власне, називають сольовою гіпертензією, є те, що вона не потребує будь-яких додаткових впливів і втручань (наркотичні препарати, оперативні заходи тощо), а також зберігається в значній кількості тварин після відміни сольового навантаження (зокрема, у двох третин щурів, що знаходилися на сольовій дієті). Крім того, за формування даної моделі АГ сольовому навантаженню піддаються як нормо-, так і гіпертензивні тварини (щури). Ці особливості вигідно вирізняють її серед інших моделей та, на нашу думку, можуть сприяти більш адекватній оцінці, принаймні, впливу лікарських засобів. Водночас формується сольова гіпертензія не в усіх підданих сольовому навантаженню тварин і, можливо, це є генетично детермінованою властивістю, пов'язаною з особливостями метаболізму тощо. Деяким дослідникам не вдалося викликати АГ шляхом тривалого надлишкового сольового навантаження в наркотизованих нормотензивних тварин (щури), що дозволило їм зробити висновок про стійкість системи кровообігу цих тварин до тривалого надлишкового споживання солі [29]. Для аналізу даного результату, вочевидь, можна додати нещодавно опубліковану інформацію про те, що утримання щурів лінії Wistar на високо сольовому раціоні не призводило до суттєвого зростання АТ і збільшення індексів гіпертрофії міокарда. Водночас у серцевому м'язі виникали зміни, що характеризувалися як гіперплазія кардіоміоцитів. Крім того, високий рівень споживання хлориду натрію призводив до периваскулярного фіброзу, вираженого ангіоспазму, збільшення товщини стінки артерій за рахунок гіпертрофії гладеньком'язових клітин у судинах, вакуолізації цих клітин і формування перивазального склерозу [30].

Як свідчать інші джерела, відзначається залежність між рівнем АТ та дозою (добовою) натрію хлориду, тривалістю сольового навантаження, віком тварин. Важливо, що в більшості тварин (2/3) після відміни сольового навантаження АТ залишається підвищеним, але тривалість такої зміни не визначена. Зміна рівня АТ за надлишкового введення солі,

ймовірно, є також генетично детермінованим фактором. Як відомо, за моделювання ниркової, мінералокортикоїдної, ішемічної, індометацинової та інших видів АГ також відзначається затримка натрію в організмі. Дослідники вважають, що сольову гіпертензію можна використовувати також для вивчення симптоматичної гіпертензії в людини, що зумовлена ендокринними та метаболічними порушеннями [31].

Таке передбачення базується, першочергово, на механізмі розвитку АГ за умов надлишкового надходження до організму натрію хлориду й характеризується збільшенням вмісту натрію в стінці судин, що призводить до зниження еластичності стінок судин (аорти, великих артерій) і неможливості адекватного розслаблення їхніх стінок за проходження пульсової хвилі. Взагалі, механізми розвитку АГ за сольового навантаження надзвичайно складні, недостатньо вивчені, й їхньому дослідженню присвячені численні розробки [18, 19, 32–34].

Суттєвий вклад у розширення фундаментальних знань щодо впливу мінерального складу раціону на активність пресорних і депресорних механізмів, у вивчення впливу сольового навантаження на ефективність і безпечність ліків й оптимізацію їхнього вибору за лікування АГ вносять зарубіжні та вітчизняні дослідники [29, 35].

Про важливість вивчення механізмів розвитку АГ і коригувальних впливів хімічних агентів за умов надлишку солі свідчать і виведені лінії тварин, чутливих і резистентних до цього фактора. У чутливих до солі ліній тварин відмічаються генетичні дефекти функції нирок або синтезу стероїдів, що призводять до затримки натрію в організмі, як і в тварин, що знаходяться на сольовій дієті або споживають сольовий розчин замість води. Водночас не доведено, чи в людини з патологією нирок

або синтезу гормонів є дефекти генів, відповідальних за рівень АТ.

Таким чином, аналіз літератури з питань моделювання АГ засвідчив низку питань, що потребують вирішення на основі даних експериментальних досліджень. Питання щодо раціонального вибору моделі АГ для дослідження гіпотензивної активності потенційних та офіційних лікарських засобів, механізмів реалізації їхньої гіпотензивної дії є вельми актуальними.

За проведеним аналізом даних літератури можна зробити висновки:

- використання окреслених вище моделей АГ доцільне, зокрема, для дослідження гіпотензивної дії ліків на тлі різних вищезазначених патологічних станів, що виникли в результаті індукції гіпертензії;
- розробка моделі АГ за умов тривалого сольового навантаження, що перевищує термін (21 добу) описаної в літературі моделі сольової АГ, дозволить відтворити одну з універсальних ланок патогенезу АГ (затримка натрію в організмі), викликаючи гіпертензивну реакцію в тварин, що не ініціюється психоемоційним збудженням, хірургічним втручанням, зміною генного апарату, введенням хімічних агентів, у тому числі лікарських засобів тощо;
- модель АГ, розвиток якої забезпечується тривалим сольовим навантаженням, надасть можливість більш досконалого вивчення патогенезу АГ й ефективності та безпечності ліків різних фармакотерапевтичних груп за їхнього тривалого застосування;
- дослідження функціонування окремих систем і органів, зокрема, серцево-судинної за тривалого сольового навантаження, чому буде присвячена наступна публікація, дозволять висловити рекомендації щодо можливості застосування нової моделі АГ для вивчення гіпотензивної дії препаратів.

1. Badyal D. K. Animal models of hypertension and effect of drugs / D. K. Badyal, H. Lata, A. P. Dadhich // Indian J. Pharmacol. – 2003. – № 35. – P. 349–362.
2. Bohr D. F. Experimental hypertension / D. F. Bohr, A. F. Dominiczak // Hypertension. – 1991. – V. 17, № 1. – P. 39–44.
3. Dornas W. C. Animal models for study of arterial hypertension / W. C. Dornas, M. E. Silva // J. Biosci. – 2011. – V. 36, № 4. – P. 731–737.
4. Журавлев Д. А. Модели артериальной гипертензии. Спонтанно-гипертензивные крысы / Д. А. Журавлев // Артериальная гипертензия. – 2009. – Т. 15, № 6. – С. 721–723.

5. Bader M. Rat models of cardiovascular diseases / M. Bader // *Methods Mol. Biol.* – 2010. – V. 597. – P. 403–414.
6. Экспериментальные модели в патологии / В. А. Черешнев, Ю. И. Шилов, М. В. Черешнева [и др.]. Пермь : Перм. гос. ун-т., 2011. – 267 с.
7. Пальцева Е. М. Экспериментальные модели хронических заболеваний почек / Е. М. Пальцева // *Клиническая нефрология.* – 2009. – № 2. – С. 37–42.
8. Способ моделирования артериальной гипертензии. Патент (RU 2359338) G09B23/28 – в медицине // Ж. В. Маслова, В. Л. Сусликов, Н. В. Толмачева, О. И. Лихова; опубл. 20.06.2009. – <http://www.findpatent.ru/patent/235/2359338.html>.
9. Способ моделирования кардиовасоренальной артериальной гипертензии у крыс / Патент (RU 2327228C1) // М. В. Антонюк, И. Б. Королев, В. Н. Котельников, Ю. К. Караман, И. Г. Агафонова, Т. А. Гвозденко; опубл. 20.06.2008. – <http://www.findpatent.ru/patent/232/2327228.html>.
10. Исследование эндотелио- и кардиопротективных эффектов препарата «кардионат» при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота / М. В. Корокин, Е. В. Артюшкова, М. В. Покровский [и др.] // *Курский науч.-практ. вестник «Человек и здоровье».* – 2007. – № 3. – С. 5–9.
11. Эндотелио- и кардиопротекторное действие в ряду производных 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата / М. В. Покровский, Л. М. Даниленко, А. В. Индерова [и др.] // *Современные проблемы науки и образования.* – 2012. – № 4. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=6848>.
12. Гуреев В. В. Роль INOS в коррекции эндотелиальной дисфункции при ADMA-подобном гестозе короткими эпизодами ишемии-реперфузии в эксперименте / В. В. Гуреев // *Фундаментальные исследования.* – 2012. – № 8 (Ч. 2). – С. 298–301.
13. Даниленко Л. М. Пути реализации дистанционного ишемического preconditionирования и фармакологического preconditionирования никорандилом при L-NAME индуцированном дефиците оксида азота / Л. М. Даниленко // *Современные проблемы науки и образования.* – 2013. – № 6. – URL: www.science-education.ru/104-6836.
14. Okamoto K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats / K. Okamoto, K. Aoki // *Jap. Circulation J.* – 1963. – № 27. – P. 282–293.
15. Мурашев А. Н. Оценка адекватности модели артериальной гипертензии на крысах для изучения гипотензивных лекарственных средств / А. Н. Мурашев // *Токсикологический вестник.* – 2010. – № 5. – С. 36–41.
16. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases / P. Meneton, X. Jeunemaitre, H. E. de Wardener, G. A. MacGregor // *Physiol Rev.* – 2005. – № 85. – P. 679–715.
17. Bolivar J. J. Essential hypertension: an approach to its etiology and neurogenic pathophysiology / J. J. Bolivar // *Int. J. Hypertens.* – 2013. – V. 2013. – P. 11.
18. How NaCl raises blood pressure: a new paradigm for the pathogenesis of salt-dependent hypertension / M. P. Blaustein, F. H. H. Leenen, L. Chen [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2012. – V. 302, № 5. – P. H1031–H1049.
19. The central mechanism underlying hypertension: a review of the roles of sodium ions, epithelial sodium channels, angiotensin-aldosterone system, oxidative stress and endogenous digitalis in the brain / H. Takahashi, M. Yoshika, Y. Komiyama, M. Nishimura // *Hypertension Research.* – 2011. – V. 34, № 11. – P. 1147–1160.
20. Альдекеева А. С. Влияние повышенного потребления NaCl на изменение уровня экспрессии Mrnk NAP-22 в почках у крыс линии SHR / А. С. Альдекеева, Н. А. Корнева, Т. И. Зюбко // *Мед. академический ж-л.* – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 64–66.
21. Somova L. I. An experimental rat model of salt-sensitive hypertension; biochemical and morphological parameters and sympathetic nervous system / L. I. Somova, M. L. Channa, M. S. Khan // *J. Safr. Vet. Assoc.* – 1999. – V. 70, № 1. – P. 14–17.
22. Dahl L. K. Effect of chronic excess salt in gestion experimental hypertension in the rat / L. K. Dahl, E. Shocov // *Can Med Ass J.* – 1964. – V. 90, № 4. – P. 155–166.
23. Парин В. В. Очерки клинической физиологии кровообращения / В. В. Парин, Ф. З. Меерсон. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 1965. – 500 с.
24. Избыточное потребление поваренной соли при артериальной гипертензии: привычка или потребность / К. А. Мерзон, Т. Н. Логовеев, Л. Н. Щетинин, И. В. Приклонский // *Кардиология.* – 1983. – № 3. – С. 96–97.
25. Штрыголь С. Ю. Влияние избыточного потребления поваренной соли и санасола на уровень артериального давления, водно-солевой обмен и функции почек при патологии циркуляторного гомеостаза в эксперименте / С. Ю. Штрыголь, Т. Р. Гришина // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 1992. – № 6. – С. 21–24.
26. Сокращение потребления натрия и снижение веса в лечении гипертензии у лиц пожилого возраста / Р. К. Whelton, L. J. Appel, M. A. Espeland [et al.] // *JAMA. Россия.* – 1999. – Т. 2, № 1. – С. 16–28.

27. Влияние циннаризина и алвитила на мозговой кровоток и высшую нервную деятельность на модели хронической церебральной ишемии / О. А. Громова, Т. Р. Гришина, А. В. Садин [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2004. – Т. 104, № 1. – С. 52–53.
28. Штрыголь С. Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах: монография / С. Ю. Штрыголь. – Харьков : Авеста-ВЛТ, 2007. – 360 с.
29. Изменения сердечно-сосудистой системы у крыс, сопряженные с высоким потреблением хлорида натрия / О. Н. Береснева, М. М. Парастаева, Г. Т. Иванова [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2014. – Т. 20, № 5. – С. 384–390.
30. Анализ патофизиологических моделей артериальной гипертензии у мелких лабораторных животных / Н. В. Кузьо, С. В. Тищенко, Н. Ю. Самойленко, В. В. Нифонтова // Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». – 2014. – Т. 14, Вип. 3 (47). – С. 210–213.
31. Blaustein M. P. Commentary: What is the link between vascular smooth muscle sodium pumps and hypertension? / M. P. Blaustein // Clin Exp Hypertens. – 1981. – № 3. – P. 173–178.
32. Hashimoto J. Central Hemodynamics and Target Organ Damage in Hypertension / J. Hashimoto // Tohoku J. Exp. Med. – 2014. – № 233. – P. 1–8.
33. Shah P. T. Dashing away hypertension: Evaluating the efficacy of the dietary approaches to stop hypertension diet in controlling high blood pressure / P. T. Shah, K. D. Maxwell, J. I. Shapiro // World J Hypertens. – 2015. – V. 23, № 5. – P. 119–128.
34. Takahashi H. The central mechanism underlying hypertension: a review of the roles of sodium ions, epithelial sodium channels, the renin-angiotensin-aldosterone system, oxidative stress and endogenous digitalis in the brain / H. Takahashi, M. Yoshika, Y. Komiyama, M. Nishimura // Hypertension Research. – 2011. – V. 34, № 11. – P. 1147–1160.
35. Marshall I. J. Lay perspectives on hypertension and drug adherence: systematic review of qualitative research / I. J. Marshall, C. D. Wolfe, C. McKevitt. // BMJ (Clinical research ed.). – 2012. – V. 345, № 7867 – P. 345–359.

**Н. М. Серединська, М. А. Мохорт, В. С. Хоменко, К. С. Марченко-Толста,
Л. М. Киричок, О. М. Марченко**

Моделювання артеріальної гіпертензії шляхом тривалого сольового навантаження. Моніторинг функціонування серцево-судинної системи та динаміки інтегральних показників життєдіяльності в щурів (частина І)

Різні експериментальні моделі артеріальної гіпертензії (АГ) стали базисом для розробки засобів і методів її профілактики та лікування. Проведено науково-аналітичний огляд літератури й встановлено, що численні моделі АГ є досить нестабільними, потребують хірургічних втручань, наркотизації тварин, введення різних хімічних сполук, проявляються нетривалий час, призводять до загибелі тварин або потужної стресової реакції. За опрацювання наукової інформації та враховуючи результати власних досліджень, визначено, що численні моделі дозволяють досліджувати лише короткотривалий вплив лікарських засобів і спонукають враховувати можливу взаємодію з наркотичними засобами або сполуками, здатними призводити до підвищення артеріального тиску (АТ), зважати на стресорну реакцію тощо. Аналіз даних літератури засвідчив, що індукція гіпертензивної реакції зумовлена, власне, патологічними процесами, які викликають з метою підвищення АТ. Серед них патологія нирок, зміна гормонального статусу, психоемоційні розлади, порушення рефлекторних реакцій тощо. Окрему групу становлять генетично детерміновані моделі АГ. Застосування вищезазначених моделей АГ не повною мірою відповідає завданням фармакологічної науки, зокрема, щодо дослідження ефективності та безпечності нових й офіційних лікарських засобів з гіпотензивною дією, щодо вивчення взаємодії лікарських засобів різних фармакотерапевтичних груп на тлі АГ та коморбідних станів, асоційованих з АГ, щодо вивчення механізмів дії ліків. Обґрунтована доцільність розробки нової моделі АГ, індукованої тривалим сольовим навантаженням. Розробка такої моделі базується на ролі натрію хлориду в функціонуванні життєво важливих органів і систем та в генезі АГ й її судинних порушень. Передбачається, що нова модель АГ буде формуватися впродовж терміну, що перевищує описаний в літературі – 21 добу. Висловлено припущення, що саме така модель АГ сприятиме поглибленню знань щодо механізмів розвитку АГ, буде стабільною, стійкою, дозволить досліджувати тривалий вплив лікарських засобів на різних етапах розвитку гіпертензії.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, моделі, сольове навантаження, серцево-судинна система, інтегральні показники

**Н. Н. Серединская, Н. А. Мохорт, В. С. Хоменко, Е. С. Марченко-Толстая,
Л. М. Киричок, О. Н. Марченко**
Моделирование артериальной гипертензии путем длительной солевой нагрузки. Мониторинг функционирования сердечно-сосудистой системы и динамики интегральных показателей жизнедеятельности у крыс (часть I)

Разные экспериментальные модели артериальной гипертензии (АГ) стали базисом для разработки средств и методов ее профилактики и лечения. Проведен научно-аналитический обзор

литературы и установлено, что многочисленные модели АГ весьма нестабильны, требуют хирургических вмешательств, наркотизации животных, введения разных химических соединений, проявляются кратковременно, приводят к гибели животных или к мощной стрессорной реакции. При обработке научной информации, а также анализируя результаты собственных исследований, было установлено, что многие модели АГ позволяют исследовать только недлительное влияние лекарственных препаратов, заставляют принимать во внимание возможное взаимодействие с наркотическими средствами или соединениями, приводящими к повышению артериального давления (АД), учитывать стрессорную реакцию и т. д. Анализ данных литературы свидетельствует, что индукция гипертензивной реакции обусловлена, собственно, патологическими процессами, которые вызывают с целью повышения АД. Среди них патология почек, изменение гормонального статуса, психоэмоциональные нарушения, изменения рефлекторных реакций и др. Отдельную группу представляют генетически детерминированные модели АГ. Использование вышеуказанных моделей АГ не в полной мере отвечает задачам фармакологической науки, в частности, относительно исследования эффективности и безопасности новых и официальных лекарственных средств с гипотензивным действием, изучения взаимодействия препаратов разных фармакотерапевтических групп на фоне АГ и коморбидных состояний, ассоциированных с АГ, изучения механизмов действия лекарств. Обоснована целесообразность разработки новой модели АГ, индуцированной длительной солевой нагрузкой. Разработка такой модели основывается на роли натрия хлорида в функционировании жизненно важных органов, систем и в генезе АГ. Предполагается, что новая модель АГ будет формироваться в течение срока, который превышает описанный в литературе – 21 сутки. Высказано предположение, что именно такая модель АГ будет способствовать углублению знаний о механизмах развития АГ, будет стабильной, стойкой, позволит исследовать длительное влияние лекарственных препаратов на разных этапах развития гипертензии.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, модели, солевая нагрузка, сердечно-сосудистая система, интегральные показатели

N. M. Seredinska, M. A. Mokhort, V. S. Khomenko, K. S. Marchenko-Tolsta, L. M. Kirichok, O. M. Marchenko

Modeling of arterial hypertension by prolonged salt loading. Monitoring of the functioning of the cardiovascular system and the dynamics of integral vital signs in rats (Part I)

Various experimental models of arterial hypertension (AH) became the basis for developing medicines and methods for its prophylaxis and treatment. A scientific and analytical review of the literature was carried out and it was found that numerous models of hypertension are highly unstable, require surgical interventions, narcotization of animals, the introduction of various chemical compounds, occur for a short time, lead to death of animals or a powerful stress reaction. While processing scientific information, as well as analyzing the results of our own research, it was found that many models of hypertension permit to investigate only short-term effects of drugs, make it necessary to take into account the stress response and the possible interaction with narcotic drugs or compounds that lead to an increase in blood pressure, etc. The analysis of literature data has shown that the induction of hypertensive reaction is due, in fact, to pathological processes that cause to increase arterial pressure. Among them, kidney pathology, changes in hormonal status, psycho-emotional disorders, reflex reactions, etc. A separate group consists of genetically determined models of hypertension. Application of the above-mentioned AH models is not fully consistent with the tasks of pharmacological science, in particular, with regard to the study of the efficacy and safety of new and official drugs with antihypertensive effect, to study the interaction of drugs of various pharmacotherapeutic groups against the background of AH and comorbid states associated with AH, to study the mechanisms action of drugs. The expediency of developing a new model of hypertension induced by long salt load was substantiated. The development of such a model is based on the role of sodium chloride in the functioning of vital organs and systems and in the genesis of hypertension and its vascular disorders. It is assumed that the new model of AH will be formed over a period that exceeds the one described in the literature – 21 days. It is suggested that this type of AH model will contribute to the deepening of knowledge about mechanisms of AH development, will be stable and will allow to study the long-term influence of drugs on different stages of hypertension.

Key words: arterial hypertension, models, salt load, cardiovascular system, integral indicators

Надійшла: 25 лютого 2019 р.

Контактна особа: Серединська Н. М., ДУ «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057.
Тел: + 38 0 44 456 42 56.

І. С. Свіргун, Мухаммед Адаб, О. С. Кошелєв, О. Л. Дроздов

Вплив лецитинів на поведінку тварин за умов інтоксикаційного стресу

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро

Ключові слова: поведінка,
тетрахлорметан, лецитини

Створення нових потенційних лікарських засобів хімічного, рослинного або тваринного походження є актуальним для нейрофармакології.

Розвитку уявлень про ноотропні засоби сприяло виділення серед них лікарських речовин з домінуючим мнестичним ефектом (*cognitive enhancers*) і нейропротекторів, що суттєво поширило групу за рахунок антагоністів кальцію, антиоксидантів, нейроактивних амінокислот, лецитину та його компонентів, препаратів рослинного походження тощо [1]. Певним підсумком цього періоду та визначенням перспектив подальших досліджень нейротропних речовин можна вважати статтю 2008 року в журналі «Nature» [2].

Серед цієї групи [3], що інтенсивно вивчається, особливе місце займає лецитин та його компоненти. Лецитин (Л) як складна суміш речовин, на відміну від інших класів групи, має як тваринне, так і рослинне походження [4]. Особливістю складу Л є поєднання гідрофобних (насамперед, ліпідних) з гідрофільними (вільними жирними кислотами та вуглеводними) компонентами.

Мета дослідження – вивчення впливу соєвого лецитину (SL) і соняшникового лецитину (SFL) на поведінку тварин за умов інтоксикаційного стресу.

Матеріали та методи. Експериментальну роботу проведено на 40 білих статевозрілих нелінійних щурах масою 180,0–230,0 г. Щурів утримували у віварії ДЗ «ДМА» за стандартних умов з вільним доступом до води та їжі. Усі досліді виконані відповідно до правил етичного поводження з тваринами, затверджених «European Convention for the Protection of Vertebrate Animals

Used for Experimental and Other Scientific Purpose» (Страсбург, 1986 р.).

Зміни показників поведінки щурів на фоні дії досліджуваних речовин визначали в тесті «відкрите поле» розміром 100 на 100 см з відстанями між «хибними» нірками 10 см. Горизонтальну рухову активність (ГРА) визначали за кількістю квадратів, що повністю були перетнуті протягом 3 хв, вертикальну рухову активність (ВРА) – за кількістю підйомів на задні лапи, емоційну реактивність – за кількістю болюсів дефекації (БД), безумовно-рефлекторну діяльність – за кількістю обстежених нірок (НР). Реєстрували також тривалість грумінга (ТГр) у секундах під час тестування [6].

Модель інтоксикаційного стресу створювали шляхом внутрішньошлункового введення 50 % розчину тетрахлорметану (CCl₄) в оливковій олії в дозі 2,5 г/кг на 1, 3 і 7 добу спостережень.

Досліджувані показники реєстрували на початку та на 3, 7 і 14 добу експерименту в груп тварин, яким щодня внутрішньошлунково вводили 20 % суспензію SL і SFL по 2,5 г/кг.

Результати оброблено з використанням статистичного пакета ліцензійної програми «Statistica for Windows 6.0» (StatSoftInc.), «Microsoft Exel 2010». Достовірність відмінностей (p) розраховували з використанням t-критерію Стьюдента [7].

Результати та їх обговорення. В експерименті було використано 4 групи експериментальних тварин, про функціонування мозку яких судили за показниками поведінки, які визначали в тесті «відкрите поле». Вихідні показники в середньому по всіх групах щурів складали:

1) ГРА – (24,8 ± 2,0) перетнутих квадратів;

- 2) ВРА – $(7,3 \pm 1,0)$ підйомів на задні лапи;
- 3) ТГр – $(12,9 \pm 2,0)$ с;
- 4) кількість обстежених «помилкових НР» – $(3,5 \pm 0,3)$;
- 5) кількість БД – $(1,0 \pm 0,2)$.

Зпівставлення приведених даних з вихідним станом кожної з досліджуваних груп показує відсутність статистично значущих відмінностей між ними. Цей факт показує, що отримані результати зпівставні та допускають проведення порівняльного аналізу, оскільки всі групи відносяться до нормального розподілу величин.

Отруєння CCl_4 призводило на 3 добу спостережень до суттєвого зниження на 52,7 % кількості обстежених НР і різкого збільшення (у 3,5 разу) кількості БД на 7 день експерименту (табл. 1). Найвиразніші зміни поведінки експериментальних тварин спостерігалися на 14 добу дослідження.

У цей період тварини були млявими, зі скуйовдженою шерстю, відмічалася суттєва втрата ваги, що свідчить про виражену інтоксикацію CCl_4 . З боку поведінки спостерігалася достовірне зниження локомоторної активності (на 48,0 %), дослідницької поведінки (на 77,1 %), ТГр (на 61,3 %) і проявів вираженості ніркового реф-

лексу (на 80,6 %). У той самий час залишалася статистично значущим зростання кількості БД (на 140,0 %), що свідчить про підвищений рівень тривоги тварин.

Аналіз наведених результатів показників поведінки щурів у разі використання CCl_4 свідчить, що нейротропний ефект інтоксикації виявляється пригніченням усіх видів рухової активності тварин й їхньої безумовно-рефлекторної діяльності, ймовірно, за рахунок пригнічення серотонінореактивних механізмів. У той самий час під впливом CCl_4 , починаючи з 7 дня спостереження, стійко зростає неспокій тварин, про що свідчить збільшення кількості БД.

Використання SL призводило до стабілізації в разі зпівставлення з вихідним станом показників поведінки тварин на всіх етапах експерименту (табл. 2). Виключеннями є достовірне порівняно з вихідним станом зниження на 53,4 % ТГр на 7 добу та збільшення на 58,7 % кількості перетнутих щурами квадратів на 14 день, що відбиває їхню локомоторну активність.

Проте найвиразнішими ці зміни були на 14 добу дослідження. Наприкінці спостережень під впливом SL статис-

Таблиця 1

Показники поведінки щурів у тесті «відкрите поле» під впливом тетрахлорметану

Серія досліджень	Статистичний показник	Показник поведінки				
		горизонтальна рухова активність	вертикальна рухова активність	тривалість ґрумінга, с	рефлекс нірки, кількість обстежених «помилкових нірок»	кількість болюсів дефекації
Вихідний стан	M	22,3	4,8	11,1	3,6	1,0
	± m	2,2	0,8	1,7	0,4	0,3
3 доба	M	22,6	4,4	7,7	1,7*	1,3
	± m	5,6	0,8	2,1	0,6	0,6
7 доба	M	34,6	4,0	6,9	3,0	4,5*
	± m	5,9	0,6	1,4	0,5	1,1
14 доба	M	11,6*	1,1*	4,3*	0,7*	2,4*
	± m	2,2	0,5	1,1	0,3	0,4

Примітка. *p < 0,05 порівняно з вихідним станом; n = 10.

Таблиця 2

Показники поведінки щурів у тесті «відкрите поле» за умов інтоксикації тетрахлорметаном і впливу соєвого лецитину

Серія досліджень	Статистичний показник	Показник поведінки				
		горизонталь- на рухова активність	вертикальна рухова активність	тривалість грумінга, с	рефлекс нірки, кіль- кість обсте- жених «помилкових нірок»	кількість болюсів дефекації
Вихідний стан	M	24,4	4,7	19,1	3,7	1,2
	± m	3,1	0,7	4,5	0,6	0,3
3 доба	M	31,3	4,3	20,7	5,6	1,1
	± m	4,0	0,7	3,7	1,0	0,3
7 доба	M	33,3	3,3	8,9*	3,2	1,1**
	± m	5,8	0,6	2,7	0,8	0,3
14 доба	M	38,7*, **	5,4**	13,4**	3,1**	1,3
	± m	4,0	0,8	2,9	0,8	0,4

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з вихідним станом, ** $p < 0,05$ порівняно з аналогічним періодом інтоксикації.

тично значуще порівняно з ефектами інтоксикації зростали ГРА (у 2,3 разу) і ВРА (у 3,6 разу), тривалість умивальних рухів (у 2,1 разу) і кількість обстежених НР (у 3,4 разу).

У той самий час на 7 добу спостереження щоденне введення SL на 75,6 % ($p < 0,05$) зменшувало число БД. Дана тенденція зберігалася й наприкінці

визначення біологічної активності даного Л.

Таким чином, лікувально-профілактичне використання SL у дозі 2,5 г/кг блокує нейротропні ефекти інтоксикації CCl_4 , стабілізуючи поведінку тварин.

В цілому, аналогічну дію на досліджувані показники виявляє щоденне застосування SFL (табл. 3).

Таблиця 3

Показники поведінки щурів у тесті «відкрите поле» за умов інтоксикації тетрахлорметаном і впливу соєвого лецитину

Серія досліджень	Статистичний показник	Показник поведінки				
		горизонталь- на рухова активність	вертикальна рухова активність	тривалість грумінга, с	рефлекс нірки, кіль- кість обсте- жених «помилкових нірок»	кількість болюсів дефекації
Вихідний стан	M	24,0	10,9	9,2	3,1	1,5
	± m	3,8	1,9	3,0	0,4	0,4
3 доба	M	25,9	7,5	11,5	1,3*, #	0,5*
	± m	3,4	1,3	2,9	0,4	0,2
7 доба	M	28,1	7,7	17,7	2,3	0,7**
	± m	5,4	1,7	2,8	0,3	0,3
14 доба	M	25,3**	9,5**	7,5	2,2**	0,8**
	± m	5,2	2,8	3,8	0,4	0,2

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з вихідним станом, ** $p < 0,05$ порівняно з аналогічним періодом інтоксикації; # $p < 0,05$ порівняно з ефектами SL.

Оцінюючи зміни поведінки тварин на фоні дії SFL до кінця спостереження, потрібно ще раз підкреслити, що вони близькі до показників за умов використання SL. Це повною мірою стосується достовірного підвищення порівняно з інтоксикацією ГРА (на 118,1 %) та, особливо, ВРА (у 7,6 разу), кількості обстежених НР (на 214,3 %), зниження числа БД (на 66,7 %).

Такі зміни поведінки в тесті «відкрите поле» за лікувально-профілактичного застосування ЛІ в умовах інтоксикаційного стресу, на нашу думку, можуть свідчити про відображення та формування пам'ятного сліду в різних відділах головного мозку щурів.

SL більшою мірою перешкоджає пригніченню грумінга під впливом інтоксикації, що, імовірно, пов'язано з активацією

серотонінергічних механізмів. У разі використання SFL протягом експерименту спостерігалось суттєве порівняно з CCl_4 зниження кількості БД, що відбиває переважно зменшення тривожності щурів.

Аналіз отриманих результатів щодо поведінкових ефектів SL і SFL не визначив принципових відмінностей в їхніх нейротропних властивостях.

Висновок

Вивчені ЛІ (SFL і SL) за щоденного введення в дозі 2,5 г/кг перешкоджають розвитку поведінкових проявів нейротоксичної дії CCl_4 , запобігаючи пригніченню рухової, дослідницької та безумовно-рефлекторної активності, зменшують прояви емоційної реактивності в щурів і принципово не відрізняються за нейротропними властивостями.

1. Pszeny S. Lipolytic lecithin: cholesterol acyltransferase secreted by Toxoplasma facilitates parasite replication and egress / S. Pszeny, V. Viviana // Journal of Biological Chemistry. – 2016. – V. 291, № 8. – P. 3725–3746.
2. Greely H. Towards responsible use of cognitive-enhancing drugs by the healthy / H. Greely, B. Sahakian // Nature J. – 2008. – V. 405, № 12. – P. 702–705.
3. Shiliang G. Chitosan oligosaccharides alleviate cognitive deficits in an amyloid- β 1–42-induced rat model of Alzheimer's disease / G. Shiliang // International journal of biological macromolecules. – 2016. – № 12. – P. 416–425.
4. Huestis M. Designer Drugs / M. Huestis // Clinical Pharmacology & Therapeutics J. – 2017. – V. 101, № 2. – P. 152–157.
5. Forsberg D. Ethical Concerns in HCE: The Examples of Cognitive Enhancing Drugs and Noninvasive Brain Stimulation / D. Forsberg, H. Ellen-Marie // Evaluating Ethical Frameworks for the Assessment of Human Cognitive Enhancement Applications J. – 2017. – V. 222, № 34. – P. 15–29.
6. Дроздов О. Л. Зміни поведінки тварин в процесі формування експериментального психозу / О. Л. Дроздов, Г. Г. Зубковська, А. М. Кушнір // Архів психіатрії. – 2005. – Т. 11, № 1 (40). – С. 80–83.
7. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных / А. А. Халафян. – 2-е изд. – Москва : ООО «Бином-Пресс», 2009. – 528 с.

І. С. Свіргун, Адаб Мухаммед, О. С. Кошелєв, О. Л. Дроздов

Вплив лецитинів на поведінку тварин за умов інтоксикаційного стресу

Вивчення лецитинів та їхніх компонентів, наприклад, фосфоліпідів лецитину, показало, що вони виявляють холін-, адрен- серотонін- та дофамінергічний вплив на кору та інші відділи головного мозку, симпатичні ганглії, синапсоми та епіфіз, спричинюючи нейропротективну дію.

Мета дослідження – вивчення впливу соєвого та соняшникового лецитинів на поведінку тварин за умов інтоксикаційного стресу.

Дослідження проводили на 40 білих статевозрілих нелінійних щурах масою 180,0–230,0 г. Модель інтоксикаційного стресу створювали шляхом внутрішньошлункового введення 50 % розчину тетрахлорметану в оливковій олії в дозі 2,5 г/кг на 1, 3 і 7 добу спостереження. Показники поведінки в тесті «відкрите поле» реєстрували на початку та на 3, 7 і 14 добу експерименту в тварин, яким щодня внутрішньошлунково вводили 20 % суспензію соєвого або соняшникового лецитинів по 2,5 г/кг.

У результаті дослідження встановлено, що соняшниковий лецитин, подібно до соєвого, за щоденного введення (2,5 г/кг) блокує нейротоксичні прояви інтоксикації тетрахлорметаном. Це виявляється в запобіганні зниженню рухової, дослідницької та безумовно-рефлекторної активності, а також у зменшенні емоційної реактивності тварин. Соевий лецитин більшою мірою перешкоджає пригніченню грумінга під впливом тетрахлорметану, що, ймовірно, пов'язано з переважною активацією серотонінергічних механізмів. У разі використання соняшникового лецитину протягом експерименту спостерігалось суттєве порівняно з дією нейротоксичної сполуки зниження кількості болюсів дефекації, що відображає зменшення тривожності щурів.

Ключові слова: поведінка, тетрахлорметан, лецитини

Влияние лецитинов на поведение животных в условиях интоксикационного стресса

Изучение лецитинов и их компонентов, например, фосфолипидов лецитина, показало, что они проявляют холин-, адрен- серотонин- и дофаминергическое влияние на кору и другие отделы головного мозга, симпатические ганглии, синапсомы и эпифиз, оказывая нейропротективное действие.

Цель исследования – изучить влияние соевого и подсолнечного лецитинов на поведение животных в условиях интоксикационного стресса.

Исследование проводили на 40 белых половозрелых нелинейных крысах массой 180,0–230,0 г. Модель интоксикационного стресса создавали путем внутрижелудочного введения 50 % раствора тетрахлорметана в оливковом масле в дозе 2,5 г/кг на 1, 3 и 7 сутки. Исследуемые показатели поведения в тесте «открытое поле» регистрировали в начале, на 3, 7 и 14 сутки эксперимента у животных, которым ежедневно внутрижелудочно вводили 20 % суспензию соевого или подсолнечного лецитинов по 2,5 г/кг.

В результате исследований установлено, что подсолнечный лецитин, подобно соевому, при ежедневном введении (2,5 г/кг) блокирует нейротоксические проявления интоксикации тетрахлорметаном. Это проявляется в предотвращении снижения двигательной, исследовательской и безусловно-рефлекторной активности, а также в уменьшении эмоциональной реактивности животных. Соевый лецитин в большей степени препятствует угнетению груминга под влиянием тетрахлорметана, что, вероятно, связано с преимущественной активацией серотонинергических механизмов. При использовании подсолнечного лецитина на протяжении эксперимента наблюдалось существенное, по сравнению с изучаемым нейротоксическим соединением, снижение количества болюсов дефекации, что отражает уменьшение тревожности крыс.

Ключевые слова: поведение, тетрахлорметан, лецитины

I. S. Svirgun, Adab Mohammed, O. S. Koshelev, A. L. Drozdov

The effect of lecithins on the behavior of animals under intoxication stress

The study of lecithins and their components, for example, their phospholipids, showed that they exhibit cholin-, adren-, serotonin- and dopaminergic effects on the cortex and other parts of the brain, sympathetic ganglia, synaptosomes and epiphysis, exhibiting neuroprotective action.

The aim of the study was to determine the effect of soy and sunflower lecithins on animal behavior under intoxication stress.

The studies were conducted on 40 white, non-linear, adult rats weighing 180,0–230,0 g. The model of intoxication stress was created by intragastric administration of a 50 % solution of tetrachloromethane in olive oil at a dose of 2,5 g/kg on 1, 3 and 7 days. The studied indicators were recorded at the beginning and on days 3, 7 and 14 of the experiment in the groups of animals that received daily intragastric administration of 20 % suspension of soy or sunflower lecithins (2,5g/kg).

As a result of studies, it was found that sunflower lecithin, like soy, with daily administration of 2,5 g/kg of body weight blocks neurotoxic manifestations of tetrachloromethane intoxication. This is manifested in preventing motility, research and unconditionally-reflex activity, as well as in reducing anxiety of animals. Soy lecithin to a greater extent prevents the suppression of grooming under the influence of tetrachloromethane, which is probably due to preferential activation of serotonergic mechanisms. When using sunflower lecithin, throughout the experiment, there was a significant increase in the number of bolus of defecation as compared with the neurotoxic compound studied, reflecting a decrease in the anxiety of rats.

Key words: behavior, tetrachloromethane, lecithin

Надійшла: 8 квітня 2019 р.

Контактна особа: Свиргун Ілля Степанович, молодший науковий співробітник, Науково-дослідний інститут «Медико-біологічних проблем», ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 4, пл. Соборна, м. Дніпро, 49040. Тел.: + 38 0 097 607 59 31.

Д. С. Носівець

Вплив нестероїдних протизапальних засобів на руховий, дослідницький та емоційний статус щурів у тесті «відкрите поле» за умов експериментального гіпотиреозу й остеоартрозу

*Державний заклад «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України», м. Дніпро*

Ключові слова: гіпотиреоз, остеоартроз, нестероїдні протизапальні засоби, базова фармакотерапія, рухова та дослідницька активність, тест «відкрите поле»

Захворювання щитоподібної залози (ЩЗ) відносяться до актуальної проблеми сучасного суспільства в зв'язку з постійним поширенням даної патології та пов'язаними з цими захворюваннями соматичними, репродуктивними та психічними розладами. У клініці це зумовлено як посиленням функціональної дисфункції – гіпертиреоз, так і зниженням – гіпотиреоз. Негативний вплив гормональної дисфункції ЩЗ на функціональний стан органів і систем обумовлений ключовою роллю тиреоїдних гормонів у процесах метаболізму [1–5].

Відомо, що гіпофункція ЩЗ призводить до змін спонтанної поведінкової активності та зниження когнітивних здібностей хворих, а метаболічні порушення негативно впливають на стан кісткової та хрящової тканини, зумовлюють розвиток багатьох патологічних станів, серед яких безумовно важливим є остеоартроз [1, 2, 4–8].

Мета дослідження – вивчити вплив нестероїдних протизапальних засобів на спонтанну поведінкову активність щурів у тесті «відкрите поле» за умов експериментальних еквівалентів гіпотиреозу й остеоартрозу.

Матеріали та методи. Дослідження проведені на 200 білих безпородних щурах обох статей масою 230–250 г, яких утримували за стандартних умов віварію ДЗ «ДМА МОЗУ». Експериментальні дослідження виконані відповід-

но до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.) і положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.).

Експериментальний остеоартроз (ЕОА) відтворювали шляхом одноразового внутрішньосуглобового введення 0,1 мл розчину монойодоцтової кислоти з розрахунку 3 мг реактиву на 50 мкл стерильного фізіологічного розчину [9]. Верифікацію моделі проводили за допомогою мікроскопії гістологічних препаратів колінних суглобів щурів і змін відповідних біохімічних маркерів сироватки крові.

Експериментальний гіпотиреоз (ЕГ) відтворювали шляхом ентерального введення 0,02 % розчину карбімазолу (препарат «Еспа-карб», виробництва Еспарма ГмбХ, Німеччина; у таблетках по 5 або 10 мг), який готували з розрахунку 5 мг на 250 мл фізіологічного розчину та давали з питним раціоном тварин упродовж 6 тижнів [10–12]. Адекватність моделі підтверджували рівнем ТТГ, T_3 і T_4 сироватки крові щурів.

Після формування експериментальних моделей ЕГ і ЕОА на 42 добу експерименту тварин вибірково розділили на 10 дослідних груп по 20 щурів у кожній групі ($n = 20$): I група – контроль (щури з ЕГ + ЕОА без «лікування»); II група отримувала L-тироксин (Т) у дозі 1,5 мкг/кг внутрішньошлунково (в/ш); III група – диклофенак натрію (Д) у дозі 10 мг/кг в/ш; IV група –

Т + Д у відповідних дозах в/ш; V група – ібупрофен (І) у дозі 5 мг/кг в/ш; VI група – Т + І у відповідних дозах в/ш; VII група – мелоксикам (Мел) у дозі 10 мг/кг в/ш; VIII група – Т + Мел у відповідних дозах в/ш; IX група – парацетамол (П) у дозі 150 мг/кг в/ш; X група – Т + П у відповідних дозах в/ш. Вибір препаратів заснований на вимогах настанов для первинної медичної допомоги з лікування остеоартрозу й гіпотиреозу (<http://guidelines.moz.gov.ua>).

Введення препаратів здійснювали щоденно з 42 доби експерименту на фоні наростання патологічних змін упродовж 5 дб у дозах та за шляхів уведення, наведених вище. Для отримання однорідної суспензії для в/ш введення таблетованих форм використовували розчин Твіну-80 (Полісорбат 80, Україна).

Зміни спонтанної поведінкової активності тварин вивчали в тесті «відкрите поле». Визначали рухову активність, орієнтовно-дослідницьку діяльність і вегетативні реакції, використовуючи майданчик розміром 100 × 100 см з білими вертикальними стінками висотою 40 см, розбитий на 16 квадратів і 9 отворів – «нірок» діаметром 5 см. Щура розташовували в центрі поля та спостерігали за ним упродовж 3 хв. За цей час рахували кількість пересічених горизонтальних квадратів (горизонтальна рухова активність), кількість обстежених «нірок» (орієнтовно-дослідницька активність), кількість стійок на задніх лапах (вертикальна рухова активність), тривалість грумінга та кількість болюсів дефекацій (емоційна активність) [4–7, 13]. Оцінку змін у тесті «відкрите поле» проводили у вихідному стані (BC), на 42 добу та на 47 добу експерименту.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакета програм Statistica 6.1 (StatSoftInc., серійний номер AGAR909E415822FA) з розрахунком середніх арифметичних значень (M) та їхніх похибок ($\pm m$). Вірогідність різниці середніх арифметичних (p) значень показників проводили за допомогою непараметричного – U-критерію Манна-Уїтні. Встановлення вірогідності внутрішньогрупових і міжгрупових від-

мінностей проводили за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента та методу однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Відмінності вважали статистично достовірними в разі $p \leq 0,05$. Перед застосуванням параметричних критеріїв проводили перевірку гіпотези щодо нормального закону розподілу випадкових величин.

Результати та їх обговорення. За аналізу отриманих результатів встановлено, що на 42 добу експерименту (пік формування патологічних змін) у всіх групах спостерігалось пригнічення спонтанної поведінкової активності та емоційної лабільності тварин порівняно з BC ($p \leq 0,05$).

Так, у I групі кількість пересічених квадратів знизилась на 82,50 % порівняно з BC, у II групі – на 62,93 %, у III групі – на 60,0 %, у IV групі – на 57,50 %, у V групі – на 59,60 %, у VI групі – на 70,20 %, у VII групі – на 71,10 %, у VIII групі – на 75,30 %, у IX групі – на 43,63 % і в X групі – на 64,96 % (таблиця).

За кількістю заглядань у «нірки» у I групі ці показники зменшились на 70,60 %, у II групі – на 78,66 %, у III групі – на 70,30 %, у IV групі – на 81,20 %, у V групі – на 55,40 %, у VI групі – на 66,15 %, у VII групі – на 72,20 %, у VIII групі – на 60,0 %, у IX групі – на 58,30 % і в X групі – на 82,0 % (таблиця).

За показником вертикальних стійок на 42 добу експерименту в I групі ці значення зменшились на 83,0 %, у II групі – на 85,10 %, у III групі – на 80,56 %, у IV групі – на 78,10 %, у V групі – на 56,06 %, у VI групі – на 67,27 %, у VII групі – на 82,28 %, у IX групі – на 74,14 % і в X групі – на 89,66 % (таблиця).

За показниками емоційного компоненту в I групі встановлено зменшення актив грумінга на 42 добу експерименту на 40,0 %, у II групі – на 77,27 %, у III групі – на 78,26 %, у IV групі – на 66,70 %, у VI групі – на 67,27 %, у VII групі – на 62,50 % і в IX групі – на 33,33 % та за кількістю болюсів дефекації значення знизились у V групі на 42,85 % і в IX групі на 44,44 % (таблиця).

**Показники спонтанної поведінкової активності щурів на фоні введення
нестероїдних протизапальних засобів за умов моделювання гіпотиреозу та
остеоартрозу**

Препарат і доза	Критерій оцінки в тесті «відкрите поле»	Термін дослідження		
		вихідний стан	через 42 доби	через 47 діб
<i>I група</i> Експерименталь- ний гіпотиреоз + Експерименталь- ний остеоартроз (n = 20)	Квадрати	25,75 ± 4,21	4,50 ± 0,84*	12,12 ± 2,08*
	Нірки	8,50 ± 1,43	2,50 ± 0,42*	2,25 ± 0,56*
	Стійки	6,62 ± 1,18	1,12 ± 0,37*	1,75 ± 0,41*
	Грумінг	1,25 ± 0,28	0,75 ± 0,18*	0,62 ± 0,18*
	Болюси	0,87 ± 0,28	0,87 ± 0,17	1,50 ± 0,28*
<i>II група</i> L-тироксин 1,5 мкг/кг (n = 20)	Квадрати	27,75 ± 4,70	10,75 ± 1,84*,**	13,12 ± 2,17*,**
	Нірки	10,25 ± 1,65	2,0 ± 0,44*,**	5,12 ± 1,02*,**
	Стійки	9,25 ± 1,68	1,37 ± 0,31*,**	4,12 ± 0,69*,**
	Грумінг	2,75 ± 0,61	0,62 ± 0,18*,**	1,87 ± 0,35*,**
	Болюси	1,62 ± 0,33	1,12 ± 0,25	1,37 ± 0,34
<i>III група</i> Диклофенак натрію 10 мг/кг (n = 20)	Квадрати	28,37 ± 4,56	11,25 ± 1,9*,**	19,75 ± 3,19*,**
	Нірки	8,0 ± 1,31	2,37 ± 0,62*,**	3,50 ± 0,61*,**
	Стійки	9,0 ± 1,46	1,75 ± 0,34*,**	1,37 ± 0,31*,**
	Грумінг	2,88 ± 0,51	0,63 ± 0,18*,**	1,50 ± 0,28*,**
	Болюси	1,63 ± 0,30	1,25 ± 0,29	1,38 ± 0,31*,**
<i>IV група</i> Диклофенак натрію + L-тироксин (n = 20)	Квадрати	28,50 ± 4,65	12,12 ± 1,97*,**	25,62 ± 5,03
	Нірки	9,62 ± 1,59	1,75 ± 0,34*,**	8,75 ± 1,49
	Стійки	9,12 ± 1,49	2,0 ± 0,35*,**	8,12 ± 1,37
	Грумінг	2,25 ± 0,46	0,75 ± 0,18*,**	1,37 ± 0,30*,**
	Болюси	1,37 ± 0,30	1,12 ± 0,20	1,12 ± 0,25
<i>V група</i> Ібупрофен 5 мг/кг (n = 20)	Квадрати	35,25 ± 6,13	14,25 ± 2,77*,**	25,37 ± 4,7*,**
	Нірки	9,25 ± 1,58	4,12 ± 0,90*,**	8,37 ± 1,40
	Стійки	8,25 ± 1,38	3,62 ± 0,93*,**	5,37 ± 1,02
	Грумінг	1,62 ± 0,33	1,25 ± 0,36	1,50 ± 0,47
	Болюси	0,87 ± 0,23	0,50 ± 0,17*,**	1,12 ± 0,25
<i>VI група</i> Ібупрофен + L-тироксин (n = 20)	Квадрати	27,25 ± 4,72	8,12 ± 1,32*,**	21,75 ± 3,45*,**
	Нірки	8,12 ± 1,37	2,75 ± 0,57*,**	6,87 ± 1,15
	Стійки	6,87 ± 1,22	2,25 ± 0,44*,**	5,62 ± 0,93
	Грумінг	1,75 ± 0,38	1,12 ± 0,20*,**	1,12 ± 0,20*,**
	Болюси	1,50 ± 0,50	1,37 ± 0,26	1,62 ± 0,33
<i>VII група</i> Мелоксикам 10 мг/кг (n = 20)	Квадрати	33,75 ± 5,49	9,75 ± 1,7*,**	16,75 ± 2,82*,**
	Нірки	6,75 ± 1,26	1,88 ± 0,38*,**	2,0 ± 0,44*,**
	Стійки	9,87 ± 1,79	1,75 ± 0,56*,**	3,50 ± 0,75*,**
	Грумінг	1,0 ± 0,35	0,38 ± 0,16*,**	1,75 ± 0,34*,**
	Болюси	1,12 ± 0,26	1,0 ± 0,27	1,50 ± 0,28

Препарат і доза	Критерій оцінки в тесті «відкрите поле»	Термін дослідження		
		вихідний стан	через 42 доби	через 47 діб
VIII група Мелоксикам + L-тироксин (n = 20)	Квадрати	26,88 ± 4,47	6,63 ± 1,18*,**	13,88 ± 2,42*,**
	Нірки	8,75 ± 1,55	3,50 ± 0,61*,**	3,88 ± 0,87*,**
	Стійки	7,13 ± 1,29	7,12 ± 0,52	5,0 ± 0,92
	Грумінг	2,50 ± 0,53	1,75 ± 0,44	1,63 ± 0,29*,**
	Болюси	2,0 ± 0,47	1,50 ± 0,39	2,0 ± 0,47
IX група Парацетамол 150 мг/кг (n = 20)	Квадрати	29,50 ± 4,82	16,62 ± 2,78*,**	17,25 ± 2,83*,**
	Нірки	7,50 ± 1,23	3,12 ± 0,57*,**	5,25 ± 0,95
	Стійки	7,25 ± 1,24	1,87 ± 0,38*,**	4,0 ± 0,83*,**
	Грумінг	1,50 ± 0,28	1,0 ± 0,22*,**	1,50 ± 0,28
	Болюси	1,12 ± 0,25	0,62 ± 0,18*,**	1,0 ± 0,27
X група Парацетамол + L-тироксин (n = 20)	Квадрати	29,25 ± 5,09	10,25 ± 1,86*,**	12,38 ± 2,13*,**
	Нірки	6,25 ± 1,16	1,12 ± 0,26*,**	3,38 ± 0,78*,**
	Стійки	10,88 ± 1,99	1,12 ± 0,30*,**	9,38 ± 1,61*,**
	Грумінг	2,13 ± 0,63	1,37 ± 0,41	1,88 ± 0,47
	Болюси	1,50 ± 0,32	0,63 ± 0,24	1,25 ± 0,33

Примітка. *Значення достовірні ($p \leq 0,05$) порівняно з ВС відповідної групи, **значення достовірні ($p \leq 0,05$) порівняно з відповідним показником I групи.

Виявлені зміни в тесті «відкрите поле» свідчать про пригнічення рухової та дослідницької активності тварин на фоні наростання патологічних змін під впливом експериментальних моделей. Зменшення рухової активності може також свідчити про розвиток болю в колінних суглобах тварин, що обмежує їхнє пересування. Вегетативний компонент емоційних реакцій зменшився в усіх групах тварин, що за даними літератури є проявом пригнічення емоційної лабільності щурів за умов стресу [13].

Таким чином, отримані дані на 42 добу експерименту відображають пригнічення спонтанної поведінкової активності та емоційної лабільності щурів на тлі наростання патологічних змін та підтверджують адекватність використаних експериментальних моделей.

За аналізу отриманих результатів на 47 добу експерименту встановлено, що в I групі щурів спостерігалось подальше пригнічення рухової та дослідницької активності на тлі наростання патологічних змін під впливом експериментальних моделей ($p \leq 0,05$). Зокрема, протягом 47 діб рухова активність за показ-

никами пересічених квадратів знизилась на 52,90 % і за кількістю вертикальних стійок зменшилась на 73,58 %. При цьому кількість заглядань у «нірки» зменшилась на 73,52 %, а кількість актів грумінга була зниженою на 50 %, у той час як кількість болюсів дефекації підвищилась на 71,40 % порівняно з показниками ВС (таблиця).

Таким чином, спостерігалось подальше пригнічення рухової та дослідницької активності тварин на фоні наростання патологічних змін під впливом експериментальних моделей та за відсутності прийому препаратів. Проте підвищення кількості болюсів дефекації на фоні зниження актів грумінга свідчить про тенденцію до підвищення емоційної лабільності щурів за умов стресу та поступову активацію вегетативної нервової системи за подальшого розвитку патологічних станів.

За умов отримання Т (II група) у дозі 1,5 мкг/кг спостерігались наступні зміни рухової активності: кількість пересічених квадратів на 42 добу моделювання еквівалентів ЕГ і ЕОА була знижена на 62,93 %, а після 5-денного введення Т цей показник був знижений

на 52,70 % відносно ВС. Кількість заглядань у «нірки» на 47 добу знизилась на 50,0 %, а кількість вертикальних стійок на 47 добу – на 50,0 % відносно ВС. У той самий час ці самі показники в І групі знизились на 52,91 %, 73,52 % та 73,58 % відповідно відносно ВС. Психоемоційний стан тварин за умов отримання Т (ІІ група) на 47 добу дослідження характеризувався зниженням кількості актів грумінга на 31,80 % відносно ВС (таблиця).

Отже, отримані результати висвітлюють тенденцію до відновлення показників спонтанної поведінкової активності (відносно ВС), що порівняно з показниками І групи свідчить про спроможність Т впливати на сформовані патологічні моделі. Вегетативний компонент емоційних реакцій у щурів ІІ групи характеризувався пригніченням емоційної лабільності за умов застосування Т.

Застосування Д (ІІІ група) на 47 добу призвело до зниження кількості пересічених квадратів, стійок і заглядань у «нірки» на 30,40 %, 84,70 % і 56,25 % відповідно, а кількість актів грумінга та болюсів знизилась на 47,80 % і 15,39% відповідно порівняно з ВС (таблиця).

У разі застосування Д сумісно з Т (ІV група) спостерігався більш виражений вплив препаратів на спонтанну поведінкову реакцію щурів порівняно з ВС. Проте статистично достовірні результати отримані тільки за кількістю актів грумінга, які зменшилися на 38,88 % порівняно з ВС (таблиця).

Таким чином, Д сумісно з Т сприяє більш ефективному відновленню рухової та дослідницької активності порівняно з самим тільки Т, а вегетативний компонент емоційних реакцій у щурів ІІІ і ІV груп на 47 добу характеризувався пригніченням емоційної лабільності.

За умов застосування І (V група) статистично достовірні результати на 47 добу експерименту отримані тільки за показником кількості пересічених квадратів, який був знижений на 28,01 % порівняно з ВС. Сумісне призначення І і Т (VI група) на 47 добу експерименту призвело до зниження порівняно з ВС кількості пересічених квадратів на 20,18 %, а кількості актів грумінга – на 35,71% (таблиця).

Отже, застосування І сприяє більш ефективному відновленню рухової та дослідницької активності щурів (порівняно з ВС), ніж комбіноване призначення І і Т. Проте терапія І супроводжувалась зростанням емоційної лабільності експериментальних тварин.

За аналізу результатів 5-денного введення Мел (VII група) встановлено достовірне ($p \leq 0,05$) зниження кількості пересічених квадратів, стійок і заглядань у «нірки» на 50,37 %, 64,57 % і 70,37 % відповідно, а за кількістю актів грумінга – на 75,0 % порівняно з ВС. У разі застосування Мел сумісно з Т (VIII група) на 47 добу експерименту встановлено зниження показників рухової та дослідницької активності щурів за кількістю пересічених квадратів і заглядань у «нірки» на 48,37 % і 45,61 % відповідно, а за кількістю актів грумінга – на 35,0 % відносно ВС (таблиця).

Таким чином, призначення Мел сумісно з Т сприяє більш ефективному відновленню показників спонтанної поведінкової активності (порівняно з ВС), ніж ізольоване використання Мел, проте призначення тільки Мел призводить до підвищення емоційної лабільності щурів.

За введення П (IX група) кількість пересічених квадратів та стійок на 47 добу дослідження знизилась на 41,53 % і 44,80 % відповідно порівняно з ВС. За сумісного застосування П і Т (X група) кількість пересічених квадратів, стійок і заглядань у «нірки» на 47 добу експерименту знижується на 57,69 %, 13,79 % і 46,0 % відповідно порівняно з ВС (таблиця).

Аналіз отриманих результатів у групах IX і X встановив, що застосування П і Т сприяє більшому пригніченню рухової та дослідницької активності щурів, проте використання самого лише П практично не змінює емоційний стан експериментальних тварин.

Висновки

1. ЕГ і ЕОА викликають погіршення рухової та дослідницької активності щурів на тлі наростання патологічних змін з боку функціонального дефіциту ЦЗ та опорно-рухового апарату.

2. Базова замісна фармакотерапія Т сприяє відновленню рухової та дослідницької активності щурів за умов еквівалентів ЕГ і ЕОА.
 3. Комбінація нестероїдних протизапальних засобів з базовою замісною фармакотерапією Т сприяє змінам рухової та дослідницької активності щурів за умов еквівалентів ЕГ і ЕОА та має різний вплив на показники спонтанної поведінкової активності.
 4. Виявлена різна ефективність нестероїдних протизапальних засобів за комбінованого застосування з Т за умов еквівалентів ЕГ і ЕОА потребує подальшого дослідження.
1. Гриб В. А. Оцінка когнітивних функцій у щурів при експериментальному гіпотиреозі / В. А. Гриб, М. Р. Герасимчук // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2017. – № 2 (48). – С. 110–113.
 2. Носівець Д. С. Патологія кісткової та хрящової тканин на фоні тиреоїдної дисфункції / Д. С. Носівець // Матеріали XIX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2015. – С. 298.
 3. Демченко О. М. Когнітивна активність щурів за умов дисфункції щитоподібної залози / О. М. Демченко // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3 (109), № 2. – С. 127–132.
 4. Демченко О. М. Психоемоційний статус щурів за умов дисфункції щитовидної залози / О. М. Демченко // Медичні перспективи. – 2017. – Т. XIX, № 1. – С. 10–15.
 5. Impaired learning and memory performance in a subclinical hypothyroidism rat model induced by hemi-thyroid electrocauterisation / J. F. Ge, L. Peng, C. M. Hu, T. N. Wu // J Neuroendocrinol. – 2012. – V. 24 (6). – P. 953–61.
 6. Exploratory behavior, learning ability, and thyroid hormonal responses to stress in female rats rehabilitating from postnatal hypothyroidism / V. Tamasy, E. Meisami, J. Z. Du, P. S. Timiras // Dev Psychobiol. – 1986. – V. 19 (6). – P. 537–53.
 7. Effects of thyroid hormones on memory and on Na(+), K(+)-ATPase activity in rat brain / E. A. Reis-Lunardelli, C. C. Castro, C. Bavaresco [et al.] // Curr Neurovasc Res. – 2007. – V. 4 (3). – P. 184–93.
 8. Effects of an acute treatment with L-thyroxine on memory, habituation, danger avoidance, and on Na⁺, K⁺-ATPase activity in rat brain / E. A. Reis-Lunardelli, M. R. Ramirez, C. C. Castro [et al.] // Curr Neurovasc Res. – 2007. – V. 4 (4). – P. 259–67.
 9. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry / C. Guingamp, P. Gegout-Pottie, L. Philippe [et al.] // Arthritis Rheum. – 1997. – V. 40, № 9. – P. 1670–1679.
 10. El-Bakry A. M. Comparative study of the effects of experimentally induced hypothyroidism and hyperthyroidism in some brain regions in albino rats / A. M. El-Bakry, A. W. El-Gareib, R. G. Ahmed // Int. J. Devl Neuroscience. – 2010. – V. 28. – P. 371–389.
 11. Effect of experimentally induced hypothyroidism and its treatment by thyroxine on the number of follicles in an ovary of wistar rats / A. Ilyas, I. Ishaque, N. Qamar, K. Parveen // Journal of Rawalpindi Medical College (JRMCC). – 2015. – V. 19 (1). – P. 84–88.
 12. Argumedo G. S. Experimental models of developmental hypothyroidism / G. S. Argumedo, C. R. Sanz, H. J. Olguin // Horm Metab Res. – 2012. – V. 44. – P. 79–85.
 13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств; под ред. А. Н. Миронова. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.

Д. С. Носівець

Вплив нестероїдних протизапальних засобів на руховий, дослідницький та емоційний статус щурів у тесті «відкрите поле» за умов експериментального гіпотиреозу й остеоартрозу

Захворювання щитоподібної залози відносяться до актуальної проблеми сучасного суспільства в зв'язку з постійним поширенням даної патології та пов'язаними з цими захворюваннями змінами з боку опорно-рухового апарату.

Мета дослідження – вивчити вплив нестероїдних протизапальних засобів за умов експериментального гіпотиреозу й остеоартрозу на спонтанну поведінку щурів.

Дослідження проведені на 200 білих безпородних щурах, яким шляхом внутрішньосуглобового введення розчину моноіодоцтової кислоти відтворений експериментальний остеоартроз і шляхом ентерального введення 0,02 % розчину карбімазолу відтворений експериментальний гіпотиреоз. Зміни рухової та дослідницької активності тварин вивчені в тесті «відкрите поле».

Встановлено, що застосування нестероїдних протизапальних засобів з базовою замісною фармакотерапією L-тироксином сприяє змінам рухової та дослідницької активності щурів за умов експериментальних еквівалентів гіпотиреозу й остеоартрозу та має різний вплив на показники спонтанної поведінкової активності.

Ключові слова: гіпотиреоз, остеоартроз, нестероїдні протизапальні засоби, базова фармакотерапія, рухова та дослідницька активність, тест «відкрите поле»

Д. С. Носивець

Влияние нестероидных противовоспалительных средств на двигательный, исследовательский и эмоциональный статус крыс в тесте «открытое поле» в условиях экспериментального гипотиреоза и остеоартроза

Заболевания щитовидной железы относятся к актуальной проблеме современного общества в связи с постоянным распространением данной патологии и со связанными с этими заболеваниями изменениями со стороны опорно-двигательного аппарата.

Цель исследования – изучить влияние нестероидных противовоспалительных средств в условиях экспериментального гипотиреоза и остеоартроза на спонтанное поведение животных.

Исследование проведено на 200 белых беспородных крысах, которым путем внутрисуставного введения раствора моноиодуксусной кислоты воспроизведен экспериментальный остеоартроз и путем энтерального введения 0,02 % раствора карбимазола воспроизведен экспериментальный гипотиреоз. Изменения двигательной и исследовательской активности животных изучены в тесте «открытое поле».

Установлено, что применение нестероидных противовоспалительных средств с базовой заместительной фармакотерапией L-тироксинном способствует изменениям двигательной и исследовательской активности крыс в условиях экспериментальных эквивалентов гипотиреоза и остеоартроза и имеет разное влияние на показатели спонтанной поведенческой активности.

Ключевые слова: гипотиреоз, остеоартроз, нестероидные противовоспалительные средства, базовая фармакотерапия, двигательная и исследовательская активность, тест «открытое поле»

D. S. Nosivets

An influence of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the motor, research and emotional status of rats in the open field test under experimental hypothyroidism and osteoarthritis

Diseases of the thyroid gland are actual problem of modern medicine in connection with the wide, constant spread of this pathology and with the associated with these diseases changes in the musculoskeletal system.

The aim of the study was to evaluate the influence of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in experimental hypothyroidism and osteoarthritis on spontaneous behavior of animals.

The study was conducted on 200 white outbred rats, whom by intraarticular injection of a solution of monoiodoacetic acid, reproduced experimental osteoarthritis and by enteral administration of a 0,02 % solution of carbimazole reproduced experimental hypothyroidism. The motor and research activity of animals were studied in the «open field» test, the level of motor activity was characterized by the number of crossed squares (horizontal activity) and the number of racks (vertical activity). The changes in the research-emotional activity were estimated by the number of sightings and the number of acts of boluses and grooming. The assessment of behavioral changes was registered in the initial state, on 42 days of maximum manifestation of the disease with a peak of changes in the motor and research activity and for 47 days - 5-day therapy by L-thyroxine or NSAIDs with L-thyroxine.

It was found that the experimental hypothyroidism and osteoarthritis contribute to the deterioration of the motor and research activity of rats against the background of an increase in pathological changes (the functional deficit) of the thyroid gland and musculoskeletal system. The basic replacement pharmacotherapy with L-thyroxine promotes the restoration of the motor and research activity of rats under the conditions of experimental equivalents of hypothyroidism and osteoarthritis. The combination of NSAIDs with L-thyroxine base-line pharmacotherapy promotes changes in motor and research activity of rats under the experimental equivalents of hypothyroidism and osteoarthritis and has a different effect on spontaneous behavioral activity.

Key words: hypothyroidism, osteoarthritis, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, basic pharmacotherapy, motor and research activity, «open field» test

Надійшла: 21 грудня 2018 р.

Контактна особа: Носивець Д. С., кандидат медичних наук, кафедра фармакології та клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», буд. 9, вул. Володимира Вернацького, м. Дніпро, 49044. Тел.: + 38 0 67 739 91 17. Електронна пошта: dsnosivets@ukr.net

Л. В. Онищук

Вплив вагінальних супозиторіїв з протизапальною та протимікробною активністю на функціональні показники лейкоцитів крові щурів за умов експериментального вагініту

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

Ключові слова: експериментальний вагініт, супозиторії, лейкоцити, функціональні показники

Запальні захворювання сечостатевих органів у жінок – це складна й недостатньо вивчена проблема, яка може призвести до невиношування вагітності, безпліддя та порушення репродуктивного здоров'я жінки загалом. Серед причин безпліддя запальні процеси сечостатевих органів у жінок та їхні наслідки складають понад 75 % [1–3]. У разі потрапляння в організм збудника інфекційного або іншого запального захворювання розпочинають діяти механізми неспецифічного протиінфекційного захисту, а також формуватися клітинна та гуморальна специфічна щодо збудника імунна відповідь. На бактеріальні збудники переважно формується гуморальна імунна відповідь, а в разі формування відповіді на інтервенцію вірусів та інших внутрішньоклітинних патогенів переважає клітинна імунна відповідь [4–7].

У жінок, хворих на вагініт, характерними є зміни показників неспецифічної ефекторної системи. Відомо про зниження фагоцитарної активності поліморфноядерних лейкоцитів, їхньої захоплюючої здатності, можливо внаслідок значного зниження активності системи комплементу та концентрації природних антигін, що призводить до послаблення опсонізації бактерій, а також зменшення внутрішньоклітинного переварювання бактерій – бактерицидної активності та потенційної здатності до бактерицидної дії фагоцитуючих клітин [8].

Мета дослідження – визначити вплив вагінальних супозиторіїв з протизапальною та протимікробною активністю на функціональні показники лейкоцитів крові щурів за умов експериментального вагініту.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 35 щурах-самках лінії Wistar масою 200–220 г. У дослідженні використано модель експериментального вагініту (ЕВ), який відтворювали введенням у піхву тампона, зрошеного 10 % розчином азотнокислого срібла та його експозицією протягом 5 хв [9]. Як показали результати дослідження, введення в піхву означеного агента призводило до опіків і некрозу поверхневого шару слизової оболонки. Тварини були розподілені на 5 груп: 1 – інтактні тварини, контроль; 2 – тварини з моделюванням ЕВ; 3 – ЕВ + основа (О); 4 – ЕВ + новий комбінований досліджуваний препарат з протизапальною та протимікробною активністю у вигляді вагінальних супозиторіїв (ДП); 5 – ЕВ + препарат порівняння Нео-Пенотран®, ЕкселтісХелске С.Л., Іспанія у вигляді вагінальних супозиторіїв (ПП). Досліджуваний препарат містив ібупрофен 0,08 мг, клотримазол 0,4 мг і метронідазол 0,1 мг у вигляді супозиторіїв. Нео-Пенотран® у своєму складі мав міконазол 0,1 мг і метронідазол 0,5 мг. Обидва лікарські засоби включали ідентичну основу – вітепсол. Дозу досліджуваних препаратів розраховували з використанням коефіцієнтів перерахунку за Ю. Р. Риболєвським [10]. Тривалість введень складала 5 діб. Після завершення експерименту тварин виводили з дослідів відповідно до етичних принципів експериментів на

тваринах, ухвалених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2000 р.), що узгоджується з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

Забір крові в тварин здійснювали вранці після голодування (12 год), під легким ефірним наркозом. Для запобігання процесу згортання крові використовували гепарин (50 МО). Лейкоцити отримували в день експерименту з периферичної крові піддослідних тварин після гіпотонічного лізису еритроцитів [11]. Продукцію активних форм кисню (АФК) у лейкоцитах крові вимірювали, використовуючи 2',7'-дихлорофлуоресцеїн діацетат (2',7'-Dichlorofluorescein diacetate MW 485.27, 35845, Sigma-Aldrich) у кінцевій концентрації 25 мкмоль [12]. Інтенсивність випромінювання досліджуваних зразків реєстрували за каналом log FL1 (515–535 нм) на протоковому цитофлуориметрі COULTER EPICS XL (BeckmanCoulter, США), який оснащений аргонним лазером ($\lambda_{\text{збудж.}} = 488 \text{ нм}$) (рис. 1). Прийнято вважати, що інтенсивність флуоресценції 2',7'-дихлорофлуоресцеїн діацетату прямо пропорційна вмісту таких

АФК у клітинах, як гідроксил радикал $^{\circ}\text{OH}$ і пероксинітрит ONOO^- .

Оцінку перерозподілу між різними популяціями лейкоцитів проводили з використанням двох параметрів протокового цитофлуориметра: за величиною прямого (FS, розмір клітин) і бічного світлорозсіювання (SS, гранулярність клітин) (рис. 2). Для агранулоцитів (в основному це лімфоцити та частково моноцити) характерними є низька гранулярність (круглі ядра клітин) і відносно малі розміри клітини (6–8 мкм), у той час як гранулоцити (в основному це нейтрофіли, а також базофіли та еозинофіли) характеризуються високою гранулярністю (сегментоядерність клітин), та розміри клітини коливаються в діапазоні від 9–12 мкм.

Відсоток фагоцитуючих клітин і поглинання макрофагами живих бактерій у зразках було визначено з використанням флуоресцентних живих бактерій *Escherichia coli* за методикою, подібною до описаної [13]. Клітини інкубували 90 хв за 37 °С з живими флуоресцентними бактеріями *E. coli* в концентрації $6 \cdot 10^6$ бактерій/мл. Після відмивки було проведено аналіз на протоковому цитофлуориметрі за каналом log FL1 (515–535 нм). Прин-

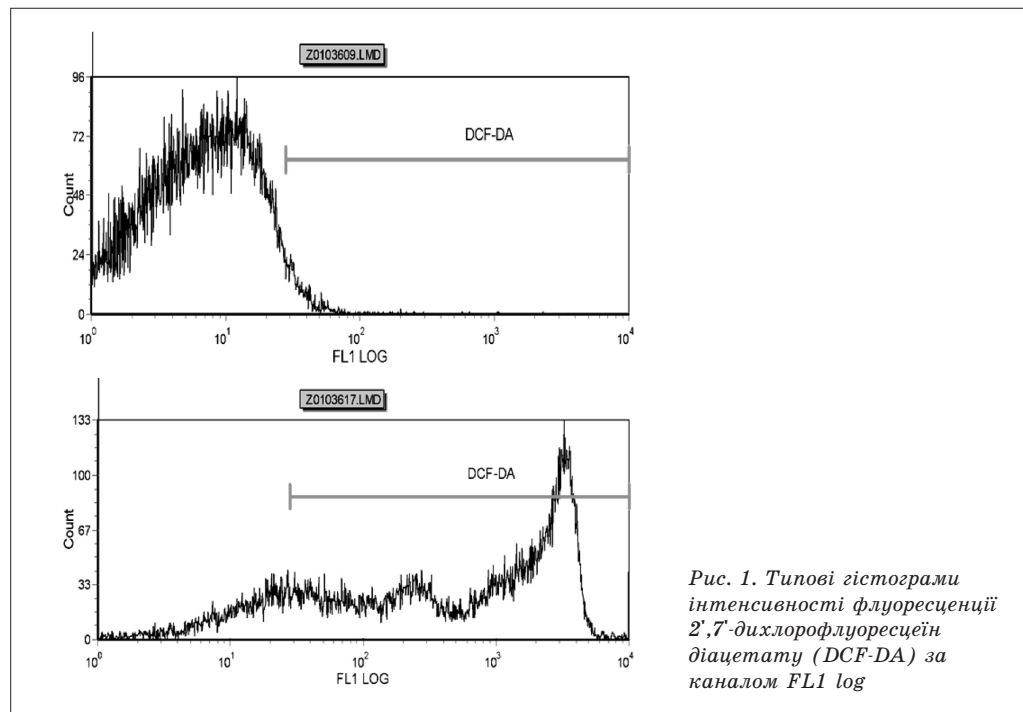


Рис. 1. Типові гістограми інтенсивності флуоресценції 2',7'-дихлорофлуоресцеїн діацетату (DCF-DA) за каналом FL1 log

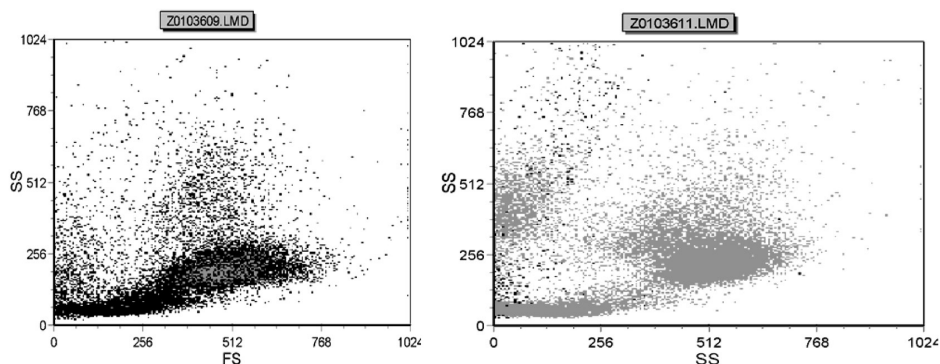


Рис. 2. Типова гістограма розподілу між популяціями лейкоцитів за величиною прямого (FS) і бічного світлорозсіювання (SS)

цип методу визначення фагоцитарної активності ґрунтується на поглинанні нейтрофілами, моноцитами та макрофагами (шляхом фагоцитозу) бактерій *E. coli*, що експресують зелений флуоресцентний протеїн з молекулярною масою 26,9 кДа, який флуоресцює зеленим світлом у разі збудження світлом синього кольору (лазером, 488 нм) (рис. 3). Відповідно, чим більше бактерій поглинула клітина, тим вища інтенсивність флуоресценції.

Було проаналізовано понад 10 000 подій з кожного зразка. Обробку результатів проводили за допомогою програми FCS Express V3.

Статистичну обробку отриманих вибірок даних методом протокової цитометрії проводили з застосуванням програми Origin Labversion 8.0. Результати надано у вигляді середнього значення (M) та середнього квадратичного відхилення ($\pm$ SD). Вірогідність розхо-

джень результатів аналізу між групами порівняння визначали методом однофакторного дисперсійного аналізу (one way ANOVA) з наступним тестом Tukey (post-hoc test). Відмінності між групами вважали статистично значущими в разі $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. ЕВ характеризується інфільтрацією нейтрофілів і меншою мірою макрофагів у слизову оболонку піхви та розвитком місцевого запалення [14], що позначається на функціональних змінах лейкоцитів крові. Для оцінки функціонального стану лейкоцитів і змін співвідношення між гранулярними та агранулярними лейкоцитами застосовано метод протокової цитометрії, який дозволив оцінити фагоцитарну активність, продукцію АФК, зміни співвідношення типів лейкоцитів.

Згідно з результатами експериментальних досліджень, отриманих за умов

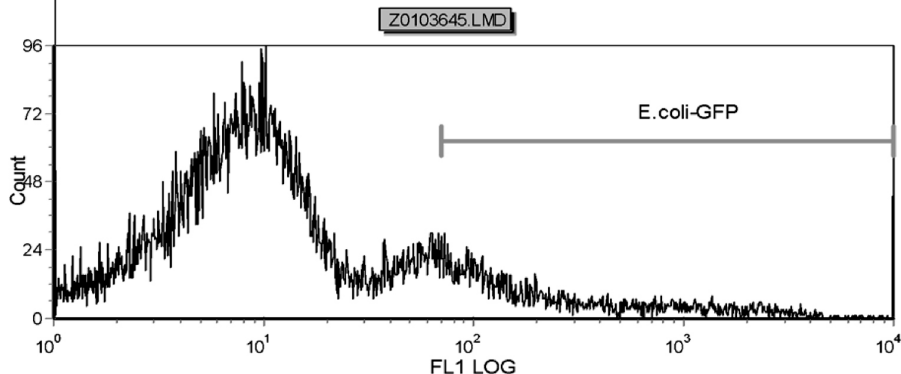


Рис. 3. Гістограма, що відображає фагоцитоз лейкоцитами флуоресцентних бактерій *E. coli* за каналом log FL1

ЕВ, у щурів були виявлені статистично значущі зміни у відсотковому співвідношенні між двома основними типами лейкоцитів у бік переважання гранулоцитів, а саме: гранулоцити периферичної крові в щурів з ЕВ становили 70,6 % проти 58,5 % у контролі (рис. 4). Ці результати вказують на збільшення кількості гранулярних лейкоцитів у периферичній крові, що пов'язано з відповіддю імунної системи дослідних тварин на запалення слизової оболонки піхви. Зміщення співвідношення лейкоцитів у бік гранулоцитів є системною відповіддю на розвиток запалення в піхві, що було виявлено в попередніх морфологічних дослідженнях [14]. Запалення супроводжується значною інфільтрацією нейтрофілів у слизову оболонку піхви [15], це викликає деструктивні зміни епітеліальної пластинки, втрату її цілісності, а також еміграцію запального інфільтрату в просвіт органа.

У групах, де використовували О, ДП і ПП, вірогідної різниці щодо групи з ЕВ не встановлено, розподіл типів лейкоцитів був у межах похибки. Тенденція до зміщення у бік агранулярних лейкоцитів під впливом ДП свідчить про часткове зменшення відповіді лейкоцитів периферичної крові та зменшення ознак запалення (рис. 4).

За показником відносної флуоресценції DCF-DA, що вказує на активність продукції АФК, якими утилізуються продукти фагоцитозу в лізомах лейкоцитів, виявлено більше ніж 2-разове

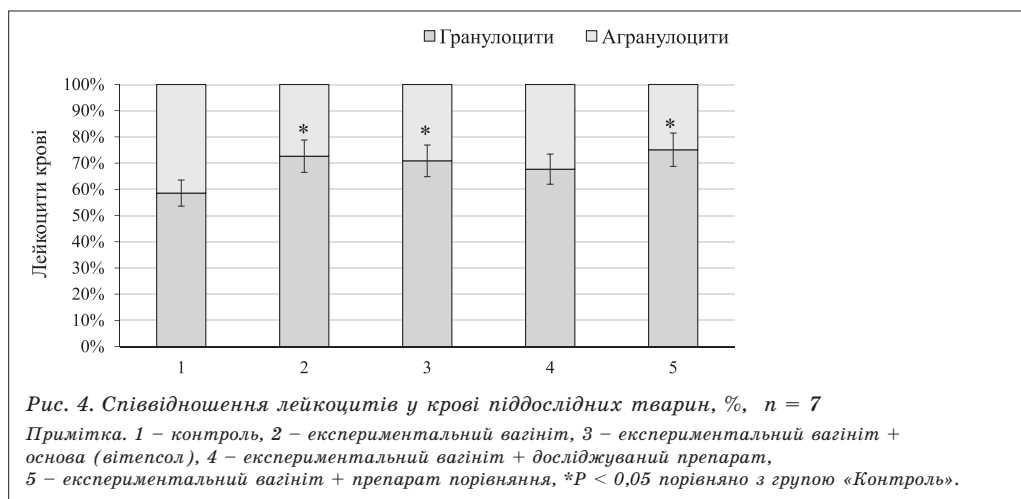
збільшення в гранулоцитах і часткове зниження АФК в агранулоцитах крові щурів з ЕВ порівняно з контрольною групою тварин ($P < 0,05$) (рис. 5). Це свідчить про гостру прозапальну реакцію гранулоцитів крові, які головним чином представлені нейтрофілами. Інфільтрацію нейтрофілів виявлено в слизовій оболонці піхви, тому показники є додатковим підтвердженням запалення та вказують на їхню функціональну активацію.

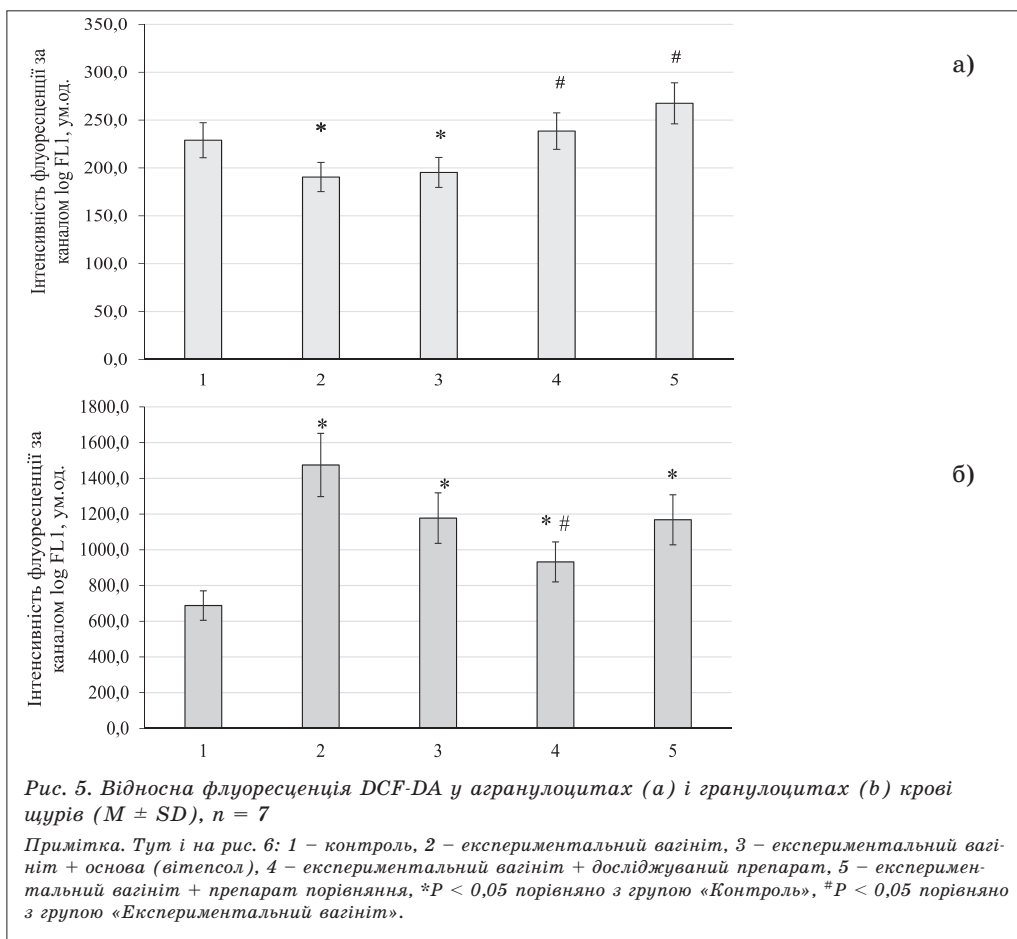
У групі з використанням ДП встановлено вірогідне зменшення значень флуоресценції DCF-DA в гранулоцитах та їхнє збільшення в агранулоцитах, що опосередковано вказує на зменшення прозапальної реакції та нормалізацію стану лейкоцитів периферичної крові.

У групі з ПП збільшення функціональної активності агранулоцитів було вірогідним ($P < 0,05$), а функціональна активність гранулоцитів статистично не відрізнялася від ЕВ.

Різниці за показником відносної флуоресценції DCF-DA гранулоцитів між групами з ЕВ, яким вводили О, не встановлено, тобто ці результати вказують на те, що за ЕВ відбувається активація ланки клітинного імунітету, який реалізується нейтрофілами.

Іншим функціональним показником лейкоцитів є їхня фагоцитарна активність, а саме показник фагоцитарного числа. У групі щурів з ЕВ встановлено достовірне зниження фагоцитарного числа в лейкоцитах на 27 %, тобто





кількості поглинутих бактерій/клітину (рис. 6). Це можна пояснити збільшенням у периферичній крові малодиференційованих гранулоцитів, зокрема, нейтрофілів, які в меншому ступені фагоцитують бактерії, а також виснаження цієї ланки клітинного імунітету на тлі пролонгації запального процесу в піхві щурів з ЕВ. За введення щуром з ЕВ О та ПП фагоцитарне число вірогідно не відрізнялося від групи з модельованим вагінітом, тоді як застосування ДП призвело до часткової нормалізації показника інтенсивності фагоцитозу лейкоцитами крові, що опосередковано вказує на відновлення імунної ланки периферичної крові, яка реалізується за участю фагоцитуючих гранулоцитів.

Таким чином, ЕВ характеризується розвитком місцевої запальної реакції, яка полягає в інфільтрації лейкоцитів у слизову оболонку піхви, фагоцитозом патогенної мікрофлори та продук-

тив розпаду загиблих клітин. Ці зміни супроводжуються одночасною системною імунною відповіддю організму на запалення, яка включає збільшення в периферичній крові кількості лейкоцитів, що реалізують фагоцитарну ланку імунітету. Остання реалізується нейтрофілами та моноцитами. Тому оцінка функціональної активності лейкоцитів дозволила оцінити стан імунної відповіді організму за експериментального вагініту та протизапальний вплив препаратів.

Як вже описано в гістологічних дослідженнях [14], зміни слизової оболонки піхви полягали в інфільтрації поліморфноядерних нейтрофілів і макрофагів, а методом протокової цитометрії додатково встановлено зміни розподілу лейкоцитів периферичної крові у бік переважання гранулоцитів, основну кількість яких складають поліморфноядерні нейтрофіли. У лейкоцитах відбувалося збільшення

продукції АФК і зменшення фагоцитарного числа в гранулоцитах. Це пояснюється активацією та інфільтрацією поліморфноядерних нейтрофілів з периферичної крові в тканини піхви та опосередковано вказує на збільшення кількості гранулоцитів за рахунок малодиференційованих нейтрофілів (юних, паличкоядерних). Застосування основи супозиторіїв вітепсолу сприяло частковому збереженню епітелію слизової оболонки, тобто запобігало деструктивним змінам у піхві [16].

Вплив ПП на запалення в піхві полягав у незначній дії проти інфільтрації поліморфноядерних нейтрофілів, а деструктивні зміни епітеліальної пластинки продовжували розвиватись. Зміни імунної ланки позначились на збільшенні кількості гранулоцитів у периферичній крові, що підтвердило наявність системної запальної відповіді. Зміни в продукції АФК і фагоцитарній активності статистично майже не відрізнялися від ЕВ.

Вплив досліджуваного препарату позначився на суттєвому зменшенні кількості та обсягу лейкоцитарних інфільтратів у слизову оболонку піхви, достовірному збільшенні товщини структурно збереженої епітеліальної пластинки. Дія ДП була статистично значимо більшою порівняно з О і ПП за морфологічними ознаками, у більшому ступені захищала слизову оболонку від прогресуючих дистрофічних змін порівняно з ПП. На рівні лейкоцитів периферичної крові також встановлено достовірне збільшення показників

фагоцитозу гранулоцитів, що має відношення головним чином до нейтрофілів. Дія ДП найімовірніше пов'язана з включенням до складу супозиторіїв протизапального інгредієнту – ібупрофену. Ібупрофен зменшує міграцію й агрегацію поліморфноядерних нейтрофілів [17], але не пригнічує продукцію АФК [18], тобто має протизапальний вплив без цитотоксичної дії. У попередньому дослідженні виявлено зменшення інфільтрації нейтрофілів у слизову оболонку піхви [14] і одночасне збільшення гранулоцитів у крові та відновлення активності фагоцитозу. Клотримазол також пригнічує міграцію нейтрофілів і не впливає на їхню життєздатність [19, 20]. У власних дослідженнях також було встановлено зменшення генерації АФК гранулярними лейкоцитами, тенденцію до підвищення фагоцитарного числа. Тобто, комбінація даних інгредієнтів у ДП збільшила протизапальну дію шляхом корекції функціональної активності лейкоцитів, а в комплексі з О запобігала деструктивним змінам і зроговінню епітелію слизової оболонки.

Таким чином, встановлено, що досліджені вагінальні супозиторії на моделі ЕВ *in vivo* впливають на розвиток місцевого запального процесу і позначаються на системній функціональній відповіді лейкоцитів. Збільшення співвідношення лейкоцитів у бік гранулоцитів й активація продукції АФК за ЕВ є достовірним свідченням розвитку запалення, а зменшення показників фагоцитозу в лейкоцитах периферичної крові

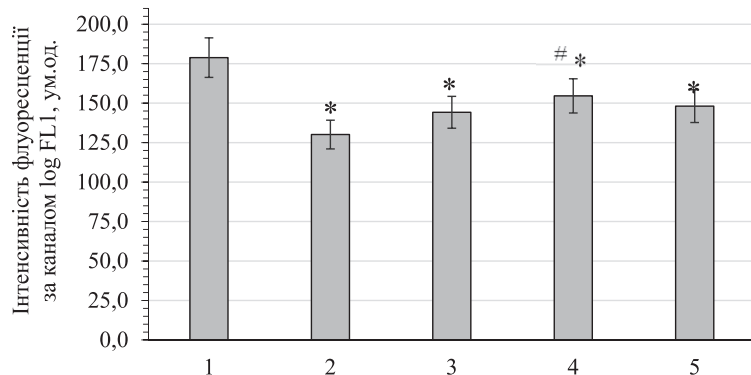


Рис. 6. Фагоцитарне число, виражене у відносній інтенсивності флуоресценції бактерій *E. coli* в одній клітині ($n = 7$)

пов'язано з частковим виснаженням імунної системи у відповідь на значну інфільтрацію поліморфноядерних нейтрофілів у слизову оболонку піхви. Дія ДП призводила до достовірного зменшення продукції АФК лейкоцитами периферичної крові, зменшення інфільтрації нейтрофілів у слизову оболонку піхви та проявів запалення. На основі структурних змін у слизовій оболонці піхви зроблено висновок про більш виразний ефект ДП порівняно з О та ПП, що пояснюється комплексною дією на епітелій піхви, пригніченням прозапальної інфільтрації та відновленням фагоцитарної активності лейкоцитів, як прояву природного неспецифічного імунітету.

Висновки

1. Досліджено функціональні показники лейкоцитів крові в щурів з ЕВ. Місцева запальна реакція позначилася на системній відповіді лейкоцитів периферичної крові: відбувається інтенсифікація продукції АФК у гранулярних лейкоцитах (за флуоресценцією DCF-DA) на 114,4 %, зменшення фагоцитарного числа гранулярних лейкоцитів на 27,2 %. Остан-

не є свідченням зменшенням фагоцитарної активності лейкоцитів периферичної крові за умов запального процесу в піхві.

2. Введення ДП сприяло нормалізації функціональних показників гранулярних лейкоцитів периферичної крові. Фармакологічна дія досліджуваних зразків позначилася на відновленні фагоцитарної активності лейкоцитів і зменшенні продукції АФК, на що вказує менший рівень флуоресценції DCF-DA. Співвідношення лейкоцитів статистично не відрізнялося від показників у контрольній групі. Дія ДП вказує на пригнічення прозапальної активації лейкоцитів периферичної крові, що є проявом пригнічення розвитку запального процесу.

3. Введення ПП показало тенденцію до нормалізації функціональних показників гранулярних лейкоцитів периферичної крові. Співвідношення лейкоцитів і зміни продукції АФК достовірно не відрізнялися від показників у групі з експериментальним вагінітом, що можна пояснити відсутністю протизапального компонента в даному лікарському засобі.

1. Современный взгляд на проблему бактериального вагиноза / П. Н. Веропотвелян, В. А. Потапов, Н. П. Веропотвелян [и др.] // Здоровье женщины. – 2009. – № 2 (38). – С. 143–147.
2. Нагорна В. Ф. Мікроекологія статевих шляхів у разі хронічних запальних процесів органів репродуктивної системи / В. Ф. Нагорна, Т. Е. Старушенко // Здоровье женщины. – 2009. – № 1 (37). – С. 154–156.
3. Epidemiologic, clinical and microbiological characteristics of nosocomial urinary infection in the spinal cord lesioned patient / G. E. Hernandez, P. F. Zamora, A. M. Martinez [et al.] // Adas Urol Esp. – 2007. – V. 31, № 7. – P. 764–770.
4. Медуницын Н. В. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных болезней / Н. В. Медуницын, В. И. Покровский. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 528 с.
5. Стан місцевого імунітету статевих та сечовивідних шляхів у жінок в нормі та за наявності інфекційної патології / О. В. Ромащенко, А. В. Руденко, Л. О. Либідь [та ін.] // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2005. – № 5. – С. 93–97.
6. Сингур О. А. Роль провоспалительных интерлейкинов (ИЛ-1а, ИЛ-8, ФНО-а) и оксида азота в патогенезе неосложненной гонореи / О. А. Сингур, В. Б. Туркутоков, Л. Г. Сингур // Вестник дерматологии и венерологии. – 2005. – № 5. – С. 35–36.
7. Use of an immunochromatographic assay for rapid detection of Trichomonas vaginal specimens / J. S. Huppert, B. E. Batteiger, P. Braslins [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2005. – № 43 (2). – P. 684–687.
8. Яковичук Н. Д. Клінічно-імунологічні дослідження стану клітинної та гуморальної ланки системи імунітету у жінок, хворих на бактеріальний вагініт / Н. Д. Яковичук, І. Й. Сидорчук // Буковинський медичний вісник. – 2010. – Т. 14, № 1 (53). – С. 101–104.
9. Патент 62115 України на корисну модель, МПК G 09 B 23/28, A 61 K 33/38. Спосіб моделювання асептичного запалення слизової оболонки піхви / Степанова К. О., Должикова О. В., Малоштан Л. М., Малоштан А. В.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № 2011 01356; заявл. 07.02.2011; опубл. 10.08.2011, Бюл. № 15.
10. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.

11. Vuorte J. Evaluation of red blood cell lysing solutions in the study of neutrophil oxidative burst by the DCFH assay / J. Vuorte, S. E. Jansson, H. Repo // *Cytometry*. – 2001. – V. 43, № 4. – P. 290–296.
12. Вплив інгібіторів полі(ADP-рибозо)полімерази на деякі показники оксидативного стресу в лейкоцитах крові за стрептозототичного діабету у щурів / М. М. Гузик, К. О. Дякун, Л. В. Яніцька, Т. М. Кучмеровська // *Український біохімічний журнал*. – 2013. – Т. 85, № 1. – С. 62–70.
13. A Simple Assay to Measure Phagocytosis of Live Bacteria / H. Bicker [et al.] // *Clinical Chemistry*. – 2008. – V. 54, № 5. – P. 911–915.
14. Nizhenkovska I. Efficacy study of vaginal suppositories with anti-inflammatory and antimicrobial effect on a model of experimental vaginitis / I. Nizhenkovska, L. Onyshchuk, S. Savosko // *Recipe*. – 2018. – № 6. – С. 834–843.
15. Novel Mechanism behind the Immunopathogenesis of Vulvovaginal Candidiasis: «Neutrophil Anergy» / Yano J., Peters B. M., Noverr M. C. [et al.] // *Infect Immun*. – 2018. – V. 86, Is. 3. – 12 p.
16. Чахирова А. А. Разработка технологии и анализ суппозиторий противовоспалительного действия / А. А. Чахирова, В. А. Чахирова // *Фармация и фармакология*. – 2015. – № 4. – С. 21–24.
17. Effect of ibuprofen on neutrophil migration *in vivo* in cystic fibrosis and healthy subjects / M. W. Konstan, J. E. Krenicky, M. R. Finney [et al.] // *J Pharmacol Exp Ther*. – 2003. – V. 306 (3). – P. 1086–91.
18. The inactivation of the polymorphonuclear leukocyte by non-steroidal anti-inflammatory drugs / S. Abramson, H. Edelson, H. Kaplan [et al.] // *Inflammation*. – 1984. – Jun., 8 Suppl. – P. S103–8.
19. Davies R. R. Antifungal drugs affecting the chemotaxis of polymorphonuclear neutrophils / R. R. Davies, F. Zaini // *Sabouraudia*. – 1985. – V. 23 (2). – P. 119–23.
20. Azole derivative drugs inhibit neutrophil chemotaxis by blocking the Calcium permeant channel TRPM2 (140.12). S. Partida-Sanchez, A. Sumoza-Toledo, H. Bhagat [et al.] // *The Journal of Immunology*. – 2010. – April 1, 184 (1 Supplement) 140.12.

Л. В. Онищук

Вплив вагінальних супозиторіїв з протизапальною та протимікробною активністю на функціональні показники лейкоцитів крові щурів за умов експериментального вагініту

На моделі експериментального вагініту (ЕВ) оцінено функціональні показники лейкоцитів крові щурів за дії нового потенційного комбінованого лікарського засобу у вигляді вагінальних супозиторіїв.

Дослідження проведено на 35 щурах-самках лінії Wistar масою 200–220 г. Тварини були розподілені на 5 груп: 1 – інтактні тварини, контроль; 2 – тварини з модельованим ЕВ; 3 – ЕВ + основа (О); 4 – ЕВ + новий комбінований досліджуваний препарат з протизапальною та протимікробною активністю у вигляді вагінальних супозиторіїв; 5 – ЕВ + препарат порівняння Нео-Пенотран®, ЕкселтісХелске С.Л., Іспанія (вагінальні супозиторії). Досліджуваний препарат містив ібупрофен, клотримазол і метронідазол. Нео-Пенотран® у своєму складі мав міконазол і метронідазол. Обидва лікарські засоби включали ідентичну основу – вітепсол. Через 5 днів з часу моделювання ЕВ проведено дослідження крові щурів.

Згідно з результатами експериментальних досліджень, отриманими на моделі експериментального вагініту в щурів, були виявлені статистично значущі зміни в процентному співвідношенні/перерозподілі між двома основними типами лейкоцитів. Місцева запальна реакція позначилась на системній відповіді лейкоцитів периферичної крові: відбувається інтенсифікація продукції активних форм кисню (АФК) у гранулярних лейкоцитах (за флуоресценцією DCF-DA) на 114,4 %, зменшення фагоцитарного числа гранулярних лейкоцитів на 27,2 %.

Введення препарату порівняння показало тенденцію до нормалізації функціональних показників гранулярних лейкоцитів периферичної крові. Співвідношення лейкоцитів і зміни в продукції АФК статистично не відрізнялися від показників у групі з ЕВ, що пояснюється відсутністю протизапального компонента в даному лікарському засобі.

Використання досліджуваного препарату сприяло нормалізації функціональних показників гранулярних лейкоцитів периферичної крові. Фармакологічна дія досліджуваного комбінованого препарату позначилась на відновленні фагоцитарної активності лейкоцитів та зменшенні продукції АФК, що є проявом пригнічення запального процесу.

Ключові слова: експериментальний вагініт, супозиторії, лейкоцити, функціональні показники

Л. В. Онищук

Влияние вагинальных суппозиторий с противовоспалительной и противомикробной активностью на функциональные показатели лейкоцитов крови крыс в условиях экспериментального вагинита

На модели экспериментального вагинита (ЭВ) оценены функциональные показатели лейкоцитов крови крыс при действии нового потенциального комбинированного лекарственного средства в виде вагинальных суппозиторий.

Исследование проведено на 35 крысах-самках линии Wistar массой 200–220 г. Животные были разделены на 5 групп: 1 – интактные животные, контроль; 2 – животные с моделируемым ЭВ; 3 – ЭВ + основа; 4 – ЭВ + новый комбинированный исследуемый препарат с противовоспалительным и противомикробным действием в виде вагинальных суппозиториях; 5 – ЭВ + препарат сравнения Нео-Пенотран®, ЭкселтисХелске С.Л., Испания (вагинальные суппозитории). Исследуемый препарат содержал ибупрофен, клотримазол и метронидазол. Нео-Пенотран® в своем составе имел миконазол и метронидазол. Оба лекарственных средства включали идентичную основу – витепсол. Через 5 дней с момента моделирования ЭВ было проведено исследование крови крыс.

Согласно результатам экспериментальных исследований, полученным на модели ЭВ у крыс, были обнаружены статистически достоверные изменения в процентном соотношении/перераспределении двух основных типов лейкоцитов. Местная воспалительная реакция отразилась на системном ответе лейкоцитов периферической крови: происходит интенсификация продукции активных форм кислорода (АФК) в гранулярных лейкоцитах (по флуоресценции DCF-DA) на 114,4 %, уменьшение фагоцитарного числа гранулярных лейкоцитов на 27,2 %.

Введение препарата сравнения показало тенденцию к нормализации функциональных показателей гранулярных лейкоцитов периферической крови. Соотношение лейкоцитов и изменения продукции АФК статистически достоверно не отличались от показателей в группе с ЭВ, что объясняется отсутствием противовоспалительного компонента в данном лекарственном средстве.

Использование исследуемого препарата способствовало нормализации функциональных показателей в гранулярных лейкоцитах периферической крови. Фармакологическое действие исследуемого комбинированного препарата привело к восстановлению фагоцитарной активности лейкоцитов и уменьшению продукции АФК, что является проявлением уменьшения воспалительного процесса.

Ключевые слова: экспериментальный вагинит, суппозитории, лейкоциты, функциональные показатели

L. V. Onyshchuk

The influence of vaginal suppositories with anti-inflammatory and anti-microbial activity on the functional parameters of blood leukocytes under experimental vaginitis

On the model of experimental vaginitis (EV) functional parameters of blood leukocytes were evaluated under the influence of a new potential combined drug in the form of a vaginal suppositories.

The study was conducted on 35 female Wistar rats weighing 200–220 g. Animals were divided into 5 groups: 1 – intact animals, control; 2 – animals with simulated EV; 3 – EV + base; 4 – EV + a new combined study drug with anti-inflammatory and antimicrobial activity in the form of vaginal suppositories; 5 – EV + Neo-Penotran®, Excelles Helske SL, Spain in the form of a vaginal suppositories. The study drug contains ibuprofen, clotrimazole and metronidazole, Neo-Penotran® – miconazole and metronidazole. Both drugs included an identical basis – vitepsol. Five days after the EV model, an examination of the rat blood was performed.

According to the results obtained on the model of EV in rats, statistically significant changes in the percentage/redistribution between the two major types of leukocytes were revealed. Local inflammatory reaction has affected the systemic response of leukocytes of peripheral blood: intensification of ROS products in granular leukocytes (by DCF-DA fluorescence) by 114,4 %, reduction of phagocytic number of granular leukocytes by 27,2 %.

The introduction of the comparison drug showed a tendency to normalize the functional parameters of granular leukocytes in peripheral blood. The ratio of two types leukocytes and changes in ROS products did not statistically differ from those in the experimental group with vaginitis due to the absence of an anti-inflammatory component in this drug.

The use of the study drug contributed to the normalization of functional parameters of granular leukocytes in peripheral blood. The pharmacological effect of the study drug combined the restoration of phagocytic activity of leukocytes and reduction of ROS products, which is a manifestation of inhibition of the inflammatory process.

Key words: experimental vaginitis, suppository, leukocytes, functional parameters

Надійшла: 8 квітня 2019 р.

Контактна особа: Онищук Людмила Валеріївна, асистент, кафедра фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 13, бульв. Тараса Шевченка, м. Київ, 01601. Тел.: + 38 0 93 907 48 47.
Електронна пошта: lucy.0n04@gmail.com

Н. М. Серединська¹, О. С. Суворова¹, К. С. Марченко-Толста²

Порівняльна оцінка протизапальної активності німесулідів та целекоксибу на фоні експериментального ревматоїдного артриту

¹Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

²Приватний вищий навчальний заклад «Київський медичний університет»

Ключові слова: експериментальний ревматоїдний артрит, протизапальна активність, німесулід, целекоксиб

Фармакотерапія ревматоїдного артриту (РА) є однією з найважливіших проблем медицини сьогодення [1]. За даної патології можуть ефективно використовуватися базисні препарати («хворобомодифікуючі»), зокрема, цитостатики, препарати золота, сульфаніламідів, протималарійні засоби, ліки біологічного походження, забезпечуючи тривалу ремісію, зменшуючи клінічні прояви захворювання, частково нормалізуючи функціонування суглобів і збереження хрящової тканини [1–5].

Водночас препарати зазначених фармакотерапевтичних груп викликають численні побічні ефекти або не проявляють належної активності в пацієнтів за РА, що зумовлює необхідність їхньої відміни. У таких випадках пацієнтам призначають нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) [6–8]. Доцільність застосування НПЗП обґрунтована їхньою специфічною фармакологічною активністю, що забезпечує їм здатність зменшувати запальну реакцію та больові відчуття завдяки пригніченню активності циклооксигенази (ЦОГ) та іншим механізмам [9–11]. Суттєве значення для терапії РА мало впровадження в практику охорони здоров'я в другій половині минулого сторіччя селективних інгібіторів ЦОГ-2, найширше застосування серед яких мав німесулід (НМ) [12–14]. Втішні результати щодо фармакотерапії РА були отримані клініцистами за застосування більш нового класу

НПЗП – коксибів, що відносять до високо селективних інгібіторів ЦОГ-2. На жаль, інгібітори ЦОГ-2 можуть проявляти негативний вплив на серцево-судинну систему [15, 16], однак їхня гастротоксична дія значно менша порівняно з інгібіторами ЦОГ-1, що може бути обґрунтованню їхнього переважного застосування. Фактично, у пацієнтів з низьким ризиком розвитку кардіальної патології більш виправданим є застосування селективних інгібіторів ЦОГ-2. Водночас стадійність розвитку (загострення) РА, на наш погляд, зумовлює доцільність диференційованого вибору препаратів групи селективних і високо селективних інгібіторів ЦОГ-2 з урахуванням їхнього впливу на окремі клінічні симптоми РА за умов тривалого застосування, чого потребує зазначене захворювання. Дані попередніх досліджень засвідчили наявність протинабрякової активності у НМ, причому в період згасання ад'ювантного артриту (АА) його антиексудативна дія перевищувала протинабрякову дію диклофенаку [17]. Натепер недостатньо інформації щодо оптимального вибору того чи іншого інгібітора ЦОГ-2 на різних стадіях ревматичного процесу з урахуванням можливості тривалого застосування ліків зазначеної групи.

Мета дослідження – дати порівняльну характеристику протинабрякової активності (ПНА) селективних інгібіторів ЦОГ-2 різних хімічних класів, НМ і целекоксибу (ЦК) за умов їхнього тривалого застосування на різних етапах розвитку експериментального РА.

Матеріали та методи. Досліди проведено на статевозрілих нелінійних білих щурах обох статей з вихідною масою

(158 ± 3,2) г, яких утримували на стандартному раціоні харчування за умов вільного доступу до води та їжі за умов дотримання вимог відповідних документів щодо гуманного поводження з тваринами. За рандомізації тварин виокремлено групи, до першої з яких віднесено інтактних щурів (n = 10). До другої (контрольної) групи входили щури, в яких викликали експериментальний РА – АА шляхом одноразового введення повного ад'юванта Фрейнда (АФ) в об'ємі 0,1 мл під апоневроз задньої кінцівки (n = 30) [18, 19]. Тваринам третьої та четвертої груп (по 10 щурів у кожній) через 60 хв після ін'єкції АФ вводили НМ і ЦК відповідно. Лікарські засоби вводили щоденно протягом 60 діб, один раз на одну добу на фоні розвитку патологічного процесу.

Зазначені лікарські засоби в терапевтично ефективних дозах, запозичених з літератури та перерахованих для тварин (для НМ – 15 мг/кг, для ЦК – 15 мг/кг), вводили перорально через спеціальний металевий зонд у 1 % крохмальному клейстері. ПНА НПЗП оцінювали за величиною об'єму стопи, в яку було введено АФ, та зміною цього показника за дії НМ і ЦК. ПНА НПЗП розраховували

за загальноприйнятою формулою як співвідношення різниці приросту об'єму стопи в тварин контрольної та дослідної груп до приросту об'єму стопи в тварин контрольної групи. Реєстрацію об'єму стопи щура (в у. о.) здійснювали до індукції запалення, а також у гострий період розвитку АА (до 14 доби), у період його генералізації (21–42 доба) та згасання (42–60 доба) на плетизмометрі Ugo Basile (Італія).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням загальноприйнятих методів статистичного аналізу, що дозволяє визначити критерії достовірності Стюдента. Достовірними вважали відмінності в разі $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. Вихідне значення об'єму стопи для тварин усіх груп становило (1,06 ± 0,09) у. о. (n = 60). В інтактних тварин встановлені фізіологічні зміни об'єму стопи (зростання), що зумовлені збільшенням віку впродовж двомісячного терміну спостереження (таблиця). Первинна ексудативна реакція за АА відмічалася відразу після введення АФ, з 3 год. За умов патологічного процесу реєструвалося суттєве зростання об'єму ушкодженої

Таблиця

Об'єм стопи (у. о., $M \pm m$) і ступінь пригнічення запалення (%) за умов терапії німесулідом і целекоксибом експериментального ревматоїдного артриту в щурів

Група тварин	Термін спостереження, доба				
	7	14	28	42	60
Інтактні, n=10	1,06 ± 0,09	1,16 ± 0,10	1,17 ± 0,11	1,37 ± 0,12	1,28 ± 0,13
Ад'ювантний артрит, n = 30	2,14 ± 0,12*	2,25 ± 0,11*	2,15 ± 0,09*	2,12 ± 0,10*	2,0 ± 0,15*
Відсоток (до інтактних тварин)	+ 102	+ 94	+ 84	+ 55	+ 56
Ад'ювантний артрит + німесулід, n = 10	1,94 ± 0,08*	2,05 ± 0,20*	1,90 ± 0,14*	1,91 ± 0,10*	1,88 ± 0,11*
Протинабрюкова активність, %	10	9	12	10	6
Ад'ювантний артрит + целекоксиб, n = 10	1,72 ± 0,04* ^{#,Δ}	1,86 ± 0,06*	1,77 ± 0,08* ^{#,}	1,80 ± 0,05* ^{#,}	1,61 ± 0,04* ^{#,Δ}
Протинабрюкова активність, %	20	17	18	15	19,5

Примітки. * $p \leq 0,05$ відносно даних в інтактних тварин, [#] $p \leq 0,05$ відносно даних у тварин контрольної групи, ^Δ $p \leq 0,05$ відносно даних в тварин, лікованих НМ.

стопи щурів, починаючи з 1 доби після введення АФ. На 7 добу об'єм стопи збільшився на 102 % відносно даного показника, що реєструвався в інтактних тварин, і залишався суттєво більшим упродовж 60 дів спостереження.

Об'єм стопи за умов терапії НМ у гострий період і період маніфестації захворювання зменшувався на 8,8–11,6 % відносно даних у тварин контрольної групи. У всі періоди розвитку патологічного процесу ПНА НМ була на рівні 9–12 % і суттєво знижувалася до 6 % у період згасання АА.

Терапія ЦК призводила до більш позитивного результату, ніж НМ щодо зменшення набряку кінцівок у щурів. Особливо значущою ця різниця була через 7–14 дів і 60 дів після індукції запалення за щоденного введення ЦК. У зазначені періоди ЦК був суттєво ефективнішим за НМ, про що свідчать значення ПНА ЦК, що були вищими за ПНА НМ у 2,0 разу та в 1,89 разу (на 7 добу та на 14 добу відповідно) і в 3,25 разу через 60 дів після індукції запалення.

Вірогідно, отримані результати щодо протизапальної дії НМ і ЦК можна пояснити впливом цих препаратів на активність ЦОГ-2, що призводить до зниження утворення простагландинів, які беруть участь у формуванні запаль-

ної реакції. Зазначена відмінність ступеня протинабрякової дії досліджуваних НПЗП, вочевидь, зумовлена тим, що ЦК зменшує кількість простагландинів, переважно ПГІ₂, у зоні запалення, пригнічуючи ексудативну та проліферативну фази запалення. На відміну від ЦК, НМ зворотно блокує утворення ПГЕ₂ як в зоні запалення, так і у висхідних шляхах ноцицептивної системи. Крім того, НМ знижує концентрацію ПГН₂, з якого утворюється ПГЕ₂.

Висновки

1. Селективні інгібітори ЦОГ-2, НМ і ЦК, що проявляють антиексудативну дію за тривалого застосування на тлі експериментального РА, водночас не повною мірою сприяють нормалізації об'єму стопи.
2. ПНА ЦК суттєво перевищує активність НМ у гострий період розвитку запального процесу (у 2,0 разу та в 1,89 разу на 7 та 14 добу відповідно) та в період його згасання на 60 добу – у 3,25 разу.
3. Отримані результати можуть бути експериментальним обґрунтуванням вибору відповідного засобу для оптимізації фармакотерапії запального процесу ревматоїдного характеру в різні періоди його активності.

1. Насонов Е. Л. Рекомендации EULAR по лечению ревматоидного артрита – 2013: общая характеристика и дискуссионные проблемы / Е. Л. Насонов, Д. Е. Каратеев, Н. В. Чичасова // Научно-практическая ревматология. – 2013. – № 51. – С. 609–623.
2. Braun J. Methotrexate: Optimizing the Efficacy in Rheumatoid Arthritis / J. Braun // Ther. Adv. Musculoskelet Dis. – 2011. – V. 3, № 3. – P. 151–158.
3. Current evidence of a strategic approach to the management of rheumatoid arthritis with the disease modifying anti-rheumatic drugs: a systematic literature review informing the EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis / R. Knevel, M. Schoels, T. Huizinga [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2010. – V. 69. – P. 987–994.
4. Clifford D. H. Rituximab-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in rheumatoid arthritis / D. H. Clifford // Arch. Neurol. – 2011. – № 68. – P. 1156–1164.
5. Immune responses induced by T-cell vaccination in patients with rheumatoid arthritis / I. Ivanova, G. Seledtsova, S. Mamaev [et al.] // Human Vaccines & Immunotherapeutics. – 2014. – V. 10, № 5. – P. 1221–1227.
6. Шуба Н. М. НПВП-риски и выбор безопасной терапии / Н. М. Шуба, Т. Д. Воронова, Ю. О. Кокунов // Укр. ревматол. журнал. – 2018. – № 1 (71). – С. 16–22.
7. Рациональное применение НПВП – баланс эффективности и безопасности (обзор литературы) / Н. В. Журавлева, В. Г. Кулес, А. Б. Прокофьев [и др.] // Междунар. журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 6 (Ч. 4). – С. 687–696.
8. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации / А. Е. Каратеев, Е. Л. Насонов, В. Т. Ивашкин [и др.] // Научно-практическая ревматология. – 2018. – № 56. – С. 1–29; <https://doi.org/10.14412/1995-4484-2018-1-29>.
9. Каратеев А. Е. Количественная и качественная оценка риска осложнений при использовании нестероидных противовоспалительных препаратов как основа формирования рекомендаций по их контролю и профилактике / А. Е. Каратеев // Современная ревматология. – 2014. – № 1. – С. 64–72.

10. Котова О. В. Вопросы безопасности применения нестероидных противовоспалительных средств у больных с заболеваниями опорно-двигательного аппарата в сочетании с артериальной гипертензией / О. В. Котова // Фарматека. – 2011. – № 20. – С. 63–67.
11. McInnes I. B. The pathogenesis of rheumatoid arthritis / I. B. McInnes, G. Schett // N Engl. J Med. – 2011. – V. 365. № 23. – P. 2205–2219.
12. Елисеєв М. С. Нимесулід в ліценції гострої болю в ревматологічній практиці: чому ніша по-прежнему занята / М. С. Елисеєв // Медичинський совет. – 2016. – № 17. – С. 110–112.
13. Елисеєв М. С. Примінення нимесуліду в ліценції подагри / М. С. Елисеєв, О. В. Желябіна // Медичинський совет. – 2017. – № 17. – С. 102–104.
14. Каратеев А. Е. Примінення нимесуліду в ревматології / А. Е. Каратеев // Трудний пацієнт. – 2010. – № 6–7. – С. 24–29.
15. Балабанова Р. М. Влияние селективных ингибиторов ЦОГ-2 на сердечно-сосудистую систему при ревматических заболеваниях / Р. М. Балабанова // Современная ревматология. – 2010. – № 2. – С. 88–93.
16. Серединська Н. М. Комбіноване застосування антигіпертензивних і нестероїдних протизапальних препаратів: проблеми та перспективи / Н. М. Серединська, З. П. Омеляненко, В. С. Хоменко // Науковий журнал МОЗ України. – 2015. – № 1 (7). – С. 46–56.
17. Порівняльна оцінка протизапальної активності нимесуліду, диклофенаку та амлодипіну за ад'ювантного артриту / Н. М. Серединська, Л. М. Киричок, М. А. Мохорт, Г. В. Павлюк // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 2. – С. 65–69.
18. Саратиков А. С. Адьювантная болезнь (морфология, патогенез, экспериментальная терапия) / А. С. Саратиков, А. И. Венгеровский, Т. П. Прищеп. – Томск, 1983. – 104 с.
19. Bendele A. M. Animal models of rheumatoid arthritis / A. M. Bendele // J. Musculoskel. Neuron Interact. – 2001. – V.1, № 4. – P. 377–385.

Н. М. Серединська, О. С. Суворова, К. С. Марченко-Толста

Порівняльна оцінка протизапальної активності нимесуліду та целекоксибу на фоні експериментального ревматоїдного артриту

Однією з проблем фармакотерапії ревматоїдного артриту (РА) є вибір ефективних та безпечних ліків, зокрема, серед нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП). На препаратах зазначеної групи зосереджена увага клініцистів завдяки прояву знеболювальної та протизапальної дії, а також через те, що за застосування «хворобомодифікуючих» засобів нерідко розвиваються непереносимість, низка побічних ефектів, не реєструється належна відповідь пацієнта на лікування тощо. Достатньо високу ефективність щодо знеболювання демонструють селективні інгібітори ЦОГ-2 за умов запальних процесів, що супроводжуються больовим синдромом. Водночас достеменно не встановлено, які з представників зазначеної групи виявлятимуть найзначніший антиексудативний ефект на тлі РА.

Мета дослідження – дати порівняльну характеристику протинабрякової активності селективних інгібіторів ЦОГ-2 різних хімічних класів, нимесуліду (НМ), целекоксибу (ЦК), за умов їхнього тривалого застосування на різних етапах розвитку експериментального РА.

Результати досліджень свідчать, що НМ у гострий період та період маніфестації експериментального РА призводив до зменшення об'єму стопи в білих щурів на 8,8–11,6 % відносно даних у тварин контрольної групи. У всі періоди розвитку патологічного процесу протинабрякова активність НМ була на рівні 9–12 % і суттєво знижувалася до 6 % у період згасання патологічного процесу. Значно ефективнішим за НМ виявився ЦК, що проявлялося в більш значному зменшенні об'єму стопи за дії ЦК порівняно з НМ. У всі періоди спостереження протинабрякова активність ЦК перевищувала таку за дії НМ, причому в гострий період та за згасання РА вона суттєво відрізнялася від протинабрякової активності НМ. Експериментально обґрунтована доцільність переважного застосування ЦК, ніж НМ, з метою зменшення набряків, особливо, у гострий період розвитку експериментального РА та за згасання запального процесу.

Ключові слова: експериментальний ревматоїдний артрит, протизапальна активність, нимесулід, целекоксиб

Н. Н. Серединская, А. С. Суворова, К. С. Марченко-Толстая

Сравнительная оценка противовоспалительной активности нимесулида и целекоксиба на фоне экспериментального ревматоидного артрита

Одной из проблем фармакотерапии ревматоидного артрита (РА) является выбор эффективных и безопасных лекарств, в частности, среди нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). Внимание клиницистов сосредоточено на препаратах этой группы ввиду их обезболивающего и противовоспалительного действия, а также в связи с тем, что при применении «болезнь модифицирующих» средств нередко развиваются непереносимость, побочные эффекты, не регистрируется должный ответ пациента на лечение и т. д. Достаточную высокую эффективность относительно обезболивания демонстрируют селективные ингибиторы ЦОГ-2 при воспалительных процессах, сопровождающихся больвым синдромом. Однако достоверно не установлено, какие из представителей указанной группы будут проявлять наиболее значимый антиэкссудативный эффект на фоне РА.

Цель исследования – изучение противоотечной активности селективных ингибиторов ЦОГ-2 разных химических классов, нимесулида (НМ), целекоксиба (ЦК), при их длительном применении на разных этапах развития экспериментального РА.

Результаты исследований свидетельствуют, что НМ в острый период и в период манифестации экспериментального РА приводил к уменьшению объема стопы у белых крыс на 8,8–11,6 % по сравнению с животными контрольной группы. Во все периоды развития патологического процесса противоотечная активность НМ была на уровне 9–12 % и существенно понижалась до 6 % в период угасания патологического процесса. Значительно более эффективным, чем НМ, оказался ЦК, что проявлялось в более значимом уменьшении объема стопы при действии ЦК. Во все периоды наблюдения противоотечная активность ЦК превышала таковую, свойственную НМ, причем в острый период и при угасании РА она существенно отличалась от противоотечной активности НМ. Экспериментально обоснована целесообразность преимущественного применения ЦК, чем НМ, с целью уменьшения отеков, особенно в острый период развития экспериментального РА и при угасании воспалительного процесса.

Ключевые слова: экспериментальный ревматоидный артрит, противовоспалительная активность, нимесулид, целекоксиб

N. M. Serebinska, A. S. Suvorova, K. S. Marchenko-Tolsta
Comparative study of anti-inflammatory activity of nimesulide and celecoxib at experimental rheumatoid arthritis

One of the problems of pharmacotherapy of rheumatoid arthritis (RA) is the choice of effective and safe drugs, in particular, among non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). The attention of clinicians is focused on the drugs of this group due to their analgesic and anti-inflammatory action, and also due to the fact that under the use of «disease-modifying» drugs often develops intolerance, side effects, the patient does not respond to treatment, etc. Relatively high efficacy as to pain relief is demonstrated by selective inhibitors of COX-2 in inflammatory processes accompanied by pain. However, it has not been reliably established which of the drugs of this group will exhibit the most significant anti-exudative effect on the background of RA.

The aim of the study was to compare the anti-edema activity of selective COX-2 inhibitors of different chemical classes, nimesulide (NM) and celecoxib (CC), under their long-term use at different stages of experimental RA development.

The results of studies show that NM in the acute period and in the period of the manifestation of experimental RA led to a decrease of paw volume in white rats by 8,8–11,6 % as to the data of the control group animals. During all periods of the development of the pathological process, the anti-edematous activity of NM was at the level of 9–12 % and significantly decreased to 6 % during the attenuation of the pathological process. Significantly more efficient, than NM, it turned out to be the CC, which manifested itself in a significant decrease of paw volume under the action of the CC. During all the periods of observation, the anti-edematous activity of the CC was higher than NM, and in the acute period and at the attenuation of RA it was significantly different from the anti-edematous activity of NM. The expediency of the preferential use of CC than NM is experimentally substantiated in order to reduce edema, especially in the acute period of development of experimental RA and at the attenuation of the inflammatory process.

Key words: experimental rheumatoid arthritis, anti-inflammatory activity, nimesulide, celecoxib

Надійшла: 12 березня 2019 р.

Контактна особа: Серединська Н. М., доктор медичних наук, відділ фармакології, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 84 72.

O. O. Shevchuk¹, T. V. Datsko¹, K. A. Posokhova¹, V. G. Nikolaev²

Histological findings at application of newly designed granular carbon enterosorbent under subchronic doxorubicin toxicity in rats

¹I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

²R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, Kyiv

Key words: doxorubicin, enterosorption, histology, heart, kidneys, intestine, testes, rats

Oncological pathology has large medical and socioeconomic impact and global healthcare meets a heavy burden of this disease. New drugs and high adequate treatment increase the rates of survival of patients with oncological pathology. So, the number of patients receiving chemotherapy and surviving after chemotherapy is also gradually increasing [1]. However, while prolongating the lifetime, anti-cancer chemotherapy has serious side effects and reduces the quality of life [2].

Anthracyclines (doxorubicin, epirubicin, daunorubicin and others) are widely used in the treatment of numerous types of malignant tumors, including breast and ovarian cancer, myeloma, leukemia, lymphoma, etc [3, 4]. They are frequently used according to chemotherapy protocols in pediatric practice (approximately 60 % of childhood cancers) [5, 6]. All antineoplastic drugs have common side effects: nausea and vomiting, myelotoxicity, mucositis, gonadotoxicity, etc. Anthracyclines, however, may cause specific side effect of dose-dependent heart damage [7–9]. Acute cardiotoxicity results mostly in arrhythmias, but chronic doxorubicin cardiotoxicity may cause fatal dilated cardiomyopathy resulting in heart failure with the mortality rate of over 50 % [10, 11]. Up to 50 % of childhood cancer survivors have abnormal cardiac function within years after anthracyclines-based chemotherapy [9, 12, 13]. Doxorubicin is one of the most frequently used drugs from this pharmacological group.

Anthracyclines have several modes of action to interfere with the replication of rapidly proliferating cancer cells as well as mechanisms of its toxicity [3, 10, 14, 15]. DNA damage, injury by metabolite doxorubicinol, generation of reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress, release of pro-inflammatory cytokines, through inhibition of topoisomerase 2 β resulting in activation of cell death pathways and inhibition of mitochondrial biogenesis etc. are described.

The main strategies for prevention of anthracyclines-induced cardiotoxicity are careful monitoring of risks factors, liposomal doxorubicin use, detection of dynamics of circulating biomarkers, such as troponin and brain-type natriuretic peptide, decreasing of cumulative dose of anthracyclines, dexrazoxane administration, early detection and treatment of left ventricular dysfunction [1, 16–18].

Activated carbon because of its adsorptive capability can be used for detoxification of body organs and tissues in cases of different conditions. Carbon adsorbents are used for blood purification (hemadsorption) by direct perfusion of blood through an adsorbent column; for bathing the wounds (application sorption); and for enteral sorption therapy (enterosorption) [9, 21]. Our previous studies have proved that enterosorption decreases side effects of alkylating agent melphalan [22, 23]. It is established that alkylates cause bone marrow suppression and liver damage [24, 25]. One of the mechanisms of alkylate damage is activation of lipid peroxidation and oxidative stress that disturbs the structure and function of internal organs and biochemical homeostasis. Doxorubicin has a similar effect. One more hypothesis of anthracyclines' cardiac toxic effects is

due to bacterial translocation because of intestine damage [26], that is why enterosorption could be helpful.

Despite the known cardiotoxic effects of doxorubicin and other anthracyclines, no evidence-based guidelines exist for the surveillance and prevention of chemotherapy-induced cardiotoxicity. The most sensitive organs and system for chemotherapy side effects are highly proliferative tissues: blood system, gastrointestinal tract, gonads [22, 27]. Liver and kidneys as the metabolism and excretion organs are vulnerable too.

The aim of this study is to detect the main parameters of granular carbon oral adsorbent C2 and to carry out histological study of sensitive organs and tissues, namely heart, intestine, kidneys and testes, to evaluate the potential of enteral sorption to mitigate the negative effects of doxorubicin.

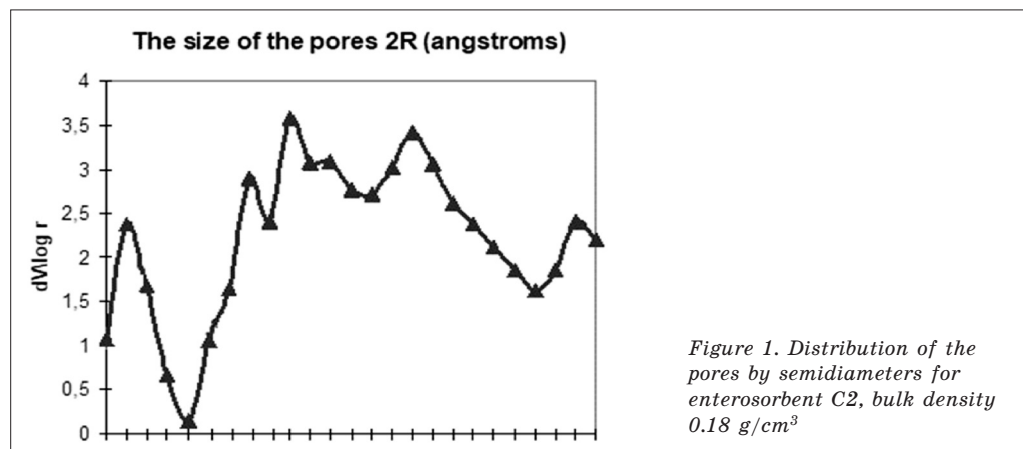
Materials and methods. The experiments were carried out on male Wistar rats, 180–220 g of primary weight, according to the guidelines of the Bioethics Committee of the institutions that conform to the rules and requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). The rats were reared at the animal facility of I. Horbachevsky Ternopil State Medical University (Ternopil, Ukraine). A common light-dark cycle was maintained for the animals; they were on a normal rodent chow diet and free water.

We used doxorubicin hydrochloride (Doxorubicin Teva 10 mg/5ml, a concen-

trate for infusion solution, TEVA Pharmachemie, the Netherlands). A new type of oral adsorbent – enterosorbent C2, was produced by pyrolysis of vinylpyridine styrene-divinylbenzene copolymer. BAC (bead activated carbon) was the precursor. Oral adsorbent C2 characteristics were next: bulk density $\gamma = 0.28 \text{ g/cm}^3$, granules diameter 0.15–0.25 mm. The textural characteristics (surface areas, pore size and pore volume) of an enterosorbent C2 were determined by measuring the nitrogen adsorption and desorption isotherms. The porogram showed that the pore system for nitrogen sorption of a sample was in the range of 10–500 Å (Figure 1).

The porous structure of C2 was well developed and shifted toward mesopores, which surface was $565 \text{ m}^2/\text{g}$. BET surface area was $2162 \text{ m}^2/\text{g}$. The adsorbent is effective for sorption of middle molecular weight substances (vitamin B_{12}) and low molecular weight substances (methylene blue) as well as creatinine [22].

Animals were randomly assigned to 3 groups: the 1st group – the control one ($n = 6$); the 2nd – the rats treated with DOX ($n = 10$); the 3rd – the rats treated with both DOX and carbon enterosorbent C2 (DOX + C2) ($n = 10$). We modeled subchronic doxorubicin toxicity by injecting the drug intraperitoneally at a dose of 5 mg/kg once a week for 4 weeks, the total of 20 mg/kg [28]. The control animals received the same volume of saline intraperitoneally once a week for 4 weeks in total. Enterosorbent C2 was administered into the stomach via a custom rigid tube once a day at a dose of



5 ml per kg (or 1 ml per each 200 g of the rat body weight; or 900 mg of dry mass of the enterosorbent). We started the enteral sorption therapy the day after the first injection of doxorubicin. The sorbent was added into an appropriate amount of distilled water to form a suspension. On the days of doxorubicin injection and one day before it, the enterosorbent was not administered. The rats were sacrificed under the general anesthesia with thio-pental sodium on the 29th day of the experiment, counting the day of the first injection of doxorubicin. We monitored the body mass of animals and measured the mass of the heart and liver.

To indicate chronic changes of the heart shape and size the hearts of the rats were used for measuring and evaluating of the planimetric index. For indirect planimetry of the endocardial surface of the rats' hearts, ventricles were taken accordingly to G. G. Avtandilov method [29] in I. K. Esypova et al. modification [30]. We measured the endocardial surfaces of the left (ESLVWA) and right ventriculi's wall area (ESRVWA). Planimetric index (PI) was calculated as:

$$PI = ESLVWA \div ESRVWA,$$

where ESLVWA is the endocardial surfaces of the left ventricle wall area and ESRVWA is the endocardial surfaces of the right ventricle wall area.

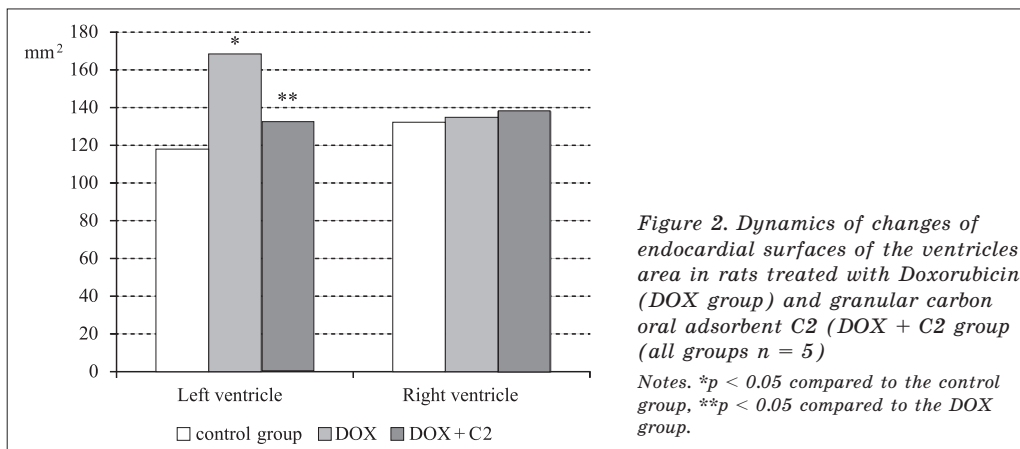
Heart, kidney, intestine and gonadal tissues were harvested for histological analysis. The tissues were fixed in formalin, paraffin embedded and sectioned according to the standard technique. Serial 5 μ m sections were stained with

hematoxylin and eosin and examined by light microscopy by means of Delta Optical microscope. The representative areas of the samples were photographed by $\times 10$ and $\times 20$ lenses by means of SC MOS Digital Camera and Toup View software with different magnification.

Statistical analysis. The data are expressed as the mean $\pm$ standard error of the mean ($M \pm m$). Statistical significance was defined as a P-value of < 0.05 . The statistical significance of the differences between mean values was assessed by the Mann-Whitney-test and ANOVA-test using Microsoft Excel XP (USA) and Statistica 10.0 (StatSoft Inc., USA). The distribution of indices was estimated using Shapiro-Wilk Normality Test.

Results and discussion. In both DOX and DOX + C2 groups the number of prematurely deceased rats was four (40 %). All abovementioned animals died after 4th injection of doxorubicin during the last week of experiment (when cumulative dose of drug achieved 20 mg per 1 kg of rat's body mass). The common activity of animals was reduced compared to the control group. When rats were sacrificed, we observed typical clinical sings of heart failure among survived animals: from mild to severe ascites, different stages of hydrothorax and liver enlargement.

To understand what happened with the heart structures and remodeling processes, we studied planimetric index by measuring the endocardial surfaces area [29]. This method is validated to estimate the chronic changes of the heart morphology (Figure 2).



After 4 injections of Doxorubicin at the total dose of 20 mg/kg on 29th day of the experiment there were no significant changes of the right ventricle, while we observed increasing of the left ventricle endocardial surface by 42.7 % ($p < 0.001$) compared to the control group of rats. In rats received enterosorption this index decreased by 21.3 % compared to the DOX group. Doxorubicin injections increased the Planimetric index (PI) by 40.4 % compared to the control group (from 0.89 ± 0.01 to 1.25 ± 0.03), while under enteral sorption therapy it decreased by 22.8% (0.96 ± 0.02).

Also, we monitored the body mass of rats. The data are presented in the table 1.

We observed that in DOX group body mass of rats decreased by 20.3 % compared to the initial level, while in DOX + C2 group it decreased by 22.3 %. Those indices were significantly lower compared to the control group by 30.1 and 33.7 % respectively.

We found that the ratio of heart mass to body mass decreased by 21.2 %, while in rats treated with both Doxorubicin and enterosorbent C2 this index tends to increase (Table 2). The ratio of liver mass increased by 88.1 % ($p < 0.001$), while enteral sorption therapy did not

impact it compared to the control group. We suggest, that such changes are tightly connected to the ascites and hydrothorax we observed.

Histological Findings. Heart sections examined following the doxorubicin injection (20 mg per kg for 4 weeks) revealed loss of myofibrils and striations, as well as cytoplasmic edema according to H&E staining (Figure 4) compared to the corresponding control (Figure 3).

A weak blood fill of arterioles, dilated veins in epicardium and distinct perivascular edema were evidenced. The sarcoplasm of cardiomyocytes was homogeneous and well saturated with the dyes. The majority of the cell nuclei of myocardium were visualized, some of them were enlarged with lighter karyoplasm. Edema with sporadic pericellular erythrocytes was revealed. Some cardiomyocytes were fragmented (Figure 4).

In the tissues of the rats received enteral sorption therapy between the injections of doxorubicin, a marked shrinking of vein diameter, and, therefore, reduction of perivascular and pericellular edema was evidenced (Figure 5). Local sarcoplasm hypertrophy and nuclear hyperchromia were observed in some

Table 1

The dynamics of rats' body mass in doxorubicin subchronic toxicity and use of granular carbon oral adsorbent C2 (Mean $\pm$ SE)

The index Group	The body mass of rat, g		The body mass dynamics, g
	The day of weighing		
	day 0	day 29	
Control group (n = 6)	193.33 ± 5.60	220.83 ± 5.55	+ 20.63 ± 5.60
DOX group (n = 6)	193.57 ± 6.09	154.29 ± 6.17*	- 30.56 ± 6.09
DOX + C2 group (n = 6)	188.57 ± 6.74	146.43 ± 6.74*	- 32.78 ± 6.74

Notes. * $p < 0.05$ compared to the control group.

Table 2

The ratio of the heart and liver to the body weight on 29th day after first injection of Doxorubicin (Mean $\pm$ SE)

The index Group	Ratio of organ weight to body weight = (organ weight/body weight) $\cdot$ 100 %	
	heart	liver
Control group (n = 6)	0.33 $\pm$ 0.01	2.26 $\pm$ 0.11
DOX group (n = 6)	0.26 $\pm$ 0.02*	4.25 $\pm$ 0.32*
DOX + C2 group (n = 6)	0.31 $\pm$ 0.02	4.23 $\pm$ 0.20*

Notes. * $p < 0.05$ compared to the control group.

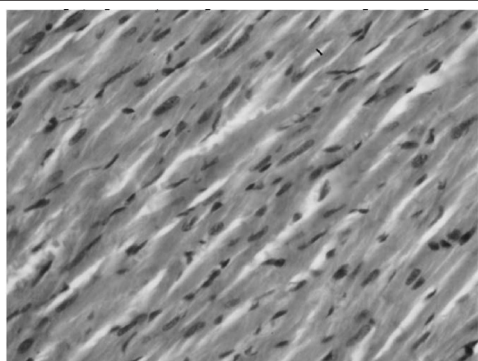


Figure 3. Heart tissue structure of a control group rat. H&E. × 200

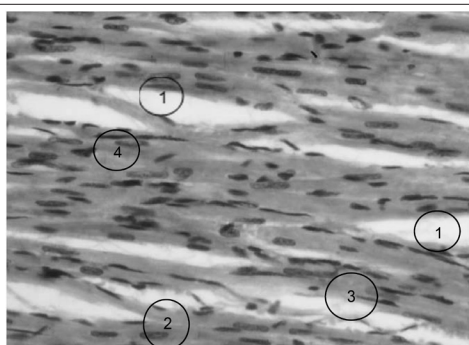


Figure 4. Heart tissue of the rat treated with DOX. H&E. × 200: 1 - distinct perivascular edema; 2 - enlarged nuclei with lighter karyoplasm; 3 - sporadic pericellular erythrocytes; and 4 - fragmented cardiomyocytes were observed

cardiomyocytes. Karyopycnosis was evidenced in some nuclei. Lympho-histiocytic infiltration was absent.

Compared to the control group (Figure 6), doxorubicin injections caused damage to the small intestine (Figure 7). A marked lympho-histiocytic infiltration into the stroma of jejunal villi and perivascular edema were observed. Secretory activity of crypt epithelium was increased; quantity of Goblet cells was higher (Figure 7). All these changes were accompanied by increased proliferation and local desquamation of cells, which had the signs of dystrophic changes.

Enterosorption treatment decreased the intensity of lympho-histiocytic infiltration in the stroma of the villi (Figure 8). Blood supply was lower, but the perivascular edema, especially along the basement membranes was still observed. Secretory activity was evidently lower, as well as the number of Goblet cells. A decreased secre-

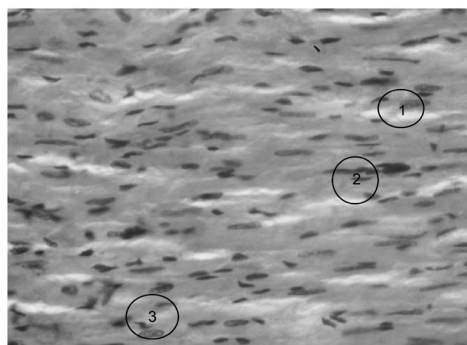


Figure 5. Heart tissue structure of the animal treated with DOX + C2. H&E. × 200: 1 - marked reduction of perivascular and pericellular edema; 2 - sarcoplasm hypertrophy and nucleic hyperchromia; 3 - karyopyknosis was evidenced

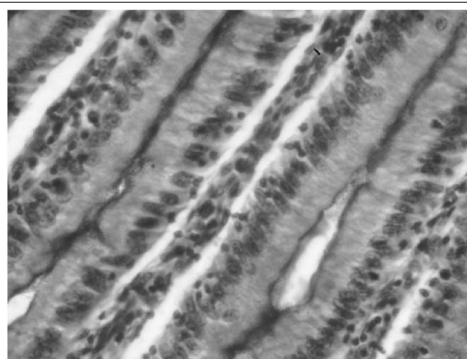


Figure 6. Structure of the intestine of a control rat. H&E. × 200

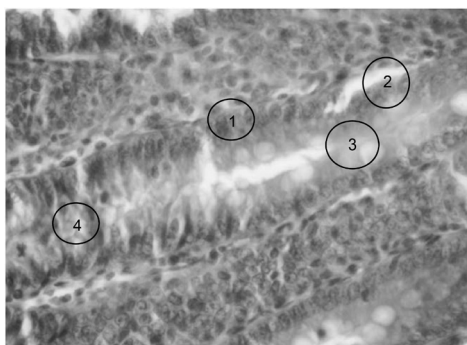


Figure 7. Intestine tissue of the rat treated with DOX. H&E. × 200: 1 - lympho-histiocytic infiltration into the stroma of jejunal villi; 2 - perivascular edema; 3 - increased number of Goblet cells and secretory activity; 4 - local desquamation of cells

tion and moderate dystrophic changes in the superficial epithelium of the villi, including structural changes of the nuclei was observed. Desquamation of the epithelium was evidenced only in some areas.

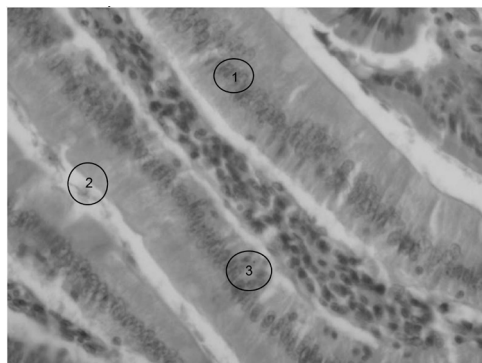


Figure 8. Intestine tissue structure of the animal treated with DOX + C2. H&E. $\times 200$: 1 – decreased intensity of lymphohistiocytic infiltration in the stroma of the villi; 2 – shrinking of perivascular edema; 3 – significantly decreased secretion and moderate dystrophic changes compared to the DOX-group

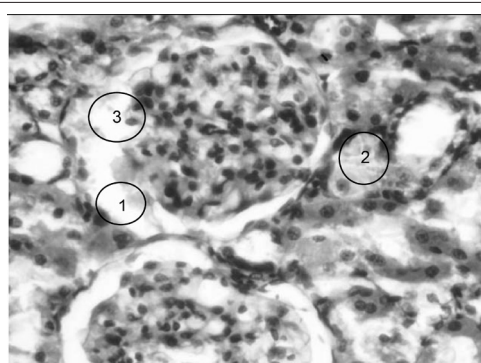


Figure 10. Kidney cortex of the rat treated with DOX. H&E. $\times 200$: 1 – marked increased glomerular size; 2 – widening of Bowman's space with obvious degeneration of capsule cells; 3 – some epitheliocytes of the external layer of the capsule became desquamated

At the figure 9 the microscopic structure of the kidney of a control rat is presented.

Doxorubicin had negative impact on kidneys structure. Microscopic examination proved a decreased blood supply in the cortex and medulla of the organ of the DOX treated rats (Figure 10 and 11), compared to the control group (Figure 9). A marked increase of glomerular size in the cortex caused by edema was observed (Figure 10), we supposed because of edema, while the supply of vessels with blood was reduced. Widening of Bowman's space with obvious degeneration of capsule cells was evidenced as well. Some endotheliocytes of the arterioles had signs of dystrophy (Figure 10). Some epitheliocytes of the external layer of the capsule were desquamated into the Bowman's space.

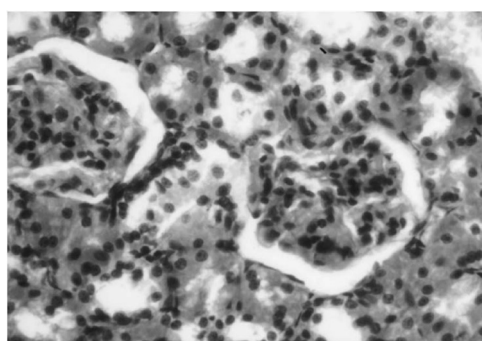


Figure 9. Kidney tissue structure of a control group animal: kidney cortex. H&E. $\times 200$

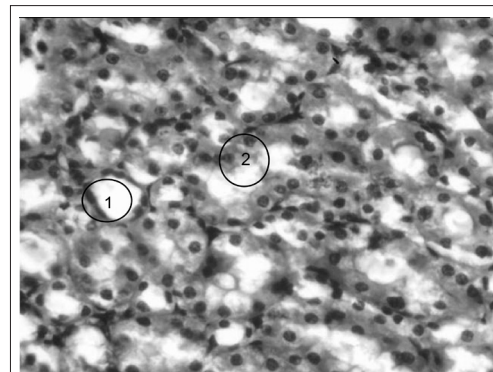


Figure 11. Kidney medulla of the rat treated with DOX. H&E. $\times 200$: 1 – enlargement of tubules because of edema; 2 – dystrophic changes of epitheliocytes

The edema caused enlarged tubules (Figure 11) and dystrophic changes of epitheliocytes. The distal kidney tubuli had signs of degeneration, manifested by desquamation of epithelial tubular cells.

In the rats receiving enteral sorption therapy with enterosorbent C2 between doxorubicin injections, the sizes of renal corpuscles decreased compared to the DOX-only rats (Figure 12). Spasm of the arterioles was observed. Endothelium of the vessels was undamaged. Bowman's space was still moderately enlarged. No abnormalities in the parietal leaf epithelium of the capsule were evidenced.

Lumens of the convoluted tubules were dilated (Figure 13); however, the quantity of exudate and number of desquamated

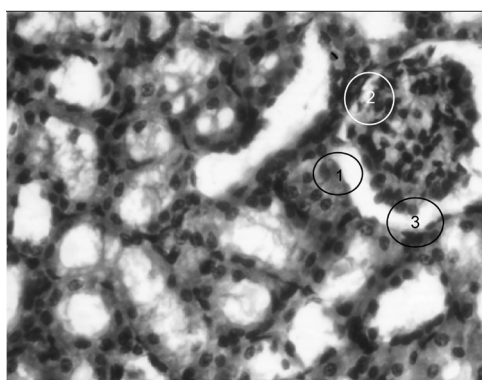


Figure 12. Kidney cortex of the rat treated with DOX + C2. H&E. $\times 200$: 1 – decreased sizes of renal corpuscles; 2 – impaired signs of dystrophy; 3 – slight dilation of vascular lumens

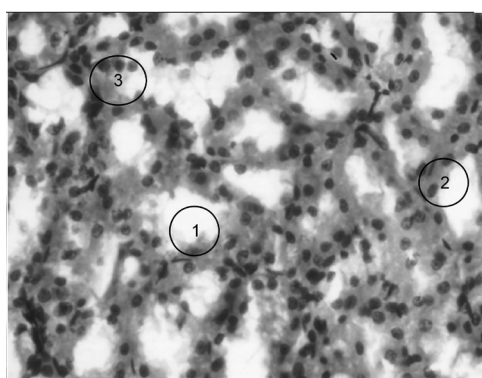


Figure 13. Kidney medulla of the rat treated with DOX + C2. H&E. $\times 200$: 1, 2 – decreased signs of dystrophy; 3 – vascular lumens were slightly dilated

epitheliocytes inside the lumens decreased. Epitheliolytic sizes were lesser in comparison to the DOX group; nuclei were located along the basement membrane, pointing to decreased cell dystrophy. Basement membranes were intact. The kidney medulla vessels, mostly the veins, had uneven blood fill-up; vascular lumens were slightly dilated.

As illustrated in the figures, doxorubicin at the total dose of 20 mg per kg for 4 weeks causes testicular tissue damage (Figure 15), it is evident when to compared to testes structures of rat of control group (Figure 14).

Notably, the light and dark cells (type A spermatogonia), which are located near basement membranes, are almost intact, however their number is decreased (Figure 15). Marked dystrophy changes are evidenced in type B spermatogonia,

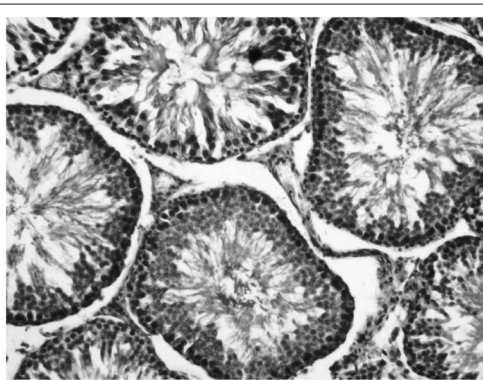


Figure 14. Normal testicular tissue structure in a control group animal. H&E. $\times 200$

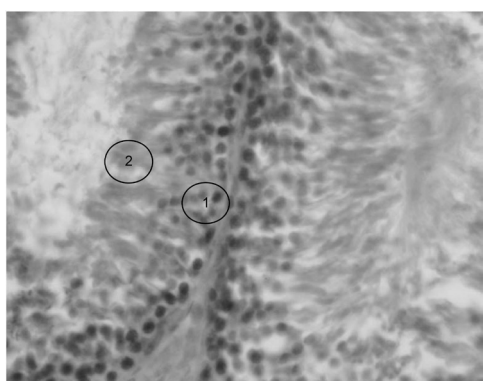


Figure 15. Testicular tissue structure in a DOX-treated animal. H&E. $\times 200$: 1 – the light and dark cells (type A spermatogonia); 2 – primary and secondary spermatocytes dystrophy

primary and secondary spermatocytes. Necrosis is evident in some areas, whereas the tight junctions between the cells are destroyed.

The enterosorption treatment had positive effect on gonadal health. The structure of type A and type B spermatogonia was restored (Figure 16), regenerating the tight junctions was seen. At the same time, the structure of primary and secondary spermatocytes still had the signs of dystrophy, pointing to the ongoing damage.

Anticancer medications are effective in treatment of neoplastic tumors because they target proliferating (mitotic) cells and disrupt DNA synthesis. Unfortunately, these medications also lack selectivity, resulting in cytotoxic effects on the normal cells, especially those with a short life cycle. Balancing the benefits of treatment and drug-related side effects is

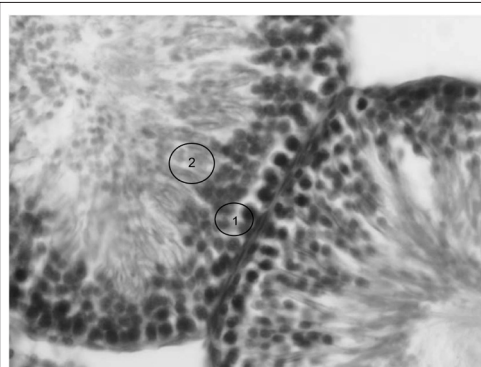


Figure 16. Testicular tissue structure of the DOX + C2 group. H&E. $\times 200$: 1 – type A spermatogonia; 2 – type B spermatogonia

crucial for decision-making on a specific anti-cancer chemotherapy. Because anthracyclines cause irreversible damage to the myocardium, prevention is more effective approach than treatment of cardiotoxicity after symptomatic or asymptomatic cardiac dysfunction develops.

Doxorubicin has a narrow therapeutic window and serious side effects. Late-onset cardiotoxicity is a major problem of anthracyclines therapy since it might lead to congestive heart failure years after the therapy sometimes without prior clinical symptoms [31]. It is established that anthracyclines cause toxic damage that leads to heart failure [8, 32]. Late subclinical signs of heart lesion might affect up to 50 % of childhood cancer survivors. The established risk factors include cumulative dosage, young age, use of concomitant cardiotoxic therapies, female sex and dose-dense and dose-intense chemotherapy [3, 31].

Anthracycline antibiotics have high therapeutic efficacy, targeting the processes of mitotic cycle. However, they also indiscriminately damage normal cells, especially those undergoing frequent and fast divisions, including bone marrow, intestine, gonad tissues and others. The free radical theory [33, 34], alternative metabolic theory (accumulation of the highly reactive metabolite doxorubicinol) [35, 36] and endotoxiosis theory (bacterial translocation through the damaged intestine) [3] are the models describing toxicity processes.

Sorption techniques, such as hemadsorption (hemoperfusion), enterosorption

and the current use of adsorbents for wound healing, are among the main approaches of sorption detoxification [21, 37, 38]. They are used to supplement the treatment of various diseases and pathological states, including tumors [39–42].

The issue of preservation of chemotherapy efficacy in cases of a supportive concomitant therapy is crucial in cancer management. Our previous studies on experimental animal models have proved a high efficacy of enterosorption used for prevention and reduction of myelo-, gonado- and renal toxicities of alkylating bifunctional agents melphalan and cisplatin [22, 23, 43]. We evidenced that administration of carbonic enterosorbent C2 has no effect on the antitumor efficacy of Melphalan. The average sizes of tumor were the same in the Guerin's carcinoma-bearing rats, which were managed with the enterosorbent in addition to the alkylating cytostatic, as well as in the rats treated with the anti-cancer drug only [23]. Also these were some indications of cardioprotective properties of the enterosorption [3, 44].

To assess the effect of enterosorption in subchronic doxorubicin toxicity we focused on the fragile and chemotherapy sensitive organs: small intestine, testes, kidney and heart. This study has proved that in the animals treated with enterosorbent C2, the microscopic structure of doxorubicin intoxicated heart improves, whereas the small intestine, testicles and kidneys are protected from additional damage. We hypothesize that such protective effects are caused by non-specific detoxification of the whole organism by enteral sorption therapy, so called distant effects [20, 27, 37, 38]. Our findings concerning the planimetric index, body weight, heart and liver mass dynamics, confirm the damage of the heart by doxorubicin.

To exclude any possible abolishing effects of enterosorption on cytostatic effect, we stop the administration of sorption therapy two days before the injection of DOX. Sorbent is eliminated from the rat's body for 2 days (approximately 48 h). Next oral adsorbent gavage was done 24 h after injection. It means that at time of

DOX injection into the rats' bodies there were only trace negligible amount of enterosorbent and its adsorption capacity was depleted (exhausted) because of instant contact with intestinal content. So, all pores of sorbent were already busy. It means that there were no effects on adsorption of DOX.

DOX is metabolized a single pass through the liver [45]. K. Nagai et al. have proved that serum DOX concentrations after intraperitoneal administration rapidly increase and reach peak levels, followed by a decline similar to that observed in cases of the intravenous injection [46]. Plasma elimination of DOX is described as biphasic with a half-life of about 15 to 30 min in the initial phase and 16.5 h in the terminal phase. So, considering pharmacokinetic parameters, we may exclude any impairing effects of enterosorption on the efficacy of anthracycline antibiotic.

Conclusions

The results of microscopic study of the tissues of heart, kidney, small intestine, and testes, as well as morphometric parameters of the heart and liver, in the rats received the doxorubicin for 4 weeks (cumulative dose 20 mg) demonstrated the protective effects of enteral sorption therapy. We suggest that it because of the systemic detoxification effects of enterosorbent C2. Also, we excluded any influence on pharmacokinetics of doxorubicin, what is an important issue during anti-cancer chemotherapy.

Carbon enterosorbent C2 with parameters, namely: bulk density $\gamma = 0.28 \text{ g/cm}^3$, granules diameter 0.15–0.25 mm, BET surface area $2162 \text{ m}^2/\text{g}$, can be recommended for further investigation as a potential effective method to reduce the side effects of anthracycline antibiotics.

1. Chung W.-B. Pathophysiology and preventive strategies of anthracycline-induced cardiotoxicity / W.-B. Chung, H.-J. Youn // The Korean journal of internal medicine. – 2016. – V. 31, № 4. – P. 625–33. doi:10.3904/kjim.2016.017.
2. Robison L. L. Survivors of childhood and adolescent cancer: life-long risks and responsibilities / L. L. Robison, M. M. Hudson // Nat Rev Cancer. – 2014. – V. 14, № 1. – P. 61–70. doi:10.1038/nrc3634.
3. Theoretical ground for adsorptive therapy of anthracyclines cardiotoxicity / O. O. Shevchuk, K. A. Posokhova, L. A. Sakhno [et al.] // Experimental Oncology. – 2012. – V. 34, № 4. – P. 314–322.
4. Fulbright J. M. Review of cardiotoxicity in pediatric cancer patients: during and after therapy / J. M. Fulbright // Cardiology research and practice. – 2011. – V. 2011. – P. 942090. doi:10.4061/2011/942090.
5. Treatment including anthracyclines versus treatment not including anthracyclines for childhood cancer / E. C. van Dalen, M. F. Raphaël, H. N. Caron [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2014. – № 9. – P. CD006647. doi:10.1002/14651858.CD006647.pub4.
6. Thompson K. A. Pregnancy and cardiomyopathy after anthracyclines in childhood / K. A. Thompson // Frontiers in Cardiovascular Medicine. – 2018. – V. 5. – P. 14. doi:10.3389/fcvm.2018.00014.
7. Cardiotoxicity of anticancer treatments: epidemiology, detection, and management / G. Curigliano, D. Cardinale, S. Dent [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2016. – V. 66, № 4. – P. 309–325. doi:10.3322/caac.21341.
8. Cardio-oncology: a new and developing sector of research and therapy in the field of cardiology / P. M. Kostakou, N. T. Kouris, V. S. Kostopoulos [et al.] // Heart Failure Reviews. – 2018. – P. 1–10. doi:10.1007/s10741-018-9731-y.
9. State of the art review: Chemotherapy-induced cardiotoxicity in children / R. W. Loar, C. V. Noel, H. Tunuguntla [et al.] // Congenital Heart Disease. – 2018. – V. 13, № 1. – P. 5–15. doi:10.1111/chd.12564.
10. Doxorubicin cardiomyopathy / K. Chatterjee, J. Zhang, N. Honbo [et al.] // Cardiology. – 2010. – P. 155–162. doi:10.1159/000265166.
11. Mitry M. A. Doxorubicin induced heart failure: Phenotype and molecular mechanisms / M. A. Mitry, J. G. Edwards // International journal of cardiology. Heart & vasculature. – 2016. – V. 10. – P. 17–24. doi:10.1016/j.ijcha.2015.11.004.
12. Cardiac complications of cancer therapy: pathophysiology, identification, prevention, treatment, and future directions / D. Jain, R. R. Russell, R. G. Schwartz [et al.] // Current Cardiology Reports. – 2017. – V. 19, № 5. – P. 36. doi:10.1007/s11886-017-0846-x.
13. Long-term cardiovascular toxicity in children, adolescents, and young adults who receive cancer therapy: pathophysiology, course, monitoring, management, prevention, and research directions / S. E. Lipshultz, M. J. Adams, S. D. Colan [et al.] // Circulation. – 2013. – V. 128, № 17. – P. 1927–1995. doi:10.1161/CIR.0b013e3182a88099.

14. Fogli S. The role of nitric oxide in anthracycline toxicity and prospects for pharmacologic prevention of cardiac damage / S. Fogli, P. Nieri, M. C. Breschi // *The FASEB Journal*. – 2004. – V. 18, № 6. – P. 664–675. doi:10.1096/fj.03-0724rev.
15. DNA damage is an early event in doxorubicin-induced cardiac myocyte death / T. L'Ecuyer, S. Sanjeev, R. Thomas [et al.] *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. – 2006. – V. 291, № 3. – P. H1273–H1280. doi:10.1152/ajpheart.00738.2005.
16. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure / P. Ponikowski, A. Voors, S. Anker [et al.] // *European Society of Cardiology*. – 2016. – V. 32, № 7–8. – P. e1-641-e61. doi:10.1093/eurheartj/ehw128.
17. Effects of dexrazoxane and amifostine on evolution of doxorubicin cardiomyopathy *in vivo* / S. K. Bjelogrić, J. Radic, S. Radulovic [et al.] // *Experimental Biology and Medicine*. – 2007. – V. 232, № 11. – P. 1414–1424. doi:10.3181/0705-RM-138.
18. Volkova M. Anthracycline cardiotoxicity: prevalence, pathogenesis and treatment / M. Volkova, R. Russell, III // *Current cardiology reviews*. – 2011. – V. 7, № 4. – P. 214–220. doi:10.2174/157340311799960645.
19. New dextran coated activated carbons for medical use / C. A. Howell, S. R. Sandeman, Y. Zheng [et al.] // *Carbon*. – 2016. – V. 97. – P. 134–146. doi:10.1016/j.carbon.2015.09.042.
20. Nikolaev V. G. Sorption Therapy with the Use of Activated Carbons: Effects on Regeneration of Organs and Tissues Hemoperfusion, plasmapheresis and other clinical uses of general, biospecific, immuno and leucocyte adsorbents. – W: H. Zheng, 2017. – P. 221–43. doi:10.1142/9789814749084_0007.
21. Nikolaev V. G. Analysis of medical use of carbon adsorbents in China and additional possibilities in this field achieved in Ukraine / V. G. Nikolaev, V. A. Samsonov // *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. – 2014. – V. 42, № 1. – P. 1–5. doi:10.3109/21691401.2013.856017.
22. The influence of enterosorption on some haematological and biochemical indices of the normal rats after single injection of melphalan / O. O. Shevchuk, K. A. Posokhova, A. S. Sidorenko [et al.] // *Experimental Oncology*. – 2014. – V. 36, № 2. – P. 94–100.
23. Enterosorption combined with granulocyte colony stimulating factor decreases melphalan gonadal toxicity / O. O. Shevchuk, Y. Y. Bodnar, K. I. Bardakhivska [et al.] // *Experimental Oncology*. – 2016. – V. 38, № 3. – P. 172–175.
24. Олейник А. В. Влияние циклофосфана на перекисное окисление липидов / А. В. Олейник // *Вопросы онкологии*. – 1985. – Т. 31, № 7. – С. 97–101.
25. Олейник А. В. Влияние циклофосфана на желчеобразование и перекисное окисление липидов в печени // *Фармакология и токсикология*. – 1986. – Т. 49, № 4. – С. 51–54.
26. The importance of the gastrointestinal system in the pathogenesis of heart failure / A. Krack, R. Sharma, H. R. Figulla [et al.] // *European Heart Journal*. – 2005. – V. 26, № 22. – P. 2368–2374. doi:10.1093/eurheartj/ehi389.
27. Enterosorption in Oncotherapy / G. V. Muravskaya, V. G. Nikolaev, V. P. Sergeev [et al.] // *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*. – 1991. – V. 19, № 1. – P. 167–174. doi:10.3109/10731199109117823.
28. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – 528 с.
29. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии. – Москва : Медицина, 2002. – 240 с.
30. Есипова И. К. Метод срочной дифференциальной диагностики различных форм гипертензии малого круга кровообращения у секционного стола / И. К. Есипова, В. И. Алискевич, Ю. С. Пурдяев // *Судовая медична експертиза*. – 2003. – № 4. – С. 27–30.
31. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of doxorubicin in children with cancer: results of a «European Pediatric Oncology Off-patents Medicines Consortium» trial / M. Krischke, G. Hempel, S. Völler [et al.] // *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. – 2016. – V. 78, № 6. – P. 1175–1184. doi:10.1007/s00280-016-3174-8.
32. Force T. Mechanism-based engineering against anthracycline cardiotoxicity / T. Force, Y. Wang // *Circulation*. – 2013. – V. 128, № 2. – P. 98–100. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.003688.
33. Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity / G. Minotti, P. Menna, E. Salvatorelli [et al.] // *Pharmacological Reviews*. – 2004. – V. 56, № 2. – P. 185–229. doi:10.1124/pr.56.2.6.
34. Comparison of doxorubicin-induced cardiotoxicity in the ICR mice of different sources / S. H. Kim, K.-J. Kim, J.-H. Kim [et al.] // *Laboratory animal research*. – 2017. – V. 33, № 2. – P. 165–170. doi:10.5625/lar.2017.33.2.165.
35. Doxorubicin metabolism and toxicity in human myocardium: role of cytoplasmic deglycosidation and carbonyl reduction / S. Licata, A. Saponiero, A. Mordente, [et al.] // *Chemical Research in Toxicology*. – 2000. – V. 13, № 5. – P. 414–420. doi:10.1021/tx000013q.
36. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects / C. F. Thorn, C. Oshiro, S. Marsh [et al.] // *Pharmacogenetics and genomics*. – 2011. – V. 21, № 7. – P. 440–446. doi:10.1097/FPC.0b013e32833fffb56.
37. Carbon adsorbents in oncology: Achievements and perspectives / V. G. Nikolaev, L. A. Sakhno, E. A. Snezhkova [et al.] // *Experimental Oncology*. – 2011. – V. 33, № 1. – P. 2–8.

38. Biomedical applications of carbon adsorbents: Novel carbon adsorbents / Mikhailovsky S. V., Sandeman S. R., Howell C. A. [et al.] // Nov. Carbon Adsorbents. – Elsevier. – 2012. – P. 639–69. doi:10.1016/B978-0-08-097744-7.00021-1.
39. Бонацкая Л. В. Энтеросорбция как метод профилактики и лечения некоторых осложнений консервативной терапии опухолевой болезни / Л. В. Бонацкая, А. К. Зиневич // Сорбционные методы детоксикации и иммунокоррекции в медицине. – Харьков, 1982. – С. 4.
40. Дацун А. І. Роль сорбційно-детоксикаційної та синглетно-кисневої терапії в оптимізації лікування хворих на резектабельний рак прямої кишки / А. І. Дацун // Онкологія. – 2006. – Т. 8, № 4. – С. 355–358.
41. Новокшионов А. А. Метод энтеросорбции и его клиническая эффективность в комплексной терапии ОКИ у детей / А. А. Новокшионов, Н. В. Соколова // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 1. – С. 140–147.
42. Щербаков П. Л. Применение энтеросорбентов при атопическом дерматите у детей / П. Л. Щербаков, В. А. Ревякина // Вопросы современной педиатрии. – 2007. – Т. 6, № 1. – С. 134–136.
43. Enterosorption as a method to decrease the systemic toxicity of cisplatin / L. A. Sakhno, O. V. Yurchenko, V. N. Maslenniy [et al.] // Experimental Oncology. – 2013. – V. 35, № 1. – P. 45–52.
44. Никула Т. Д. Вплив вуглецевого ентеросорбенту СКН на клініко-лабораторні показники у хворих з хронічною недостатністю кровообігу / Т. Д. Никула, В. В. Бондур, К. Г. Плужник // Лікарська справа. Врачебное дело. – 1996. – № 7–9. – С. 106–109.
45. Yan T. D. A pharmacological review on intraperitoneal chemotherapy for peritoneal malignancy / T. D. Yan // World Journal of Gastrointestinal Oncology. – 2010. – V. 2, № 2. – P. 109. doi:10.4251/wjgo.v2.i2.109.
46. Pharmacokinetic evaluation of intraperitoneal doxorubicin in rats / K. Nagai, S. Nogami, H. Egusa [et al.] // Pharmazie. – 2014. – V. 69. – P. 125–127. doi:10.1691/ph.2014.3754.

O. O. Shevchuk, T. V. Datsko, K. A. Posokhova, V. G. Nikolaev
Histological findings at application of newly designed granular carbon
enterosorbent under subchronic doxorubicin toxicity in rats

Alleviation of side effects of anthracycline chemotherapy and especially prevention of fatal doxorubicin-induced dilated cardiomyopathy is a topical issue of contemporary oncology.

The aim of this study was a histological evaluation of the effect of enterosorption on tissue in the rats with subchronic doxorubicin (DOX) toxicity. The experiments were conducted in male Wistar rats, which were randomly divided into 3 groups: the control group; the rats treated with DOX; and the rats treated with both DOX and carbon enterosorbent C2 (DOX + C2). Subchronic doxorubicin toxicity was modeled by injecting the drug intraperitoneally at a dose of 5 mg/kg once a week for 4 weeks, the total of 20 mg/kg. C2, a newly designed carbon oral adsorbent with a well-developed porous structure shifted toward mesopores, bulk density $\gamma = 0.28 \text{ g/cm}^3$, granules diameter 0.15–0.25 mm, BET pore surface $2162 \text{ m}^2/\text{g}$, was used for enterosorption treatment. The heart, kidney, intestine and testes tissues of the rats were harvested for histological analysis. We estimated body mass dynamics, mass coefficients of the heart and liver, planimetric index (PI).

Doxorubicin injections caused the significant heart damage and its remodeling with increasing of PI by 40.4 % compared to the control group and decreasing of heart mass coefficient. Following the treatment by C2 enterosorbent, the microscopic structure of heart subjected to doxorubicin intoxication proved restoration of tissue structures, while the morphology of small intestine, testes and kidneys evidenced protection from DOX-induced damage. Also, we observed the remodeling of the heart.

Thus, these effects warrant further studies of carbon enterosorbent C2 as a potential effective method of reduction of side effects of anthracycline antibiotics.

Key words: doxorubicin, enterosorption, histology, heart, kidneys, intestine, testes, rats

O. О. Шевчук, Т. В. Дацко, К. А. Посохова, В. Г. Ніколаєв
Морфологічні зміни за умов застосування новоствореного гранульованого
вуглецевого ентеросорбенту на моделі субхронічної доксорубіцинової
токсичності в щурів

Пом'якшення побічної дії поліхіміотерапії на основі антрациклінів та особливо попередження фатальної доксорубіцин-індукованої дилатаційної кардіоміопатії – важливе завдання сучасної онкології.

Мета дослідження – морфологічна оцінка впливу ентеросорбції на тканини та органи щурів на моделі субхронічної доксорубіцинової (DOX) токсичності.

Експерименти проводили на щурах-самцях лінії Вістар, яких було рандомізовано в три групи: контрольна група; група тварин, яким вводили доксорубіцин (DOX група); щури, які отримували DOX і вуглецевий гранульований ентеросорбент C2 (DOX + C2). Субхронічну доксорубіцинову токсичність моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення препарату в дозі 5 мг/кг один раз на тиждень чотириразово, кумулятивна доза 20 мг/кг. Для ентеральної сорбційної терапії використовували

ентеросорбент С2, новостворений вуглецевий гранульований адсорбент з добре розвинутою пористою структурою, особливо мезопор, з насипною вагою 0,28 г/см³, розміром гранул 0,15–0,25 мм, об'ємом пор за BET – 2162 м²/г. Для гістологічного аналізу забирали тканини серця, нирок, кишечника та яєчок. Також оцінювали коливання маси тіла, масові коефіцієнти серця та печінки, планіметричний індекс (ПІ).

Введення доксорубіцину викликало значне порушення структури серця та інших досліджуваних тканин, викликало ремоделювання серця зі збільшенням ПІ на 40,4 % і зменшенням його масового коефіцієнта. За мікроскопічного дослідження встановлено, що застосування ентросорбції сприяло покращанню структур серця. Також ми спостерігали зменшення ступеня ураження, викликаного доксорубіцином, на решті препаратів досліджуваних органів.

Таким чином, отримані результати є підґрунтям для подальшого дослідження ентросорбції з адсорбентом С2, як потенційного ефективного методу зменшення побічної дії антрациклінових антибіотиків.

Ключові слова: доксорубіцин, ентросорбція, гістологія, серце, нирки, кишечник, яєчки, щури

О. О. Шевчук, Т. В. Дацко, Е. А. Посохова, В. Г. Николаев

Морфологические изменения при использовании гранулированного углеродного энтеросорбента на модели субхронической доксорубициновой токсичности у крыс

Снижение побочных эффектов полихимиотерапии на основе антрациклинов и особенно развития фатальной доксорубицин-индуцированной дилатационной кардиомиопатии – актуальное задание современной онкологии.

Цель исследования – морфологическая оценка влияния энтеросорбции на ткани и органы крыс на модели субхронической доксорубициновой (DOX) токсичности.

Эксперименты проводили на крысах-самцах линии Вистар, которые были рандомизированы на три группы: контрольная группа; группа животных, получавших доксорубицин (DOX группа); крысы, получавшие DOX и углеродный гранулированный энтеросорбент С2 (DOX + С2). Субхроническую доксорубициновую (DOX) токсичность моделировали путем введения внутривентрально препарата в дозе 5 мг/кг один раз в неделю четырежды до кумулятивной дозы 20 мг/кг. Для энтеральной сорбционной терапии использовали энтеросорбент С2, углеродный гранулированный адсорбент с развитой пористой системой, особенно мезопор, с удельным весом 0,28 г/см³, размером гранул 0,15–0,25 мм, объемом пор по BET – 2162 м²/г. Для гистологического анализа использовали ткани сердца, почек, кишечника и яичек. Также оценивали динамику изменения массы тела, массовые коэффициенты сердца и печени, планиметрический индекс (ПИ).

Введение доксорубицина вызывало значительные нарушения структуры сердца и других исследуемых тканей, ремоделирование камер сердца с увеличением ПИ на 40,4 % и уменьшение его массового коэффициента. При микроскопическом исследовании установлено, что энтеросорбция вызывала улучшение морфологической структуры сердца. Также наблюдали уменьшение степени поражения, вызванного доксорубицином, на препаратах других исследуемых органов.

Таким образом, полученные результаты служат обоснованием для дальнейшего изучения энтеросорбции с использованием углеродного адсорбента С2 в качестве потенциального эффективного метода уменьшения побочных эффектов антрациклиновых антибиотиков.

Ключевые слова: доксорубицин, энтеросорбция, гистология, сердце, почки, кишечник, яички, крысы

Надійшла: 19 березня 2019 р.

Контактна особа: Шевчук О. О., Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, буд. 1, майдан Волі, м. Тернопіль, 46001. Тел.: + 30 0 97 900 65 22.
Електронна пошта: shevchukoo@tdmu.edu.ua

Г. В. Зайченко¹, М. О. Стахорська²

Дослідження токсикологічних властивостей ректального крему комбінованого складу для лікування проктологічної патології

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ²Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: ректальний крем комбінованого складу, дилтіазем, лідокаїн, метилурацил, гостра та субхронічна токсичність

Необхідно зазначити, що вивчення токсикологічних характеристик нових лікарських засобів є обов'язковою складовою комплексу досліджень, які проводяться на доклінічному етапі [1].

Сучасні методи медикаментозного лікування хронічної анальної тріщини є достатньо ефективними та дозволяють мінімізувати необхідність хірургічного втручання, втім безпечність застосовуваних препаратів є такою самою важливою характеристикою, як і терапевтична ефективність. Відомо, що за проведення консервативної терапії хронічної анальної тріщини не всі пацієнти можуть пристосуватися до використання багатьох з рекомендованих препаратів і змушені переривати лікування через розвиток побічних ефектів, які значно знижують якість життя [2, 3]. Зазначене ще раз підкреслює той факт, що проблема оцінки токсикологічного профілю нових препаратів має першочергове значення.

Мета дослідження – вивчення токсикологічних властивостей ректального крему комбінованого складу (РККС) для лікування проктологічної патології.

Матеріали та методи. Досліджуваний засіб – РККС для лікування проктологічної патології був розроблений колективом співробітників НТК «Інститут монокристалів» НАН України під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора М. О. Ляпунова. Як активні компоненти РККС містить дилтіазем – 20 мг, лідокаїн – 30 мг і

метилурацил – 50 мг у перерахунку на 1 г крему.

Гостру токсичність РККС було вивчено на трьох видах тварин: миші білі безпородні масою 23,50–25,0 г; щури лінії Вістар масою 250,0–265,0 г; кролі (самці) породи Шиншила масою 2,29–2,45 кг. Токсичність досліджуваного засобу оцінювали за ректального введення мишам, щурам і кролям, яке здійснювали за допомогою ін'єкційного шприца з тупим поліетиленовим наконечником. У разі ректального введення РККС враховували максимально допустимий об'єм для означеного шляху введення: мишам – 0,5 мл; щурам – 1,0 мл; кролям – 5,0–10,0 мл. Виходячи з цього, шляхом триразового зважування максимально допустимого об'єму для одноразового введення були визначені наступні дози: для мишей – 10,0 г/кг; щурів – 5,0 г/кг і кролів 2,0 г/кг. Спостереження за тваринами проводили протягом 2 тижнів. Критеріями оцінки токсичності препарату були клінічна картина інтоксикації, виживаність тварин, споживання їжі та води, а також динаміка маси тіла тварин (вихідні дані та на 3, 7, 14 добу). Оцінку впливу РККС на функціональний стан печінки щурів проводили в кінці експерименту за біохімічними показниками крові.

Дослідження субхронічної токсичності були проведені на щурах обох статей лінії Вістар масою 250–275 г [1]. Субхронічну токсичність РККС оцінювали за умов його введення один раз на день протягом 1 міс. у дозах: 0,1; 0,3 та 1,0 г/кг за лікарською формою (терапевтична доза з урахуванням коефіцієнта видової чутливості та дози, що в 3 і 10 разів її перевищують) [4, 5]. Контролем були інтактні щури.

Оцінку субхронічного токсичного впливу РККС на організм щурів проводили за такими параметрами: клінічною картиною; виживаністю тварин, динамікою зміни їхньої маси тіла та споживанням їжі та води; біохімічними показниками крові; електрофізіологічною активністю міокарда, функціональним станом центральної нервової системи (ЦНС).

Спостереження за тваринами проводили щодня протягом усього експерименту, реєструючи зміни в їхньому загальному стані, поведінці, споживанні їжі та води. Масу тварин визначали в динаміці: вихідні дані, 1, 2, 3 тижні та 1 місяць. Оцінку впливу РККС за субхронічного введення на стан ЦНС щурів проводили наприкінці експерименту методом «відкритого поля» [6]. Електрокардіограму (ЕКГ) у тварин знімали в другому стандартному відведенні (електрокардіограф ЭК1К-01). За розшифровки ЕКГ враховували показники: інтервал R-R – тривалість повного серцевого циклу, інтервал P-Q, що характеризує час поширення збудження по передсердям, тривалість шлуночкового комплексу QRS та електричної систоли шлуночків – інтервалу Q-T, вольтаж і спрямованість зубців P і T, вольтаж зубця R [7].

Оцінку впливу РККС за субхронічного введення на функціональний стан печінки та окремі метаболічні процеси проводили за біохімічними показниками в сироватці крові. Усі біохімічні дослідження за вивчення гострої та субхронічної токсичності проведені з використанням діагностичних наборів фірми «Філісіт Діагностика» (Україна). Уміст загального білка в сироватці крові визначали біуретовим методом, показник тимолової проби – за методом осадових проб, вміст альбуміну – за реакцією з бромкрезоловим зеленим, активність аланін- та аспартатамінотрансферази (АлАТ і АсАТ) – за методом Райтмана-Френкеля. Уміст загального холестерину та глюкози в сироватці крові визначали ферментативними методами, сечовини в сироватці крові – діацетилмонооксимним методом [8]. Досліджувані показники як у разі

дослідження гострої, так і субхронічної токсичності визначали наприкінці експерименту.

Дослідження проводили в ЦНДЛ Національного фармацевтичного університету, що сертифікована Державним експертним центром МОЗ України (посвідчення від 08.12. 2015 № 058/15, чинне до 07.12. 2019). Кролі (самці) були отримані з розплідника лабораторних тварин ФОП Нечепоренко Д. А. (м. Харків). Під час експерименту тварини знаходилися у віварії ЦНДЛ НФаУ за температури повітря 20–22 °С, природного світлового режиму «день-ніч», у стандартних клітках, на стандартному харчовому раціоні. Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог GLP, рекомендацій ДЕЦ МОЗ України [1], Національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Україна, 2001), Законом України від 21 лютого 2006 року № 3447-IV зі змінами «Про захист тварин від жорсткого поводження», ухвалою першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2007 р.) та Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [9].

Евтаназію кролів і щурів проводили під тіопенталовим наркозом шляхом введення 2 мл 10 % водного розчину тіопенталу натрію в крайову вену вуха та внутрішньоочеревинно відповідно [1]. Евтаназію мишей проводили шляхом дислокації хребців шийного відділу [1].

Усі отримані дані обробляли методом варіаційної статистики з прийнятим рівнем значущості $p < 0,05$. Обчислення статистичної значущості в разі номінальних перемінних проводили за допомогою точного методу Фішера. Для отримання статистичних висновків у разі порівняння вибірок відносних перемінних після того, як однофакторний дисперсійний аналіз (або критерій Крускала-Уолліса для даних, які не підлягають нормальному закону розподілу) виявляв відмінності між експериментальними групами, застосовували критерій Стюдента для множинних порівнянь (або критерій Манна-Вітні) [10].

Результати та їх обговорення. У результаті дослідження гострої токсичності РККС встановлено, що після одноразового введення досліджуваного засобу мишам у дозі 10,0 г/кг проявів інтоксикації відзначено не було: тварини активно пересувалися по клітці, умивалися. Реакція на звукові та тактильні подразники була в нормі. У подальший період спостереження до кінця експерименту стан і поведінка мишей, споживання ними їжі та води не відрізнялися від інтактних тварин. Загибель тварин протягом експерименту не спостерігалася (табл. 1, 2).

Після одноразового застосування РККС щурам у дозі 5,0 г/кг і за вивчення його субхронічної токсичності в трьох дозах (0,1; 0,3; 1,0 г/кг) проявів інтоксикації не відзначено: характер рухів тварин був звичайний, дихання, реакція на звукові та тактильні подразники була в нормі. У подальший період спостереження до кінця експерименту зовнішній вигляд, стан і пове-

дінка щурів, споживання ними їжі та води не відрізнялися від інтактних тварин. Шерсть і шкіра в області ануса – чиста, без ознак подразнення. Загибель тварин протягом експерименту не спостерігалася (табл. 1–3).

Після введення препарату кролям у дозі 2,0 г/кг ознак інтоксикації не спостерігали: тварини нормально пересувалися, пили воду та приймали їжу. У місцях введення препарату ознак подразнення не відзначено. Протягом експерименту загибель тварин не спостерігалася. Стан шкірного покриву та шерсті, слизових оболонок, споживання їжі та води, поведінка тварин відповідали нормі (табл. 1, 2).

Результати біохімічних досліджень (табл. 4), проведених за дослідження гострої токсичності РККС у дозі, що вивчалася, показали, що досліджуваний засіб не впливає на вміст загального білка, альбуміну та показник тимолової проби в сироватці крові щурів. Тобто, ці показники не відрізнялися від вихідних даних (табл. 4).

Таблиця 1

Параметри гострої токсичності ректального крему комбінованого складу

Вид тварин	Шлях введення	Доза, г/кг	Кількість тварин	Летальність, %
Миші	Ректально	10,0	10	0
Щури	Ректально	5,0	10	0
Кролі	Ректально	2,0	4	0

Таблиця 2

Динаміка маси тіла мишей, щурів і кролів за одноразового введення ректального крему комбінованого складу

Вид тварин	Шлях введення	Період спостереження, доба	Маса тварин, г	
			самці	самки
Миші	Ректально	0	24,20 ± 0,27	24,20 ± 0,26
		3	25,10 ± 0,21*	25,10 ± 0,39
		7	26,70 ± 0,26*	26,10 ± 0,35*
		14	28,40 ± 0,46*	27,40 ± 0,36*
Щури	Ректально	0	258,0 ± 3,39	256,0 ± 3,67
		3	283,0 ± 3,74*	255,0 ± 2,74
		7	294,0 ± 6,0	258,0 ± 2,55
		14	310,0 ± 2,74*	259,0 ± 2,92
Кролі	Ректально	0	2363,8 ± 33,0	
		3	2525,0 ± 159,40	
		7	2582,50 ± 158,03	
		14	2705,0 ± 164,54	

Примітка. Тут і в табл. 3: *відхилення достовірно порівняно з вихідними даними, $p < 0,05$.

Таблиця 3

Маса тіла щурів за субхронічного введення ректального крему комбінованого складу, г ($M \pm m$)

Період спостереження	Контроль	Ректальний крем комбінованого складу, 0,1 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 0,3 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 1,0 г/кг
<i>Самці</i>				
Вихідні дані	255,0 ± 2,36	255,50 ± 2,17	256,50 ± 1,83	256,0 ± 2,21
1 тиждень	271,0 ± 2,08*	270,0 ± 4,08*	269,50 ± 2,52*	269,0 ± 1,45*
2 тиждень	285,0 ± 2,69*	283,50 ± 4,22*	280,50 ± 3,11*	281,50 ± 1,98*
3 тиждень	296,50 ± 2,59*	297,50 ± 4,17*	295,50 ± 4,91*	295,50 ± 1,89*
1 місяць	311,50 ± 2,11*	311,0 ± 4,0*	310,50 ± 4,50*	310,0 ± 2,36*
<i>Самки</i>				
Вихідні дані	225,0 ± 1,49	225,0 ± 1,49	224,5 ± 1,57	224,50 ± 1,17
1 тиждень	230,50 ± 1,38*	229,50 ± 1,17*	229,0 ± 2,33	228,0 ± 1,33
2 тиждень	236,50 ± 1,67*	236,0 ± 1,0*	235,0 ± 2,11*	234,0 ± 1,80*
3 тиждень	242,50 ± 1,54*	242,0 ± 1,33*	241,5 ± 1,50*	238,50 ± 2,36*
1 місяць	248,0 ± 1,53*	248,50 ± 1,30*	248,5 ± 1,50*	246,50 ± 2,11*

Таблиця 4

Біохімічні показники сироватки крові щурів за одноразового введення ректального крему комбінованого складу ($M \pm m$)

Показник	Вихідні дані		Через 14 діб	
	самці	самки	самці	самки
Загальний білок, г/л	78,34 ± 1,10	82,27 ± 1,59	75,23 ± 2,17	83,24 ± 1,68
Альбумін, г/л	33,72 ± 1,83	42,02 ± 1,10	31,33 ± 0,74	41,15 ± 1,33
Тимолова проба, од.	1,15 ± 0,07	1,53 ± 0,18	1,90 ± 0,30	1,74 ± 0,31

Дослідження субхронічної токсичності РККС за даними, наведеними в таблиці 5, показало, що тривале застосування РККС у досліджуваних дозах щурам обох статей не призводить до змін основних біохімічних показників сироватки крові щурів. Встановлено, що всі параметри, які вивчалися: уміст загального білка, альбуміну, показник тимолової проби, активність АЛАТ і АсАТ, а також концентрація глюкози, холестеролу та сечовини в сироватці крові щурів усіх експериментальних груп відповідали показникам норми (табл. 5) [11].

Вивчення функціонального стану ЦНС щурів, які отримували РККС, свідчить, що введення досліджуваного засобу в субхронічному режимі не чинить токсичного впливу на горизонтальну та вертикальну рухову активність, а також емоційну реактивність експериментальних тварин порівняно з інтактними щурами (табл. 6).

Дані, що характеризують електрофізіологічну активність міокарда щурів, наведено в таблиці 7.

Результати дослідження субхронічної токсичності свідчать, що введення РККС у досліджуваних дозах не викликає патологічних змін: тривалість інтервалів PQ, QRS, QT і RR, висота зубців Р, R і Т у дослідних групах не відрізняються від аналогічних показників контрольної групи. Окремі відхилення знаходяться в межах фізіологічної норми [11].

Таким чином, дані, що були отримані в ході проведеного дослідження, свідчать про відсутність загальнотоксичної дії за умов ректального введення РККС навіть у максимально високих дозах, що обґрунтовує доцільність подальшого вивчення фармакологічних властивостей і терапевтичної ефективності досліджуваного препарату.

Таблиця 5

Біохімічні показники сироватки крові щурів за субхронічного введення ректального крему комбінованого складу ($M \pm m$)

Показник	Контроль	Ректальний крем комбінованого складу, 0,1 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 0,3 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 1,0 г/кг
<i>Самці</i>				
Загальний білок, г/л	81,97 $\pm$ 0,88	84,56 $\pm$ 1,44	80,71 $\pm$ 2,31	81,67 $\pm$ 4,64
Альбумін, г/л	36,39 $\pm$ 0,79	37,45 $\pm$ 0,86	36,87 $\pm$ 1,29	35,40 $\pm$ 1,11
Тимолова проба, од.	1,28 $\pm$ 0,33	1,56 $\pm$ 0,29	0,70 $\pm$ 0,21	1,27 $\pm$ 0,20
АлАТ, мккат/л	0,48 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,04	0,57 $\pm$ 0,08	0,47 $\pm$ 0,04
АсАТ, мккат/л	0,85 $\pm$ 0,04	0,87 $\pm$ 0,03	0,88 $\pm$ 0,04	0,88 $\pm$ 0,03
Глюкоза, ммоль/л	5,96 $\pm$ 0,23	5,95 $\pm$ 0,12	5,96 $\pm$ 0,34	5,90 $\pm$ 0,42
Холестерол, ммоль/л	1,62 $\pm$ 0,12	1,67 $\pm$ 0,15	1,55 $\pm$ 0,26	1,45 $\pm$ 0,14
<i>Самки</i>				
Загальний білок, г/л	77,23 $\pm$ 1,93	79,49 $\pm$ 0,38	78,15 $\pm$ 1,64	79,55 $\pm$ 2,47
Альбумін, г/л	39,08 $\pm$ 2,19	39,62 $\pm$ 2,38	44,81 $\pm$ 1,91	42,34 $\pm$ 2,75
Тимолова проба, од.	1,69 $\pm$ 0,33	1,26 $\pm$ 0,22	1,87 $\pm$ 0,36	1,91 $\pm$ 0,09
АлАТ, мккат/л	0,35 $\pm$ 0,03	0,27 $\pm$ 0,03	0,35 $\pm$ 0,06	0,39 $\pm$ 0,05
АсАТ, мккат/л	0,76 $\pm$ 0,03	0,75 $\pm$ 0,04	0,77 $\pm$ 0,06	0,66 $\pm$ 0,11
Глюкоза, ммоль/л	5,53 $\pm$ 0,18	5,88 $\pm$ 0,14	5,95 $\pm$ 0,46	5,93 $\pm$ 0,19
Холестерол, ммоль/л	1,96 $\pm$ 0,42	2,07 $\pm$ 0,29	1,98 $\pm$ 0,48	1,98 $\pm$ 0,44

Таблиця 6

Показники функціонального стану центральної нервової системи за субхронічного введення шурам ректального крему комбінованого складу ($M \pm m$)

Показник	Контроль	Ректальний крем комбінованого складу, 0,1 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 0,3 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 1,0 г/кг
<i>Самці</i>				
Кількість: перетнутих квадратів	17,40 $\pm$ 3,07	19,70 $\pm$ 1,76	17,60 $\pm$ 2,91	17,20 $\pm$ 2,41
стійок	2,80 $\pm$ 0,55	3,80 $\pm$ 0,81	3,70 $\pm$ 0,79	3,20 $\pm$ 0,88
умивань	0,60 $\pm$ 0,22	0,40 $\pm$ 0,16	0,30 $\pm$ 0,15	0,50 $\pm$ 0,27
дефекацій	2,40 $\pm$ 0,76	2,70 $\pm$ 0,50	2,30 $\pm$ 0,50	2,20 $\pm$ 0,61
<i>Самки</i>				
Кількість: перетнутих квадратів	33,30 $\pm$ 3,01	37,70 $\pm$ 3,86	33,90 $\pm$ 5,18	32,20 $\pm$ 4,10
стійок	11,70 $\pm$ 1,26	12,20 $\pm$ 1,70	10,0 $\pm$ 1,97	11,86 $\pm$ 2,40
умивань	1,40 $\pm$ 0,43	0,90 $\pm$ 0,35	1,50 $\pm$ 0,48	1,10 $\pm$ 0,28
дефекацій	2,60 $\pm$ 0,91	2,80 $\pm$ 0,98	2,20 $\pm$ 0,61	2,10 $\pm$ 0,50

**Показники електрокардіограми щурів за субхронічного введення
ректального крему комбінованого складу ($M \pm m$)**

Показник	Контроль	Ректальний крем комбінованого складу, 0,1 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 0,3 г/кг	Ректальний крем комбінованого складу, 1,0 г/кг
<i>Самці</i>				
Тривалість інтервалів, с: PQ	0,034 $\pm$ 0,002	0,034 $\pm$ 0,002	0,038 $\pm$ 0,002	0,034 $\pm$ 0,002
QRS	0,020 $\pm$ 0	0,024 $\pm$ 0,002	0,022 $\pm$ 0,002	0,024 $\pm$ 0,002
QT	0,070 $\pm$ 0	0,068 $\pm$ 0,004	0,072 $\pm$ 0,004	0,072 $\pm$ 0,002
RR	0,120 $\pm$ 0	0,120 $\pm$ 0,003	0,122 $\pm$ 0,004	0,122 $\pm$ 0,002
Висота зубців, mV: P	0,070 $\pm$ 0,012	0,080 $\pm$ 0,012	0,090 $\pm$ 0,010	0,10 $\pm$ 0
R	0,270 $\pm$ 0,034	0,220 $\pm$ 0,025	0,290 $\pm$ 0,019	0,310 $\pm$ 0,029
T	0,130 $\pm$ 0,012	0,130 $\pm$ 0,012	0,130 $\pm$ 0,012	0,150 $\pm$ 0,018
<i>Самки</i>				
Тривалість інтервалів, с: PQ	0,032 $\pm$ 0,002	0,032 $\pm$ 0,002	0,036 $\pm$ 0,002	0,032 $\pm$ 0,002
QRS	0,028 $\pm$ 0,002	0,026 $\pm$ 0,002	0,026 $\pm$ 0,002	0,028 $\pm$ 0,002
QT	0,072 $\pm$ 0,002	0,070 $\pm$ 0,003	0,070 $\pm$ 0,003	0,062 $\pm$ 0,002*
RR	0,120 $\pm$ 0	0,122 $\pm$ 0,004	0,120 $\pm$ 0,003	0,112 $\pm$ 0,002*
Висота зубців, mV: P	0,10 $\pm$ 0	0,090 $\pm$ 0,010	0,090 $\pm$ 0,019	0,10 $\pm$ 0
R	0,390 $\pm$ 0,051	0,330 $\pm$ 0,051	0,360 $\pm$ 0,019	0,350 $\pm$ 0,089
T	0,150 $\pm$ 0,022	0,120 $\pm$ 0,012	0,120 $\pm$ 0,020	0,130 $\pm$ 0,012

Примітка. *Відхилення достовірно порівняно з контролем, $p < 0,05$.

Висновки

1. Результати досліджень, що були проведені на трьох видах тварин (мишах, щурах і кролях), свідчать, що РККС за ректального введення у максимально допустимому об'ємі не викликає загибель тварин; не чинить негативного впливу на їхній загальний стан, поведінку, споживання їжі та води, динаміку маси тіла, не впливає на вміст загального білка, альбуміну та показник тимолової проби в сироватці крові щурів.
2. За вивчення субхронічної токсичності РККС на щурах у дозах 0,1; 0,3 і 1,0 г/кг (1 міс.) встановлено, що він не викликав загибель експериментальних тварин, не впливав на їхній загальний стан, динаміку маси тіла, не чинив токсичного впливу на функцію печінки, серцево-судинної та центральної нервової систем.

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – С. 74–97.
2. Schlichtemeier S. Anal fissure / S. Schlichtemeier, A. Engel // Aust Prescr. – 2016. – V. 1, № 39. – P. 14–17.
3. Conservative and surgical treatment of chronic anal fissure: prospective longer term results / P. Sileri, V. M. Stolfi, L. Franceschilli et al. // J Gastrointest Surg. – 2010. – V. 5, № 14. – P. 773–780.
4. Вивчення лікувальної дії ректального крему комбінованого складу на моделі гострої анальної тріщини / Г. В. Зайченко, М. О. Стахорська, О. Я. Міщенко, О. В. Файзуллін. // Фармакологія 2017 – крок у майбутнє: тези доповідей V Національного з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р. – 2017. – С. 46–47.

5. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
6. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – Москва : Высшая школа, 1991. – С. 119–122.
7. Гален С. Вагнер. Практическая электрокардиография Мариотта / Гален С. Вагнер. – Санкт-Петербург : Невский Диалект, 2002. – 480 с.
8. Камышников В. С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник: в 2 т. – 2-е изд. / В. С. Камышников. – Минск : Интерпрессервис, 2003. – 495 с. (т. 1), 423 с. (т. 2).
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
10. Лапач С. Н. Статистические методы в биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : Морион, 2000. – 320 с.
11. Проблема нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы); под ред. проф. И. М. Трахтенберга / И. М. Трахтенберг [и др.]. – Москва : Медицина, 1991. – 204 с.

Г. В. Зайченко, М. О. Стахорська

Дослідження токсикологічних властивостей ректального крему комбінованого складу для лікування проктологічної патології

Мета дослідження – вивчення токсикологічних властивостей ректального крему комбінованого складу (РККС) для лікування проктологічної патології.

Досліджуваній препарат – РККС для лікування проктологічної патології містить як активні компоненти дилтіазем, лідокаїн і метилурацил. Гостру токсичність РККС вивчали за ректального введення в максимально допустимому об'ємі для зазначеного шляху введення на мишах, щурах і кролях. Дослідження субхронічної токсичності РККС проводили на щурах обох статей за умов його введення один раз на день протягом 1 міс. у таких дозах: 0,1; 0,3 та 1,0 г/кг за лікарською формою.

Оцінку гострого та субхронічного токсичного впливу РККС проводили за виразністю клінічної картини інтоксикації, виживаністю тварин, споживанням їжі та води; біохімічними показниками функції печінки; а також електрофізіологічною активністю міокарда та функціональним станом ЦНС на тлі субхронічного введення.

Встановлено, що за одноразового ректального введення РККС не викликає загибель тварин; не чинить токсичного впливу на загальний стан мишей, щурів і кролів, поведінку, споживання їжі та води, динаміку маси тіла; не впливає на вміст загального білка, альбуміну та показник тимолової проби в сироватці крові щурів. За субхронічного застосування щурам РККС не викликав їхню загибель, не впливав на загальний стан щурів, динаміку маси тіла, не чинив токсичного впливу на функцію печінки, серцево-судинної системи та центральної нервової системи.

Таким чином, отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого вивчення фармакологічних властивостей і терапевтичної ефективності РККС.

Ключові слова: ректальний крем комбінованого складу, дилтіазем, лідокаїн, метилурацил, гостра та субхронічна токсичність

Г. В. Зайченко, М. А. Стахорская

Исследование токсикологических свойств ректального крема комбинированного состава для лечения проктологической патологии

Цель исследования – изучение токсикологических свойств ректального крема комбинированного состава (РККС) для лечения проктологической патологии.

Исследуемый препарат – РККС для лечения проктологической патологии содержит в качестве активных компонентов дилтиазем, лидокаин и метилурацил. Острую токсичность РККС изучали при ректальном введении в максимально допустимом объеме для указанного пути введения на мышах, крысах и кроликах. Исследование субхронической токсичности РККС проводили на крысах обоего пола при его введении один раз в день в течение 1 мес. в следующих дозах: 0,1; 0,3 и 1,0 г/кг лекарственной формы.

Оценку острого и субхронического токсического воздействия РККС проводили по выраженности клинической картины интоксикации, выживаемости животных, потреблению пищи и воды; биохимическим показателям функции печени, а также по электрофизиологической активности миокарда и функциональному состоянию центральной нервной системы на фоне субхронического введения.

Установлено, что при однократном ректальном введении РККС не вызывает гибели животных; не оказывает токсического воздействия на общее состояние мышей, крыс и кроликов, поведение, потребление пищи и воды, динамику массы тела, не влияет на содержание общего белка, альбумина и показатель тимоловой пробы в сыворотке крови крыс. При субхроническом применении у крыс РККС не вызывает их гибель, не влияет на общее состояние, динамику массы тела, не оказывает

токсического влияния на функцию печени, сердечно-сосудистой системы и центральной нервной системы.

Таким образом, полученные результаты обосновывают целесообразность дальнейшего изучения фармакологических свойств и терапевтической эффективности РККС.

Ключевые слова: ректальный крем комбинированного состава, дилтиазем, лидокаин, метилурацил, острая и субхроническая токсичность

G. V. Zaichenko, M. O. Stakhorska

Research of the toxicological properties of the rectal cream of the combined composition for the treatment of proctologic pathology

The aim of the study was to evaluate the toxicological properties of the rectal cream of the combined composition for the treatment of proctologic pathology.

The study drug – a rectal cream of the combined composition (RCC) for the treatment of proctologic pathology, that contains as active components diltiazem, lidocaine and methyluracil. Acute toxicity of the RCC was studied by rectal administration at the maximum allowable volume for the indicated route of administration on mice, rats and rabbits. Studies of subchronic toxicity of the RCC were performed on rats of both sexes when administered once daily for one month in the following doses: 0,1; 0,3 and 1,0 g/kg of dosage form.

The assessment of acute and subchronic toxicity of the RCC was performed based on the severity of the clinical picture of intoxication, animal survival, food and water consumption; biochemical parameters of liver function; as well as the electrophysiological activity of the myocardium and the functional state of the central nervous system on the background of subchronic administration.

Thus, it was established that at single-dose rectal injected RCC does not cause death of animals; does not exert a toxic effect on the general condition of mice, rats and rabbits, behavior, consumption of food and water, body weight dynamics; does not affect the content of total protein, albumin and the thymol test in serum of rats. In the subchronic application of RCC to rats, it did not cause death, does not affect the general condition of rats, the dynamics of their body mass, does not exert a toxic effect on the liver function, the cardiovascular system and the central nervous system.

Key words: combination rectal cream, diltiazem, lidocaine, methyluracil, acute and subchronic toxicity

Надійшла: 15 квітня 2019 р.

Контактна особа: Зайченко Г. В., Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 13, бульв. Тараса Шевченка, м. Київ, 01601. Тел.: + 38 0 44 454 49 43.
Електронна пошта: anna.zajchenko@gmail.com

Ю. М. Набока¹, Н. П. Зубицька², І. А. Зупанець¹,
С. К. Шебеко¹, І. А. Отрішко¹

Дослідження хронічної токсичності препарату «Артритан»: вплив на функціональний стан і лабораторні показники щурів

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків

²ТОВ «Зелена планета Земної», м. Київ

Ключові слова: Артритан, хронічна токсичність, щури, функціональний стан, лабораторні показники

Незважаючи на широке використання хіміотерапевтичних препаратів, лікарські рослини продовжують утримувати наукову зацікавленість фармакологів сьогодення. Підвищений інтерес до лікарських рослин є результатом більш частих випадків розвитку побічної дії після застосування синтетичних лікарських засобів. Про ліки рослинного походження та їхнє застосування для лікування захворювань опорно-рухового апарату було відомо протягом тривалого часу, й натеper ці препарати з успіхом використовуються [1, 2]. Введення до лікарського арсеналу протиартрозних засобів доступних, ефективних і безпечних препаратів сьогодні є одним з нагальних питань сучасної експериментальної та клінічної фармакології. Загальновідомо, що суттєвим недоліком «класичних» хондропротекторів є низька протизапальна дія та майже повна відсутність аналгетичних властивостей [3]. Окрім того, більшість повільнодіючих симптом-модифікуючих засобів є препаратами імпортованими, а отже, зазвичай, недоступними значній частині українських споживачів за фармакоеконімічним критерієм [4].

З метою насичення вітчизняного фармацевтичного сектора доступними хондропротекторними засобами спеціалістами ТОВ «Зелена планета Земної» розроблено препарат «Артритан», що містить екстракти лікарської рослинної сировини: кори верби, квітів ехінацеї, листя берези, квітів бузини та потенційно має

протизапальну, аналгетичну, хондропротекторну дію і може бути перспективним за ревматичних захворювань.

Слід зазначити, що засоби рослинного походження зазвичай характеризуються високим рівнем безпеки та політропними властивостями, які зумовлюють широкий спектр фармакодинаміки. Впровадження даних засобів у вітчизняну клінічну практику дозволить розширити арсенал протиартрозних засобів, підвищити ефективність терапії хворих ревматологічного профілю та підвищити для них доступність препаратів даної групи.

Мета дослідження – експериментальне вивчення токсикологічних властивостей препарату «Артритан» (хронічна токсичність) для обґрунтування безпеки застосування в клінічній практиці.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження токсикологічних властивостей препарату «Артритан» проведені на 80 білих безпородних щурах обох статей вагою 150–180 г і віком 3–4 місяці. Піддослідних тварин утримували згідно зі стандартними санітарними нормами на необхідному харчовому раціоні у віварії Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету, яка сертифікована ДП «ДЕЦ МОЗ України» як база досліджень з експериментальної фармакології. Усі дослідження проводили відповідно до Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою, та інших рекомендацій [5, 6].

Усіх тварин було розподілено на 4 дослідні групи по 20 тварин наступним чином: 1 група – інтактний контроль;

2 група – тварини, що отримували Артритан внутрішньошлунково (в/ш) у дозі 0,1 мл/кг (відповідає 1/50 ЛД₅₀); 3 група – тварини, що отримували Артритан в/ш у дозі 0,2 мл/кг (відповідає 1/25 ЛД₅₀); 4 група – тварини, що отримували Артритан в/ш у дозі 0,5 мл/кг (відповідає 1/10 ЛД₅₀).

Щоденне в/ш введення препарату в відповідних дозах проводили протягом 180 діб [7]. Тестові зразки вводили у вигляді розчинів, які попередньо виготовляли, розчинюючи дозу засобу в 50, 25 і 10 разів (для доз 0,1, 0,2 та 0,5 мл/кг відповідно) у необхідній кількості фізіологічного розчину. Інтактні тварини отримували фізіологічний розчин у еквівалентній кількості.

Тварин виводили з досліду в два етапи по 10 особин з кожної групи: на 90 і 180 добу дослідження. Щурів зважували, у них визначали спонтанний добовий діурез за допомогою індивідуальних метаболітних кліток, після чого їх негайно виводили з досліду шляхом декапітації під ефірним наркозом з метою отримання біоматеріалу для лабораторних, біохімічних і морфологічних досліджень. У зібраній сечі визначали загальні властивості (колір, прозорість, рН, щільність), уміст білка (за реакцією з сульфосаліциловою кислотою), уміст глюкози (глюкозооксидазним методом) і досліджували сечовий осад [8, 9]. Далі проводили повний лабораторний аналіз крові загальноприйнятими гематологічними методами й визначали наступне: уміст гемоглобіну, уміст еритроцитів, кольоровий показник (КП), уміст лейкоцитів, лейкоцитарну формулу, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) [8, 9]. Також визначали вміст креатиніну (за реакцією з пікриновою кислотою) [8, 9] у крові та сечі, і для оцінки швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) розраховували кліренс ендogenous креатиніну, використовуючи наступну формулу:

$$C_{cr} = U_{cr} \cdot V / P_{cr},$$

де C_{cr} – кліренс креатиніну,
 U_{cr} – концентрація креатиніну в сечі,

P_{cr} – концентрація креатиніну в плазмі крові,

V – добова кількість сечі.

Також у сироватці крові щурів за допомогою біохімічних наборів виробництва «DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Німеччина) на автоматичному біохімічному аналізаторі «Express Plus» («Bayer Diagnostics», Німеччина) визначали вміст сечовини (діацетилмонооксидним методом), загальний білок (біуретовим методом), вміст глюкози (глюкозооксидазним методом), вміст аспартатамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ) (методом Райтмана-Френкеля), вміст білірубіну (методом Йендрашека-Грофа), вміст холестерину (модифікованим методом Лібермана-Бухарда) [8, 9].

Одержані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Ст'юдента за допомогою комп'ютерних програм [10].

Результати та їх обговорення. У ході дослідження встановлено, що в/ш введення Артритану в усіх обраних дозах протягом періоду спостереження не мало значимого негативного впливу на загальний стан, зовнішній вигляд (стан шкірних покривів і слизових оболонок) і поведінку щурів. Вживання їжі та води в тварин дослідних груп не мало відмінностей від тварин з групи інтактного контролю. Протягом усього експерименту не було відмічено жодного випадку загибелі тварин.

Одним з інтегральних показників, що вивчався, була динаміка маси тіла щурів. За даним показником протягом усього експерименту не було зафіксовано достовірних відмінностей показників в щурів інтактною та дослідних груп під впливом Артритану. Усі показники маси тіла тварин знаходились у межах фізіологічної норми для даної вікової групи щурів.

Токсикологічні характеристики Артритану за хронічного в/ш введення також оцінювали за показниками клінічного аналізу сечі щурів на основі даних станом на 90 і 180 добу дослідження (табл. 1). Так, протягом дослідження не було зафіксовано статистично значимого впливу препарату порівняно з інтактною групою на показники спонтанного добового діурезу, питомої щільності та рН сечі тварин. Усі дані

Таблиця 1

Показники клінічного аналізу сечі щурів під впливом хронічного введення препарату «Артритан» (n = 80)

Показник клінічного аналізу сечі	Інтактний контроль	Артритан, 0,1 мл/кг	Артритан, 0,2 мл/кг	Артритан, 0,5 мл/кг
90 доба				
Діурез, мл/доба	8,5 ± 0,2	8,6 ± 0,2	8,9 ± 0,3	8,7 ± 0,3
Питома щільність	1,020 ± 0,006	1,022 ± 0,005	1,024 ± 0,005	1,021 ± 0,005
pH	5,95 ± 0,16	6,0 ± 0,15	5,96 ± 0,12	5,85 ± 0,15
Білок, мг/доба	1,31 ± 0,07	1,37 ± 0,08	1,34 ± 0,08	1,40 ± 0,08
Глюкоза, ммоль/доба	0	0	0	0
180 доба				
Діурез, мл/доба	12,1 ± 0,3	12,3 ± 0,5	12,7 ± 0,3	12,8 ± 0,3
Питома щільність	1,023 ± 0,006	1,020 ± 0,005	1,019 ± 0,005	1,025 ± 0,005
pH	5,92 ± 0,12	5,83 ± 0,17	5,78 ± 0,15	5,93 ± 0,15
Білок, мг/доба	1,45 ± 0,10	1,28 ± 0,09	1,30 ± 0,09	1,38 ± 0,10
Глюкоза, ммоль/доба	0	0	0	0

показники знаходились у межах фізіологічної норми.

Тривале застосування тест-зразка також не мало вірогідного впливу на показники рівня глюкозурії в щурів усіх експериментальних груп, при цьому даний показник не визначався загальноприйнятими методами кількісного та якісного аналізу, що знаходиться у межах фізіологічної норми.

У ході аналізу сечового осаду тварин, що отримували Артритан у всіх досліджених дозах, будь-яких ознак сечового синдрому та патофізіологічних змін

у співвідношеннях формених елементів визначено не було. Вміст лейкоцитів, еритроцитів, епітелію та циліндрів знаходився в межах фізіологічної норми та на рівні інтактних тварин, по 0–2 у полі зору.

Результати вивчення впливу препарату «Артритан» на азотистий обмін у щурів за хронічного введення наведено в таблиці 2. Дані показники відображають як функціональні можливості сечовидільної системи дослідних тварин, так і стан білкового та азотистого обмінів.

Таблиця 2

Показники азотистого обміну в щурів за умов хронічного введення препарату «Артритан» (M ± m)

Дослідна група	Сечовина крові, ммоль/л	Креатинін крові, мкмоль/л	Креатинін сечі, ммоль/л	Швидкість клубочкової фільтрації, мл/доба
90 доба				
Інтактний контроль	4,37 ± 0,12	43,50 ± 3,02	2,07 ± 0,23	395,4 ± 27,5
Артритан, 0,1 мл/кг	4,39 ± 0,11	43,27 ± 3,00	1,95 ± 0,22	378,9 ± 26,3
Артритан, 0,2 мл/кг	4,51 ± 0,13	47,15 ± 3,27	2,03 ± 0,21	380,4 ± 26,4
Артритан, 0,5 мл/кг	4,57 ± 0,13	42,93 ± 2,98	1,97 ± 0,23	389,6 ± 27,0
180 доба				
Інтактний контроль	4,75 ± 0,33	44,44 ± 3,09	1,80 ± 0,18	482,9 ± 23,8
Артритан, 0,1 мл/кг	4,57 ± 0,32	45,20 ± 3,14	1,78 ± 0,17	472,6 ± 23,3
Артритан, 0,2 мл/кг	4,22 ± 0,29	43,79 ± 3,04	1,72 ± 0,16	489,5 ± 24,1
Артритан, 0,5 мл/кг	4,70 ± 0,33	44,68 ± 3,10	1,70 ± 0,15	482,7 ± 23,7

Біохімічні показники крові щурів за умов хронічного введення препарату «Артритан» ($M \pm m$)

Показник біохімічного аналізу крові	Інтактний контроль	Артритан, 0,1 мл/кг	Артритан, 0,2 мл/кг	Артритан, 0,5 мл/кг
90 доба				
Глюкоза, ммоль/л	3,73 ± 0,18	3,76 ± 0,19	3,85 ± 0,19	3,58 ± 0,18
Загальний білок, г/л	73,27 ± 2,12	73,42 ± 2,13	73,15 ± 2,11	73,35 ± 2,14
Холестерин, ммоль/л	1,53 ± 0,08	1,57 ± 0,08	1,58 ± 0,09	1,52 ± 0,09
Білірубін, мкмоль/л	6,45 ± 0,17	6,49 ± 0,17	6,47 ± 0,16	6,23 ± 0,14
АлАТ, мккат/л	0,41 ± 0,01	0,44 ± 0,01	0,42 ± 0,02	0,40 ± 0,02
АсАТ, мккат/л	0,70 ± 0,02	0,74 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,70 ± 0,03
180 доба				
Глюкоза, ммоль/л	3,88 ± 0,19	3,61 ± 0,18	3,98 ± 0,20	3,96 ± 0,19
Загальний білок, г/л	72,38 ± 2,11	71,73 ± 2,08	71,82 ± 2,08	72,44 ± 2,10
Холестерин, ммоль/л	1,65 ± 0,07	1,61 ± 0,07	1,68 ± 0,07	1,66 ± 0,07
Білірубін, мкмоль/л	6,16 ± 0,18	5,94 ± 0,17	6,36 ± 0,18	6,13 ± 0,18
АлАТ, мккат/л	0,38 ± 0,01	0,36 ± 0,02	0,37 ± 0,02	0,38 ± 0,02
АсАТ, мккат/л	0,75 ± 0,02	0,69 ± 0,02	0,72 ± 0,04	0,68 ± 0,03

Отримані результати свідчать, що за тривалого застосування Артритан статистично значимо не впливає на показники азотистого обміну. Коливання вмісту сечовини та креатиніну в крові знаходяться в межах фізіологічної норми.

Результати аналізу біохімічних показників крові щурів під впливом хронічного введення Артритану наведено в таблиці 3.

Отримані дані свідчать, що тест-зразок у всіх дозах не мав статистично значимого впливу на рівень досліджених біохімічних показників порівняно з інтактними тваринами. Загалом усі досліджувані параметри: глюкоза, загальний білок, холестерин, білірубін, активність АлАТ і АсАТ в інтактній та дослідних групах знаходяться в діапазоні показників нормальних величин для щурів і не виходять за межі фізіологічної норми. Отримані результати свідчать, що Артритан у досліджених дозах за в/ш шляху введення не впливає на показники, які характеризують функціональний стан печінки та нирок щурів.

Протягом дослідження також проводили спостереження за картиною периферичної крові тварин під впливом Артритану. Аналіз отриманих гемато-

логічних показників тварин (табл. 4, 5) свідчить, що за умов хронічного застосування Артритану в досліджених дозах токсичного впливу на показники периферичної крові щурів не відбувається. Усі показники знаходяться в межах фізіологічної норми та не мають вірогідних відмінностей від інтактної групи.

Наведені в таблиці 5 параметри гемограми щурів свідчать, що на 90 і 180 добу дослідження показники вмісту гемоглобіну, еритроцитів, лейкоцитів, КП і ШОЕ тварин на фоні застосування Артритану не відрізнялися від показників інтактних щурів та знаходились у межах фізіологічної норми.

У лейкоцитарній формулі щурів дослідних груп (табл. 5) під впливом хронічного застосування Артритану відсоткове співвідношення різних форм лейкоцитів також відповідало інтактним тваринам і не відрізнялося від показників норми. Винятком можна вважати лише підвищення вмісту сегментоядерних нейтрофілів під впливом тестового препарату в дозі 0,5 мл/кг станом на 180 добу дослідження, що вірогідно перевершує інтактний рівень, але, не зважаючи на це, знаходиться в межах фізіологічної норми для щурів.

Таблиця 4

Показники клінічного аналізу крові щурів за умов хронічного введення препарату «Артритан» ($M \pm m$)

Дослідна група	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, $10^{12}/л$	Кольоровий показник (КП)	Лейкоцити, $10^9/л$	Швидкість осідання еритроцитів, мм/год
90 доба					
Інтактний контроль	147,4 ± 3,9	5,06 ± 0,12	0,87 ± 0,01	8,94 ± 0,24	4,30 ± 0,37
Артритан, 0,1 мл/кг	146,9 ± 3,8	5,15 ± 0,11	0,85 ± 0,01	8,74 ± 0,23	4,50 ± 0,34
Артритан, 0,2 мл/кг	148,7 ± 3,9	5,13 ± 0,11	0,87 ± 0,01	8,84 ± 0,24	4,10 ± 0,31
Артритан, 0,5 мл/кг	149,2 ± 3,8	5,18 ± 0,12	0,86 ± 0,01	9,04 ± 0,25	4,20 ± 0,33
180 доба					
Інтактний контроль	146,1 ± 3,8	5,10 ± 0,09	0,86 ± 0,02	9,17 ± 0,24	4,10 ± 0,38
Артритан, 0,1 мл/кг	145,4 ± 3,7	4,97 ± 0,10	0,88 ± 0,01	9,49 ± 0,25	4,20 ± 0,39
Артритан, 0,2 мл/кг	147,2 ± 3,9	5,11 ± 0,11	0,87 ± 0,02	9,37 ± 0,25	4,30 ± 0,42
Артритан, 0,5 мл/кг	146,7 ± 3,8	5,04 ± 0,08	0,87 ± 0,02	8,87 ± 0,24	4,40 ± 0,50

Таблиця 5

Показники лейкоцитарної формули щурів за умов хронічного введення препарату «Артритан»

Дослідна група	Нейтрофіли юні, %	Нейтрофіли паличкоядерні, %	Нейтрофіли сегментоядерні, %	Еозинофіли, %	Базофіли, %	Моноцити, %	Лімфоцити, %
90 доба							
Інтактний контроль	–	1,0 ± 0,15	21,67 ± 0,50	1,0 ± 0,03	–	3,58 ± 0,31	72,76 ± 0,83
Артритан, 0,1 мл/кг	–	0,80 ± 0,20	22,28 ± 0,40	0,80 ± 0,20	–	3,29 ± 0,34	72,75 ± 0,70
Артритан, 0,2 мл/кг	–	1,19 ± 0,20	22,14 ± 0,45	1,10 ± 0,10	0,10 ± 0,10	3,14 ± 0,41	72,32 ± 0,91
Артритан, 0,5 мл/кг	–	0,91 ± 0,18	21,98 ± 0,45	0,88 ± 0,18	–	3,38 ± 0,37	72,86 ± 0,79
180 доба							
Інтактний контроль	–	1,20 ± 0,20	20,64 ± 0,57	0,80 ± 0,14	–	3,76 ± 0,20	73,60 ± 0,59
Артритан, 0,1 мл/кг	–	1,10 ± 0,18	20,84 ± 0,58	1,00 ± 0,15	–	3,96 ± 0,22	73,10 ± 0,62
Артритан, 0,2 мл/кг	–	1,40 ± 0,27	22,19 ± 0,55	0,92 ± 0,32	0,20 ± 0,13	3,60 ± 0,27	71,69 ± 0,69
Артритан, 0,5 мл/кг	–	1,49 ± 0,31	22,83 ± 0,61*	0,41 ± 0,23	–	4,37 ± 0,38	70,90 ± 1,11

Примітка. * $p \leq 0,05$ порівняно з групою інтактних тварин.

Висновки

За умов хронічного в/ш введення щурям протягом 180 діб препарат «Артритан» у дозах 0,1; 0,2 та 0,5 мл/кг не викликає загибель тварин, не чинить токсичного впливу на загальний стан, поведін-

ку та динаміку маси тіла, не викликає достовірних відмінностей у показниках лабораторних аналізів сечі та крові, практично не впливає на функціональний стан сечовидільної та гепатобіліарної систем тварин.

1. Фітотерапія: сучасні тенденції до використання в лікарській практиці та перспективи подальшого розвитку (огляд літератури та результати власних досліджень) / Т. П. Гарник, В. А. Туманов, В. В. Поканевич [та ін.] // Фітотерапія. Часопис. – 2012. – № 1. – С. 4–11.
2. Kunle O. F. Standardization of herbal medicines: A review / O. F. Kunle, H. O. Egharevba, P. O. Ahmadu // Int. J. Biodivers. Conserv. – 2012. – V. 4 (3). – P. 101–112.
3. Олюнин Ю. А. Хроническая ревматическая боль. Особенности развития и принципы лечения / Ю. А. Олюнин // Ревматология. – 2013. – № 6. – С. 304–310.
4. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.drifz.kiev.ua/>
5. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
6. Guide for the care and use of laboratory animals. – 8th ed. – Washington : The National Academies Press, 2011. – 246 p.
7. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. рек.; под ред. А. В. Стефанова. – Киев : Авиценна, 2002. – 528 с.
8. Камышников В. С. Карманный справочник врача по лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – 4-е изд. – Москва : МЕДпресс-информ, 2011. – 400 с.
9. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. Т. 1; под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 928 с.
10. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – Киев : Морион, 2000. – 320 с.

Ю. М. Набока, Н. П. Зубицька, І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, І. А. Отришко **Дослідження хронічної токсичності препарату «Артритан»: вплив на** **функціональний стан і лабораторні показники щурів**

Сьогодні понад 80 % населення планети з лікувальною та/або профілактичною метою використовують препарати рослинного походження, які характеризуються високим рівнем безпеки та політропними властивостями, що зумовлюють їхній широкий спектр фармакодинаміки.

Мета дослідження – експериментальне вивчення токсикологічних властивостей препарату «Артритан» (хронічна токсичність) для обґрунтування безпеки застосування в клінічній практиці.

Встановлено, що протягом дослідження (180 днів) не було зафіксовано статистично значимого впливу препарату «Артритан» порівняно з інтактною групою на показники спонтанного добового діурезу, питомої щільності та рН сечі тварин. Усі дані показники знаходились у межах фізіологічної норми. У ході аналізу сечового осаду тварин, що отримували Артритан, у всіх досліджених дозах будь-яких ознак сечового синдрому та патофізіологічних змін у співвідношеннях формених елементів визначено не було. Вміст лейкоцитів, еритроцитів, епітелію та циліндрів знаходився у межах фізіологічної норми та на рівні інтактних тварин, по 0–2 у полі зору. За тривалого застосування Артритану статистично значимого впливу на показники азотистого обміну в тварин також не спостерігали. Коливання вмісту сечовини та креатиніну крові знаходяться в межах фізіологічної норми. Показано, що Артритан у досліджених дозах за внутрішньошлункового введення не впливає на показники, які характеризують функціональний стан печінки та нирок щурів. Аналіз гематологічних показників тварин ілюструє відсутність токсичного впливу препарату на показники периферичної крові щурів.

Загалом, за умов хронічного застосування препарат «Артритан» не чинить токсичного впливу на загальний стан, поведінку та динаміку маси тіла, не викликає достовірних відмінностей у показниках лабораторних аналізів сечі та крові, практично не впливає на функціональний стан сечовидільної та гепатобіліарної систем тварин.

Ключові слова: Артритан, хронічна токсичність, щури, функціональний стан, лабораторні показники

Ю. М. Набока, Н. П. Зубицкая, И. А. Зупанец, С. К. Шебеко, И. А. Отришко **Исследование хронической токсичности препарата «Артритан»:** **влияние на функциональное состояние и лабораторные показатели крыс**

На сегодняшний день более 80 % населения планеты с лечебной и/или профилактической целью используют препараты растительного происхождения, которые наряду с высоким уровнем безопа-

сности также обладают политропными свойствами, обуславливающими их широкий спектр фармакодинамики.

Цель исследования – экспериментальное изучение токсикологических свойств препарата «Артритан» (хроническая токсичность) для обоснования безопасности применения в клинической практике.

Установлено, что в ходе исследования (180 дней) не было зафиксировано статистически значимого влияния препарата «Артритан» по сравнению с интактной группой на показатели спонтанного суточного диуреза, удельной плотности и pH мочи животных. Все данные показатели находились в пределах физиологической нормы. В ходе анализа мочевого осадка животных, получавших Артритан во всех исследованных дозах, каких-либо признаков мочевого синдрома и патофизиологических изменений в соотношениях форменных элементов определено не было. Содержание лейкоцитов, эритроцитов, эпителия и цилиндров находилось в пределах физиологической нормы и на уровне интактных животных, по 0–2 в поле зрения. При длительном применении Артритана статистически значимого влияния на показатели азотистого обмена у животных тоже не наблюдали. Колебания содержания мочевины и креатинина крови находятся в пределах физиологической нормы. Показано, что Артритан в исследованных дозах при внутривенном пути введения не влияет на показатели, которые характеризуют функциональное состояние печени и почек крыс. Анализ гематологических показателей животных иллюстрирует отсутствие токсического воздействия препарата на показатели периферической крови крыс.

В общем, в условиях хронического применения препарат «Артритан» не оказывает токсического воздействия на общее состояние, поведение и динамику массы тела, не вызывает достоверных различий в показателях лабораторных анализов мочи и крови, практически не влияет на функциональное состояние мочевыделительной и гепатобилиарной системы животных.

Ключевые слова: Артритан, хроническая токсичность, крысы, функциональное состояние, лабораторные показатели

Yu. M. Naboka, N. P. Zubitska, I. A. Zupanets, S. K. Shebeko, I. A. Otrishko
Study of the chronic toxicity of the drug «Arthrigan»: effect on the functional state and laboratory parameters in rats

To date, more than 80 % of the world's population with medicinal and/or prophylactic purposes use herbal drugs that, together with a high level of safety, also have polytropic properties that determine their wide range of pharmacodynamic spectrum.

The aim of the work is the experimental study of the toxicological properties of the drug «Arthrigan» (chronic toxicity) to substantiate its safety use in clinical practice.

It has been established that during the study (180 days), no statistically significant effects of the drug «Arthrigan» compared with the intact group on the indices of spontaneous daily diuresis, specific density and pH urine of animals were recorded. All these indicators were within the physiological norm. During the analysis of the urinary sediment in animals, treated with Arthrigan in all the studied doses, there were no signs of urinary syndrome and pathophysiological changes in the proportions of formed elements. The content of leukocytes, erythrocytes, epithelium and cylinders was within the physiological norm and at the level of intact animals. Under long-term use of Arthrigan a statistically significant effect on the indicators of nitrogen metabolism in animals was not observed. Fluctuations of urea and blood creatinine are within the physiological norm. It was shown that Arthrigan in the studied doses after the intragastric administration does not affect the indices that characterize the functional state of the liver and kidneys of rats. Analysis of hematological parameters of animals illustrates the absence of toxic effects of the drug on the peripheral blood indices.

Generally, at conditions of chronic use the drug «Arthrigan» does not have toxic effects on the general condition, behavior and dynamics of body weight, does not cause significant changes in the laboratory tests of urine and blood, practically does not affect the functional state of the urinary and hepatobiliary systems of animals.

Key words: Arthrigan, chronic toxicity, rats, functional state, laboratory indicators

Надійшла: 14 березня 2019 р.

Контактна особа: Отрішко Інна Анатоліївна, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 57 706 30 72.
Електронна пошта: clinpharm@nuph.edu.ua

Данной публикацией мы начинаем цикл статей, посвященных популяризации международных рекомендаций по гармонизации подходов к морфологическим исследованиям в рамках доклинических испытаний лекарственных средств с целью обеспечения не только получения общепризнанных результатов, но и их общего адекватного понимания. Выполнение исследований в соответствии с данными документами позволит повысить уровень международного признания отечественной научной продукции и существенно сократить расходы производителей фармацевтической промышленности Украины в случае выхода на рынки Северной Америки, Европы и Японии.

Непролиферативные и пролиферативные поражения женской репродуктивной системы крыс и мышей

(по материалам Проекта INHAND (Международная гармонизация номенклатуры и диагностических критериев поражения крыс и мышей) D. Dixon, R. Alison, U. Bach et al. *Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Female Reproductive System. J. Toxicol Pathol.* 2014. V. 27 (3&4 Suppl). 1S–107S

Проект INHAND (Международная гармонизация номенклатуры и диагностических критериев поражения крыс и мышей) (www.toxpath.org/inhand.asp) является совместной инициативой обществ токсикологической патологии из Европы (ESTP), Великобритании (BSTP), Японии (JSTP) и Северной Америки (STP) для разработки международно признанной номенклатуры пролиферативных и непролиферативных поражений у лабораторных животных. Целью настоящей публикации является предоставление стандартизованной номенклатуры для классификации наблюдаемых микроскопических повреждений в репродуктивном тракте самок лабораторных крыс и мышей, с цветными микрофотографиями (журнал on line), иллюстрирующими примеры некоторых поражений. Стандартизованная номенклатура, представленная в этом документе, также доступна в электронном виде (<http://www.goren.org/>). Источники материалов включали базы данных гистопатологии из правительственных и научных учреждений, а также промышленных лабораторий по всему миру. Содержание включает спонтанные и возрастные поражения, а также поражения, вызванные воздействием исследуемых материалов. Сущест-

вует также раздел о нормальных циклических изменениях, наблюдаемых в яичнике, матке, шейке матки и влагалище, для сравнения нормальных физиологических изменений с патологическими поражениями. Широкое распространение и использование международной гармонизированной номенклатуры репродуктивных путей самок лабораторных животных уменьшит путаницу среди регуляторных и научно-исследовательских организаций в разных странах и обеспечит общий язык для увеличения и обогащения международных обменов информацией между токсикологами и патологоанатомами.

МОРФОЛОГИЯ

I. Нормальные циклические изменения репродуктивной системы самок грызунов

Продолжительность эстрального цикла различных линий грызунов, наиболее часто используемых в токсикологических исследованиях, как правило, составляет от 4 до 5 дней. Даже в пределах одной линии крыс или мышей продолжительность эстрального цикла может варьировать между особями.

Цикл грызунов подразделяется на четыре следующие фазы: *proestrus*, *estrus*, *metestrus* и *diestrus* (это предпочтительные для употребления в научных публикациях термины).

Синонимами этих предпочтительных терминов в литературе являются: кроме *proestrus*, *estrus*, термины «ранний *diestrus*/*diestrus* 1» и «*diestrus* 2». Фаза *metestrus* иногда упоминается как *diestrus* 1, но международно рекомендованным является использование термина «*metestrus*». Для каждой фазы цикла яичник, матка и влагалище имеют типичный морфологический внешний вид, который может быть использован для определения стадии цикла с помощью световой микроскопии; однако важно помнить, что фазы находятся в континууме, и, следовательно, морфология каждого органа может незначительно отличаться от прототипов, описанных здесь, особенно у мышей. В этих случаях должен диагностироваться более поздний этап цикла. Обследование вагинального мазка (цитология) и/или вагинальная гистология обычно используются как методы идентификации стадии цикла грызунов и могут быть использованы в качестве доказательства цикличности. Важно отметить, однако, что микроскопическое исследование только влагалища обычно не является адекватным для оценки потенциальных нарушений репродуктивного тракта самок в исследованиях токсичности. Как минимум, гистопатологический осмотр яичников, матки и влагалища должен проводиться не только для определения этапа цикла, но также и для оценки цикличности, выявления и интерпретации потенциальных нарушений цикла. Оценка состояния молочной железы и гипофиза также может помочь охарактеризовать нарушения эстрального цикла. Регистрация этапа цикла для рутинных скрининговых исследований токсичности не нужна; однако, это важно, чтобы патологоанатом оценивал ткани репродуктивного тракта самок с осознанием нормальной цикличности и пониманием морфологических признаков, соответствующих каждой фазе, так как могут быть обнаружены откло-

нения от нормы. Если изменения обнаружены, рекомендуется использовать морфологические диагнозы для детализации спектра изменений, присутствующих в каждом из органов репродуктивной системы самок, так как этапы эстрального цикла не достаточны для самостоятельных морфологических диагнозов. В исследованиях, в которых учет этапа цикла считается необходимым, требуется, чтобы этапы эстрального цикла по возможности определялись наряду с любыми другими специфическими морфологическими диагнозами у всех животных, так как нарушения эстрального цикла часто делают трудным или невозможным определить «этап» цикла у этих животных. В такой ситуации используются такие термины, как «невозможность определить стадию цикла» или «неопределенный этап», но морфологические изменения, которые проявляются в репродуктивных органах, должны регистрироваться в отдельных органах. Интерпретации этих изменений могут быть описаны далее в отчете о патологии.

А. Циклические изменения в яичнике грызунов

Структура и внешний вид яичника изменяется во время эстрального цикла в ответ на циклические изменения в уровнях гормонов гипофиза и гормонов яичников. В частности, морфологические изменения в третичных фолликулах и желтых телах *corpora lutea* (ЖТ) синхронизированы во время цикла. Поэтому знание физиологии эстрального цикла и понимание каждой синхронизированной комбинации делает возможным классифицировать яичник относительно одной из 4 стадий эстрального цикла на основе морфологии. Фолликулы можно классифицировать на изначальные (ооциты, окруженные одним слоем сплюснутых прегранулезных клеток и имеющие внешнюю базальную мембрану), растущие или атретичные. Растущие фолликулы далее описываются по морфологическим признакам как первичные (один слой из окружающих ооцит гранулезных клеток, по форме стремящихся от кубовидных к столбчатым), вторичные (2 или более

слоя гранулезных клеток, слой текальных клеток и *zona pellucida* между ооцитом и гранулезными клетками), везикулярные (вторичные фолликулы с заполненными жидкостью пространствами, которые не слились в один антрум), третичные (антрум и *cumulus oophorus* (гранулезные клетки, окружающие ооцит), которые образуют тяж, простирающийся в антральную полость). Эта терминология считается адекватной для оценки токсикологических исследований и является предпочтительной для использования. Поздние третичные фолликулы являются преовуляторными (синоним Граафовы), и в них разрушен *cumulus oophorus*, а ооцит и *corona radiata* больше не прикреплены к стенке фолликула. Дополнительные системы для классификации фолликулов как малых, средних или крупных с использованием количественных критериев для мышей и крыс менее полезны для скрининговой оценки, проводимой в рутинных исследованиях токсичности. Изначальные и растущие фолликулы на везикулярном этапе наблюдаются на всех стадиях эстрального цикла и не являются полезными для определения стадии эстрального цикла. Здоровые (неатретичные) поздние третичные фолликулы обычно присутствуют только во время *proestrus* и полезны для определения стадии. За исключением поздних третичных фолликулов в проэструсе, морфологические изменения в ЖТ являются наиболее полезными овариальными морфологическими характеристиками для определения стадии эстрального цикла. В яичнике грызунов начало каждого цикла происходит с овуляцией и образованием нового поколения ЖТ. ЖТ классифицируются на новые ЖТ, от самой последней овуляции (1–5 дней); недавние ЖТ, которые образовались в результате предыдущих овуляций в течение нескольких циклов (приблизительно 5–20 дней); и старые ЖТ, которые старше, чем приблизительно 4 прошедших цикла (≥ 21 дня) и еще не претерпели полной регрессии.

Новые ЖТ, образованные в результате последней овуляции, далее классифицируют на основе характеристик

окрашивания гематоксилином и эозином (H & E) в качестве базофильных и эозинофильных. Базофильные ЖТ наблюдаются при эструсе, метаэструсе и раннем диэструсе. Сразу же после овуляции (эструса) базофильные ЖТ состоят из небольших, яйцевидных, базофильных лютеиновых клеток с редкой цитоплазмой. Первоначально базофильные ЖТ имеют темную центральную область нелютеинизированных гранулезных клеток, хотя по мере лютеинизации происходит развитие центральной, заполненной жидкостью полости. В течение метаэструса базофильное ЖТ увеличивается и менее интенсивно окрашивается базофильно. Лютеиновые клетки становятся крупнее, круглее и слегка вакуолизированы; центры заполняются лютеальными клетками, хотя ЖТ с неполными центрами все еще можно найти. В течение диэструса базофильное ЖТ достигает наибольшего размера; ЖТ состоит из больших, многоугольных, слегка базофильных, мелко вакуолизированных лютеиновых клеток, обычно с полностью заполненными центрами. Нет лютеолиза. В проэструсе базофильное ЖТ начинает становиться эозинофильным. В раннем проэструсе можно увидеть области базофильных ЖТ, которые превращаются в эозинофильные, но базофильные области все еще присутствуют. По мере продолжения проэструса ЖТ, сформированное при последней овуляции, становится полностью эозинофильным. В позднем проэструсе лютеолиз (характеризующийся апоптозом отдельных клеток) и/или вакуолизацией, можно наблюдать в этих эозинофильных ЖТ от самой последней овуляции. Таким образом, в конце проэструса, полностью базофильные ЖТ обычно не наблюдаются в яичнике нормально циклирующего грызуна. Недавние ЖТ (то есть, ЖТ в пределах приблизительно 1–4 циклов от последней или текущей овуляции) также эозинофильные. Однако они имеют тонкие морфологические отличия от эозинофильных ЖТ текущих овуляций.

Эозинофильные ЖТ из последних циклов отличаются снижением вакуолизации лютеиновых клеток и увеличением

инфильтрации фибробластов по сравнению с таковыми из текущих овуляций. Эти различия иногда трудно различить. Старые ЖТ (> 4 цикла) относительно легко отличить. Они имеют более центральное положение в яичнике, небольшие по размеру и состоят из менее интенсивно окрашивающихся эозинофильных лютеиновых клеток, разделенных волокнистой тканью.

При микроскопии с малым увеличением поздние третичные фолликулы являются самым легким для идентификации компонентом в проэструсе (рис. 1, 2).

Фолликулы: крупные третичные фолликулы очевидны на этом этапе и расположены вблизи поверхности яичника. Их гранулезные клетки являются кубовидными и/или многоугольными. Многие антральные третичные фолликулы могут быть атретичными. Хотя дискриминация здоровых третичных фолликулов у особей, перенесших раннюю атрезию, иногда затруднена при микроскопии с малым увеличением, апоптотические гранулезные клетки распознаются в атретических фол-

ликулах. После пика эстрогена происходит выброс лютеинизирующего гормона, а уровни эстрогена снижаются, так как поздний третичный фолликул начинает продуцировать прогестерон в процессе подготовки к овуляции.

Желтые тела: ЖТ от последней овуляции большие, а характеристики окрашивания начинают меняться от базофильных до эозинофильных; к концу проэструса ЖТ полностью эозинофильные. Дегенеративные процессы в этих ЖТ характеризуются цитоплазматической вакуолизацией или апоптозом в лютеиновых клетках. Иногда в этих ЖТ присутствуют большие участки некроза и/или моноядерные клеточные инфильтраты. Проплиферация волокнистой ткани отмечается в эозинофильных ЖТ из предыдущих циклов.

При микроскопии с малым увеличением вновь образующееся базофильное ЖТ является отличительной чертой эструса (рис. 3, 4).

Фолликулы: отсутствие здоровых (неатретических) третичных фолликулов. Увеличивается количество мелких везикулярных фолликулов.

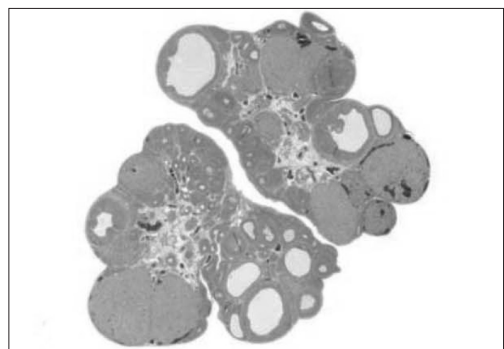


Рис. 1. Яичник в проэструсе с третичными (граафовыми) фолликулами, крыса

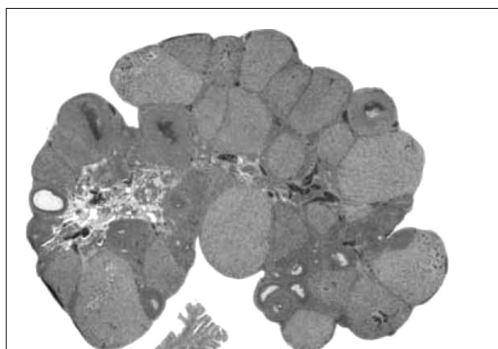


Рис. 3. Яичник в эструсе, крыса

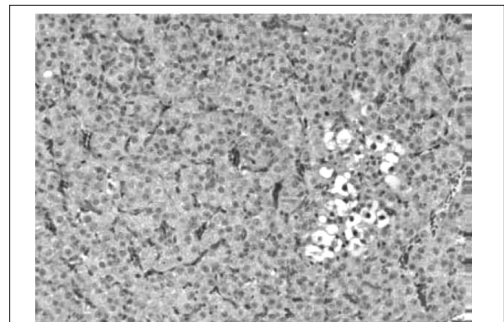


Рис. 2. Желтое тело в проэструсе, крыса

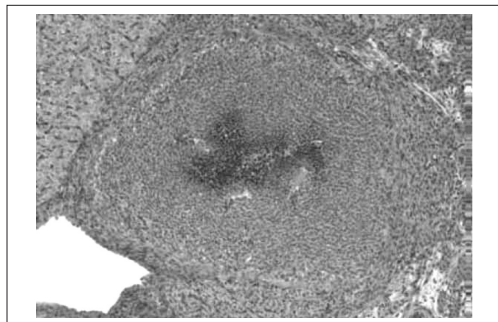


Рис. 4. Новое желтое тело в эструсе, крыса

Желтые тела: новые базофильные ЖТ, образованные после текущей овуляции, характерны для этого этапа. Они состоят из базофильных, мелких, веретенообразных лютеиновых клеток, которые очень напоминают гранулезные клетки. Наличие новообразованных кровеносных сосудов (ангиогенез) делает новообразованные базофильные ЖТ легко и четко отличимыми от больших фолликулов или атретических фолликулов, в которых кровеносные сосуды отсутствуют в гранулезном клеточном слое. Иногда новообразованное базофильное ЖТ имеет центральные полости, которые могут полностью или не полностью заполняться по мере продвижения цикла. Эозинофильные ЖТ непосредственно из предыдущего цикла (то есть, непосредственно из предшествующего проэструса) по-прежнему велики, но дегенеративные процессы, включая апоптоз и фиброз, более развиты.

При микроскопии с малым увеличением базофильные ЖТ легко распознаются в *metestrus* (рис. 5, 6).

Фолликулы: нет здоровых крупных поздних третичных фолликулов, но присутствуют многие растущие фолликулы разных типов.

Желтые тела: ЖТ текущей овуляции характерно увеличены по сравнению с таковыми в эструсе, но все же меньше, чем в диэструсе. Лютеальные клетки все еще имеют базофильную цитоплазму с большими ядрами. Их ядрышки видны. ЖТ иногда содержат заполненные жидкостью центральные полости разных размеров, хотя их встречаемость уменьшается по сравнению с тем, что наблюдается при эструсе. ЖТ непосредственно из предыдущего цикла демонстрируют продвинутый фиброз, но

их размер по-прежнему аналогичен таковым ЖТ, сформированным во время последней овуляции. У грызунов ЖТ продуцируют прогестерон в *metestrus*. Уровни прогестерона быстро растут на этом этапе, но снова падают при отсутствии стимуляции шейки матки, поскольку ЖТ начинают преимущественно продуцировать 20 α -ОН-прогестерон, и уровни прогестерона снижаются.

В диэструсе при микроскопии с малым увеличением ЖТ от текущей овуляции слегка базофильны и достигли максимального размера (рис. 7 и 8). Третичные фолликулы, готовые к следующей овуляции, увеличены в размерах.

Фолликулы: количество третичных фолликулов увеличено, но они меньше по размеру, чем наблюдаемые в проэструсе.

Желтые тела: ЖТ текущей овуляции достигли максимального размера. Лютеиновые клетки имеют пенистую, слегка базофильную цитоплазму. В этих ЖТ нет доказательств лютеолиза. ЖТ непосредственно из предшествующего цикла являются эозинофильными и вакуолизированными, а также появляется выраженная инфильтрация фиброзной ткани.

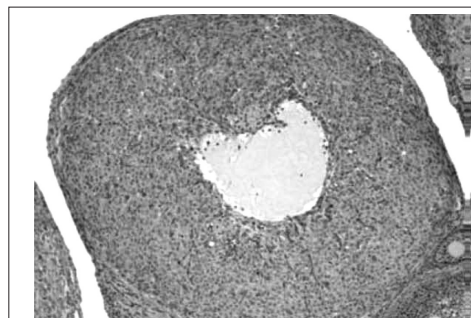


Рис. 6. Желтое тело в метаэструсе, крыса

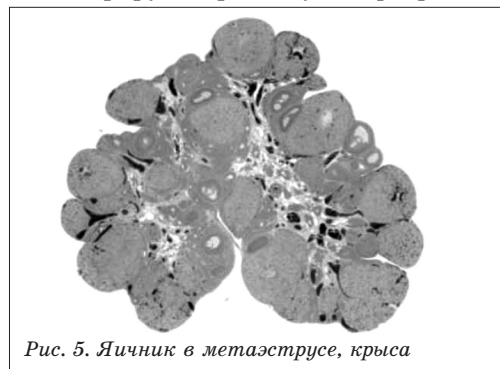


Рис. 5. Яичник в метаэструсе, крыса

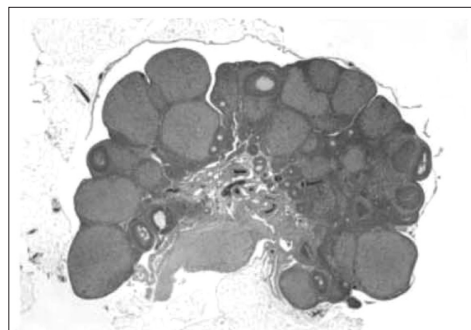


Рис. 7. Яичник в диэструсе, крыса

В. Циклические изменения в матке грызунов

Во время проэструсной фазы цикла (рис. 9, 10) уровень эстрадиола, продуцируемого в быстрорастущих третичных фолликулах, поднимается и достигает пика, что приводит к значительным изменениям в матке грызунов. Под влиянием эстрадиола, эпителий просвета и, в меньшей степени, железистый эпителий подвергается гипертрофии. Эпителиальные клетки, выстилающие просвет и железы, увеличиваются в высоту от низких до более высоких столбчатых клеток. Также в эпителии увеличивается митотическая активность, а митотические фигуры могут быть многочисленными. Строма может проявлять более выраженную васкуляризацию и ранний отек. Воспалительные клетки начинают увеличиваться в количестве и достигают пика при эструсе. Просвет становится заметно расширенным и заполнен прозрачной жидкостью к концу этой фазы.

Во время фазы эструса (рис. 11, 12) (начиная с овуляции) матка морфологически характеризуется появлением апоптотических эпителиальных клеток. Эта гибель эпителиальных клеток

начинается внутри желез, но вскоре также распространяется и на эпителий из просвета матки. Хотя митотические фигуры все еще могут быть обнаружены между апоптотическими клетками, их число быстро уменьшается. В начале этой фазы просвет матки расширяется, но в конце эструса просвет рогов матки возвращается к нормальной форме и объему. На этой фазе количество воспалительных клеток велико. Циркулирующие уровни прогестерона (продуцируемого фолликулами) падают во время эструса.

По мере развития новых ЖТ после овуляции начинается *metestrus* (рис. 13, 14). Эта фаза характеризуется снижением

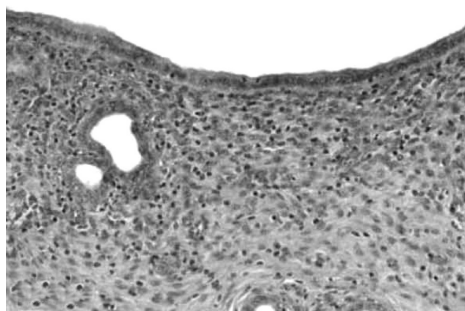


Рис. 10. Матка в проэструсе, крыса

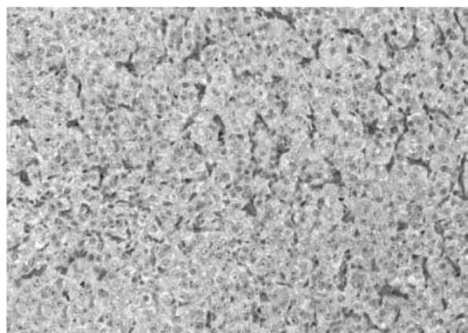


Рис. 8. Желтое тело в диэструсе, крыса

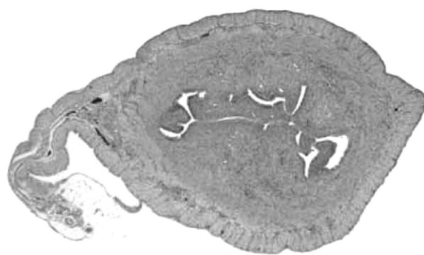


Рис. 11. Матка в эструсе, крыса

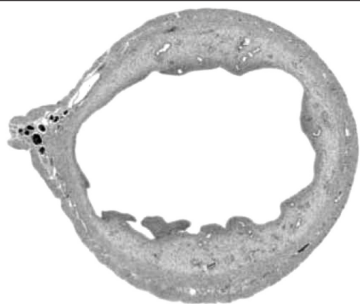


Рис. 9. Матка в проэструсе, крыса

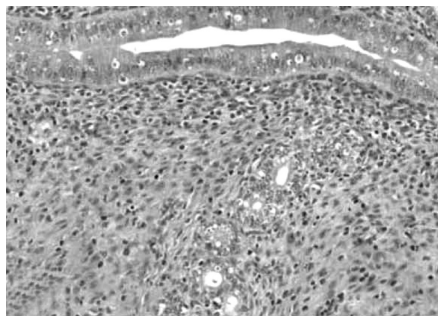


Рис. 12. Матка в эструсе, крыса

числа апоптотических клеток в течение первой части этой фазы с возвратом к митотической активности. В основном, эпителиальные клетки, которые выжили или были недавно образованы, по своей форме – низкие столбчатые. Стромальные клетки в области, подлежащей люминальному эпителию, становятся чуть более заметными в конце фазы метэструса с переходом в фазу диэструса, и возможно присутствие нескольких эозинофилов.

Во время фазы диэструса (рис. 15, 16), когда повышенные уровни прогестерона возвращаются к исходному уровню, матка маленькая и имеет довольно неактивные железы, которые выстилаются кубоидными и низкостолбчатыми эпителиальными клетками. Просвет рогов является щелевидным и может быть пилообразным. Строма – компактна. Митотическая активность низкая из-за низкого уровня эстрогенов в течение этой фазы, и возможно присутствие нескольких эозинофилов.

С. Циклические изменения во влагалище и шейке матки грызунов

Начало проэструса (рис. 17–19) определяется формированием слоя сплюснутых, богатых кератогиалинами эпителиальных клеток, называемых *stratum*

granulosum, которые лежат поверх базального эпителия (*stratum germinativum*). В раннем проэструсе присутствуют митотические фигуры и начинает развиваться поверхностный слизистый слой (слизистая оболочка), придавая вагинальному эпителию 3 различных слоя (базальный эпителий, *stratum granulosum* и поверхностный слизистый слой). По мере прогрессирования проэструса начинает образовываться 4 слой, *stratum corneum*, между *stratum granulosum* и слизистым слоем. К концу проэструса полностью кератинизированный слой *stratum corneum* приводит к появлению сильно выраженной эозинофильной полосы, подлежащий четко видимый поверхностный слизистый слой, который может проявлять признаки десквамации. В это время наблюдаются только случайные гранулоциты.

В раннем эструсе (рис. 20) происходит уменьшение числа митотических фигур, а слизистый слой истончается, открывая теперь подлежащий *stratum corneum*. Во время эструса происходит прогрессирующее отделение *stratum corneum* отшелушенных ороговевших клеток и обломков в просвет вагины.

Наблюдается увеличение инфильтрации нейтрофилов и, возможно, эозинофилов, но количества их могут варь-



Рис. 13. Матка в метэструсе, крыса

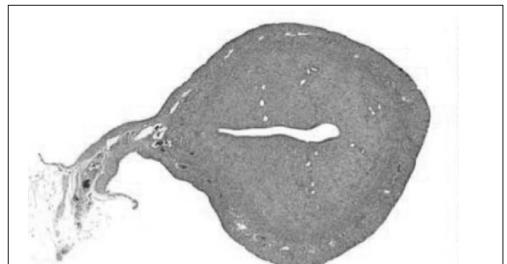


Рис. 15. Матка в диэструсе, крыса

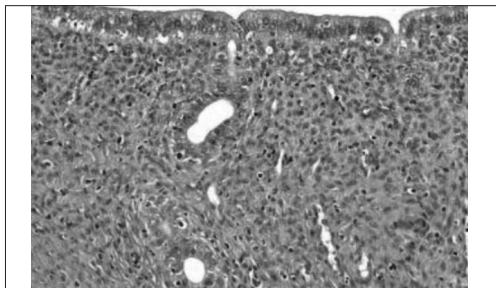


Рис. 14. Матка в метэструсе, крыса

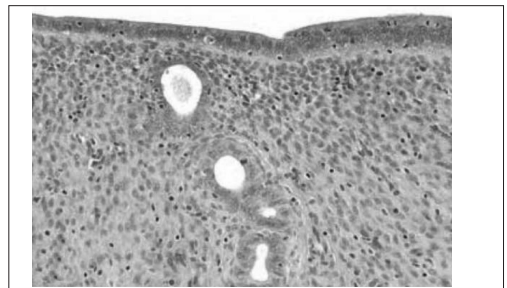


Рис. 16. Матка в диэструсе, крыса

ровать. Во время позднего эструса начинается отслоение *stratum corneum*.

Начало *metestrus* (рис. 21) отмечено полным исчезновением *stratum corneum*. В просвете могут присутствовать остаточные отшелушивания и обломки, и может сохраняться некоторый отшелушенный эпителий с продолжающейся десквамацией во всем *metestrus*. Наблюдается прогрессирующая потеря *stratum granulosum* и поверхностных слоев базального эпителия. Наблюдается увеличение числа гранулоцитов.

В начале *diestrus* (рис. 22) вагинальный эпителий наиболее тонок за весь цикл и может составлять только 3–5 клеток в толщину. В ходе диэструса вагинальный эпителий постепенно увеличивается по толщине до 8–10 клеток, и пролиферация тоже растет, но без чет-

кого *stratum granulosum*. Число наблюдаемых нейтрофилов варьирует, уменьшаясь по мере развития диэструса.

Цервикальный эпителий (рис. 23–28) реагирует аналогично вагинальному, хотя степень ответа и толщина слоя эпителия шейки матки обычно меньше, чем во влагалище. К тому же, изменения шейки матки могут иметь небольшой временной зазор по сравнению с влагалищем (то есть, некоторые ослизненные клетки все еще могут присутствовать в шейке матки во время раннего эструса (рис. 25). Гистологические изменения во влагалище и шейке матки крыс и мышей сходны; однако лейкоцитарная инфильтрация более выражена у мышей, и во время *metestrus* можно наблюдать интраэпителиальные микроабсцессы и выпячивания в просвет.

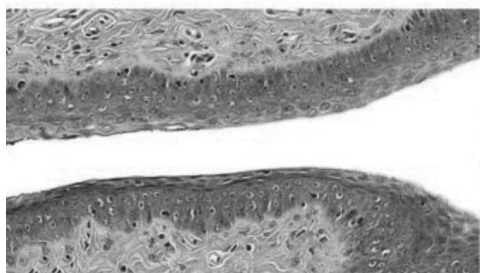


Рис. 17. Влагалище в раннем проэструсе, крыса

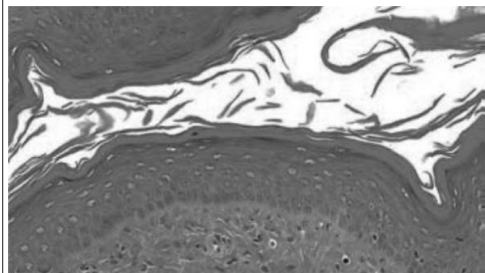


Рис. 20. Влагалище в эструсе, крыса

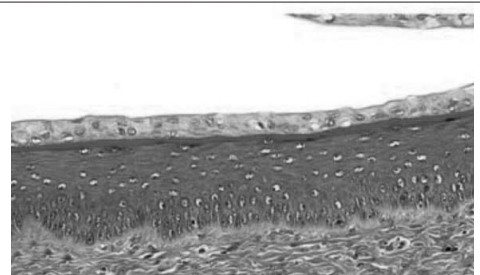


Рис. 18. Влагалище в середине проэструса, крыса

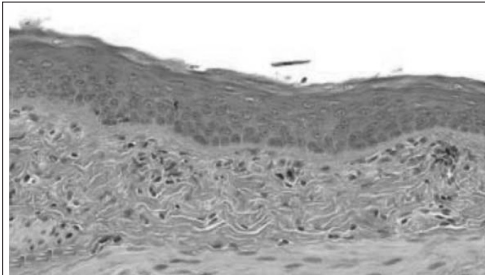


Рис. 21. Влагалище в метаэструсе, крыса

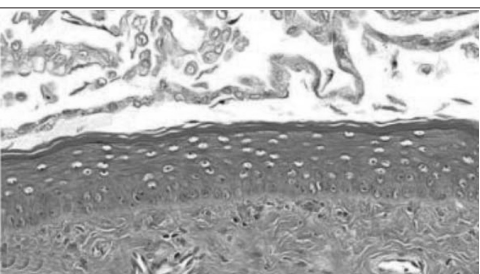


Рис. 19. Влагалище в позднем проэструсе, крыса

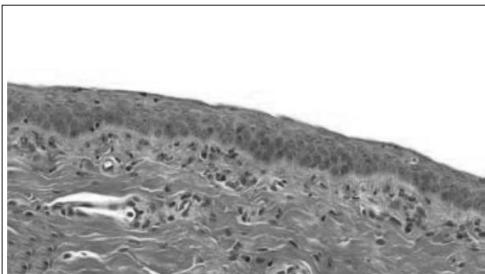


Рис. 22. Влагалище в диэструсе, крыса



Рис. 23. Шейка матки в проэструсе, крыса

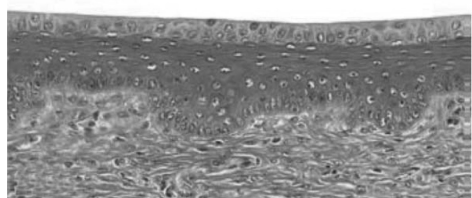


Рис. 24. Шейка матки в проэструсе, крыса

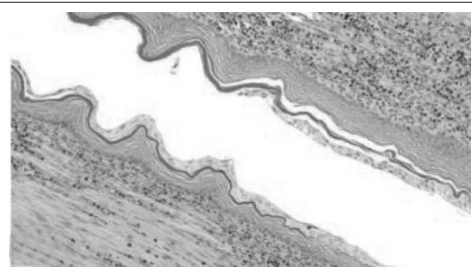


Рис. 25. Шейка матки в раннем эструсе, крыса

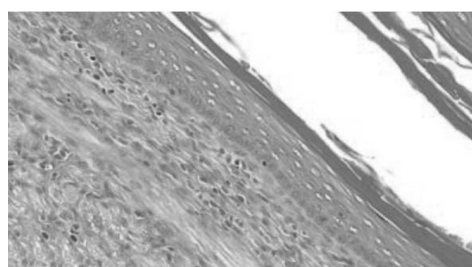


Рис. 26. Шейка матки в эструсе, крыса

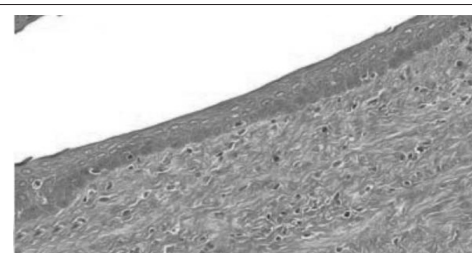


Рис. 27. Шейка матки в метаэструсе, крыса

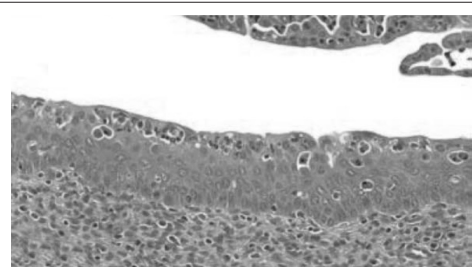


Рис. 28. Шейка матки в диэструсе, крыса

Д. Посмертные изменения в яичниках, матке, шейке матки и влагалище грызунов

В исследованиях токсичности ранняя или незапланированная смерть животных может накладывать артефактные изменения, которые препятствуют гистопатологической оценке. Важно, чтобы патолог знал о таких артефактах, чтобы они не были неправильно истолкованы как поражения. Образование пустых пространств вокруг *stratum granulosum* фолликулов является самым ранним признаком аутолиза в яичниках. При комнатной температуре (20 ± 2) °C начало этих изменений составляет 30–60 мин. За этим следуют аутолитические изменения в желтых телах, и примерно через 4 ч все ЖТ демонстрируют отделение некоторых лютеиновых клеток.

В матке первые посмертные признаки становятся очевидными примерно через 30 мин. Первым посмертным изменением является отделение железистого эпителия от его базальной мембраны. Затем следует шелушение поверхностного эпителия примерно через 8 ч. Посмертные изменения в гладкомышечных клетках миометрия состоят в образовании пространств между пучками и пикнозе ядер и появляются через 4 ч при комнатной температуре.

В цервикальном и вагинальном эпителии проявляются незначительные аутолитические изменения в течение 16 ч.

Матеріал підготували: Л. Б. Бондаренко, А. В. Матвієнко, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»