

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОРИГИНАЛЬНЫХ И ПЕРСПЕКТИВНЫХ
БИОМЕДИЦИНСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ»

На правах рукописи



Васильчук Анастасия Геннадьевна

**ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ
ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТА С НЕСТЕРОИДНЫМИ
ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ СРЕДСТВАМИ**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат фармацевтических наук
Иванова Елена Анатольевна

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Активные формы кислорода при воспалении и боли.....	9
1.2 Механизм действия НПВС и их влияние на образование АФК.....	14
1.3 Роль сукцината в воспалительных процессах.....	20
1.4 Антиоксидантный препарат этилметилгидроксипиридина сукцинат, его действие при воспалении и боли.....	23
1.5 Обоснование цели диссертационного исследования и используемых НПВС.....	25
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	30
2.1 Животные.....	30
2.2 Препараты и вещества, используемые в экспериментах.....	30
2.3 Дизайн исследования.....	31
2.4 Методы исследования.....	33
2.4.1 Методы исследования противоболевой активности.....	33
2.4.1.1 Тест «Укусные корчи».....	33
2.4.1.2 Формалиновый тест.....	34
2.4.1.3 Тест механической гипералгезии при воспалении.....	34
2.4.1.4 Модель послеоперационной гипералгезии.....	35
2.4.2 Методы исследования противовоспалительной активности.....	35
2.4.2.1 Модель каррагинанового отека.....	35
2.4.2.2 Модель коллагенового артрита.....	36
2.4.2.3 Биохимические методы исследования.....	37
2.4.3 Методы исследования побочного действия НПВС и влияния на него этилметилгидроксипиридина сукцината.....	41
2.4.3.1 Модель гастротоксичности.....	41
2.4.3.2 Регистрация артериального давления.....	42
2.4.3.3 Регистрация гематологических показателей.....	42
2.4.3.4 Методы исследования поведения крыс.....	42
2.5 Статистическая обработка.....	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	45
3.1 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при висцеральной и соматической боли в экспериментах на мышах и крысах.....	45

3.1.1 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при однократном пероральном введении на моделях висцеральной и соматической боли.....	45
3.1.2 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при курсовом пероральном введении на модели послеоперационной гипералгезии у крыс.....	54
3.2 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при экссудативном воспалении в экспериментах на мышах и крысах.....	61
3.2.1 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при остром экссудативном воспалении на модели каррагинанового отека у крыс и мышей.....	61
3.2.2 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при курсовом пероральном введении на модели коллагенового артрита у мышей.....	71
3.3 Безопасность комбинированного применения ингибиторов циклооксигеназы с этилметилгидроксипиридина сукцинатом в экспериментах на мышах и крысах	86
3.3.1 Безопасность комбинированного применения ингибиторов циклооксигеназы с этилметилгидроксипиридина сукцинатом у крыс с моделью гастротоксичности	86
3.3.2 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом на артериальное давление и гематологические показатели у крыс	89
3.3.3 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом на поведение крыс	94
3.3.3.1 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом при однократном пероральном введении на поведение крыс	94
3.3.3.2 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом при курсовом пероральном введении на поведение крыс	99
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	107
ВЫВОДЫ.....	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	120
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	121
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	122

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Одними из наиболее назначаемых и востребованных лекарственных препаратов являются нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) [236], используемые для лечения острой и хронической боли и воспаления [260]. Однако их применение ограничивают нежелательные побочные эффекты, которые, как и эффективность НПВС, носят дозозависимый характер и обусловлены, прежде всего, ингибированием 1 и 2 изоформы циклооксигеназы (ЦОГ-1 и ЦОГ-2) [260]. К основным вызываемым НПВС нежелательным явлениям (НЯ) относят нарушение работы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), включающее кровотечения [61, 166]; кардиоваскулярные осложнения [6, 153, 198, 216]; негативное влияние на функцию почек, вплоть до почечной недостаточности [38, 115, 226]. Регулярный прием большинства НПВС (неселективных ингибиторов ЦОГ) повышает риск гастроудоденальных кровотечений примерно в 2-4 раза [20]. Применением НПВС обусловлены не менее 40-50% случаев кровотечений в верхних отделах ЖКТ, требующих эндоскопического или хирургического гемостаза [260]. Курсовой прием НПВС приводит к повышению артериального давления (АД) [216] и увеличению риска гибели пациентов, перенесших инфаркт миокарда [70]. Накопившиеся данные об эффектах и НЯ НПВС отражены в клинических рекомендациях по их рациональному использованию, включающих медикаментозную профилактику осложнений НПВС-ассоциированных НЯ и противопоказания к их применению [260], и являются основанием для разработки новых подходов повышения эффективности и безопасности применения НПВС. Снижение доз НПВС с сохранением их эффективности может быть достигнуто при совместном применении НПВС с антиоксидантными средствами, так как при воспалении происходит активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), развивается метаболический ацидоз, приводящий к повреждению мембран клеток [285]; активные формы кислорода (АФК) являются альгогенами, участвующими в развитии воспалительной гипералгезии [217].

Степень разработанности проблемы. В качестве средства с антиоксидантным действием для комбинированного применения с НПВС с целью повысить их эффективность и безопасность в диссертационном исследовании использован этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС). ЭМГПС обладает антиоксидантным и мембранопротекторным действием, способствует улучшению микроциркуляции [242] и широко применяется в комплексной терапии цереброваскулярных, сердечно-сосудистых и ряда других заболеваний [241, 242]. Показано, что ЭМГПС при применении совместно с НПВС, вазоактивными препаратами, миорелаксантами, витаминами группы В ускоряет темп снижения боли у пациентов с радикулопатиями [234, 272, 273, 293, 303] и остеохондрозом разных отделов позвоночника

[301], а также повышает эффективность антигипертензивной терапии [249]. Экспериментально установлено, что ЭМГПС проявляет гастропротекторные свойства при курсовом введении крысам на модели ulcerogenezа, вызванного ацетилсалициловой кислотой [282]. Таким образом, известные данные о механизме действия и эффективности ЭМГПС позволяют рассматривать его в качестве средства для использования совместно с НПВС с целью снижения их доз, ослабления побочных эффектов и, следовательно, повышения безопасности применения НПВС с сохранением их эффективности.

Целью исследования является изучение противоболевого и противовоспалительного действия и сопутствующих эффектов этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) и НПВС – селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба и неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия – при их комбинированном применении.

Задачи исследования:

1. Изучить противоболевое действие ЭМГПС и НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба при их комбинированном применении при однократном пероральном введении на моделях острой ноцицептивной боли у мышей и крыс.

2. Изучить противоболевое действие ЭМГПС и НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба при их комбинированном применении при курсовом пероральном введении на модели послеоперационной гипералгезии у крыс.

3. Оценить выраженность антиэкссудативного действия ЭМГПС и НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба при их комбинированном применении при однократном пероральном введении на моделях острого экссудативного воспаления у мышей и крыс.

4. Оценить эффективность ЭМГПС и НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба при их комбинированном применении при курсовом пероральном введении на модели коллагенового артрита у мышей BALB/c.

5. Оценить безопасность комбинированного применения диклофенака натрия с этилметилгидроксипиридина сукцинатом и эторикоксиба с этилметилгидроксипиридина сукцинатом на модели вызванной ацетилсалициловой кислотой гастротоксичности у крыс.

6. Оценить безопасность комбинированного применения диклофенака натрия с этилметилгидроксипиридина сукцинатом и эторикоксиба с этилметилгидроксипиридина сукцинатом в отношении физиологических показателей у крыс.

Научная новизна. Проведено комплексное экспериментальное исследование влияния ЭМГПС на основные и побочные эффекты диклофенака натрия и эторикоксиба. На моделях ноцицептивной боли у мышей и крыс установлено, что ЭМГПС при однократном и курсовом пероральном введении в дозе 25 мг/кг усиливает противоболевой эффект селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба и неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия в дозе

1 мг/кг. При этом спектр противоболевого действия НПВС при комбинированном применении с ЭМГПС шире, чем НПВС *per se*, так как ЭМГПС (25 мг/кг) и НПВС (1 мг/кг), в отличие от НПВС, снижают боль в острую фазу в формалиновом тесте у крыс, обусловленную действием альгогена на первичные ноцицепторы. На модели каррагинанового отека у крыс и мышей показано, что применение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с диклофенаком натрия или эторикооксибом в дозе 1 мг/кг позволяет снизить дозу НПВС в 10 раз с сохранением выраженности антиэкссудативного эффекта. На модели коллагенового артрита у мышей BALB/c ЭМГПС при курсовом пероральном введении в дозе 25 мг/кг усиливает противоболевое и антиэкссудативное действие диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг, а также замедляет манифестацию клинических признаков артрита при применении *per se* и совместно с НПВС. ЭМГПС (25 мг/кг) и диклофенак натрия (1 мг/г) при ежедневном пероральном введении животным в течение 21 дня *per se* и совместно снижают повышенную концентрацию маркера распада коллагена оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом. Эторикоксиб при ежедневном пероральном введении мышам BALB/c в дозе 1 мг/кг, напротив, усиливает повышение уровня оксипролина в сыворотке крови животных с коллагеновым артритом, а ЭМГПС при совместном введении с эторикоксибом не влияет на этот показатель.

Эторикоксиб в дозе 10 мг/кг и диклофенак натрия в дозах 5 мг/кг и 10 мг/кг (в зависимости от длительности опыта) проявляют ульцерогенное действие, повышают АД (эторикоксиб – еще и при пероральном введении в течение 21 дня в дозе 1 мг/кг), влияют на гематологические показатели (диклофенак натрия при введении в течение 14 дней в дозе 5 мг/кг вызывает анемию и увеличивает содержание лейкоцитов; эторикоксиб в дозе 10 мг/кг – повышает уровень гранулоцитов), снижают массу тела (еще и в дозе 1 мг/кг) и двигательную активность крыс. ЭМГПС (25 мг/кг) и диклофенак натрия или эторикоксиб (1 мг/кг) при курсовом комбинированном пероральном применении не вызывают повышения АД, изменения гематологических показателей и нарушения ориентировочно-исследовательской реакции крыс. ЭМГПС (25 мг/кг) при комбинированном пероральном применении с диклофенаком натрия или эторикоксибом в дозах 1 и 10 мг/кг не оказывает влияния на слизистую оболочку желудка крыс с вызванной ацетилсалициловой кислотой гастротоксичностью.

Теоретическая и практическая значимость работы. Показано, что препарат с антиоксидантным действием ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, в которой он не оказывает влияния на боль и воспаление *per se*, усиливает противоболевой и противовоспалительный эффект ингибиторов ЦОГ диклофенака натрия и эторикоксиба и предупреждает их побочные эффекты. Использование ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с диклофенаком натрия и эторикоксибом позволяет снизить дозы НПВС до 10 раз при сохранении их эффективности.

Полученные в ходе диссертационного исследования данные свидетельствуют о целесообразности клинического исследования эффектов ЭМГПС и НПВС в малых дозах при комбинированном применении при ноцицептивной висцеральной и соматической боли и воспалении, в частности, при артритах. Уменьшение терапевтических доз НПВС при применении совместно с ЭМГПС обеспечит эффективность НПВС и их большую безопасность, так как НЯ при использовании НПВС снижают качество жизни и даже представляют угрозу здоровью у отдельных категорий пациентов.

Методология и методы исследования. Исследование выполнено в три этапа. На первом этапе оценивали влияние ЭМГПС на противоболевое действие эторикоксиба и диклофенака натрия и осуществляли выбор доз НПВС и ЭМГПС при их комбинированном применении; на втором – изучали влияние ЭМГПС на противовоспалительное действие ингибиторов ЦОГ. Третий этап работы включал эксперименты, задачей которых явилась оценка влияния ЭМГПС на выраженность побочного действия эторикоксиба и диклофенака натрия.

В исследовании использовали методы оценки фармакологической активности соединений в соответствии с рекомендациями «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Часть.1. М.: Гриф и К, 2012) и не включенные в него валидированные методы, применяемые зарубежными и отечественными исследователями [9, 10, 19, 228, 282, 304].

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Усиление противоболевого действия диклофенака натрия и эторикоксиба этилметилгидроксипиридина сукцинатом на модели острой висцеральной боли.
2. Усиление противоболевого действия диклофенака натрия и эторикоксиба этилметилгидроксипиридина сукцинатом на моделях послеоперационной гипералгезии и острой соматической боли, вызванной химической стимуляцией ноцицепторов.
3. Усиление антиэкссудативного действия диклофенака натрия и эторикоксиба этилметилгидроксипиридина сукцинатом на модели каррагинанового отека.
4. Повышение эффективности диклофенака натрия и эторикоксиба этилметилгидроксипиридина сукцинатом на модели коллагенового артрита.
5. Безопасность комбинированного применения диклофенака натрия (1 и 10 мг/кг) с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (25 мг/кг) и эторикоксиба (1 и 10 мг/кг) с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (25 мг/кг) у крыс с моделью гастротоксичности.

б. Безопасность комбинированного применения диклофенака натрия (1 мг/кг) с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (25 мг/кг) и эторикоксиба (1 мг/кг) с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (25 мг/кг) в отношении физиологических показателей.

Степень достоверности. Экспериментальная работа выполнена в соответствии с поставленными задачами; количество животных в группах было достаточным для обеспечения адекватного объема выборок при статистической обработке, которая проведена согласно общепринятым методам математической статистики.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы были представлены на Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки» (Рязань, 2018 г.); на II научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии» (Москва, 2021 г.); на IV Съезде фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций, новые идеи – новые лекарства» (Московская обл., 2023 г.); на Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Young people and science: results and perspectives» (Саратов, 2025 г.).

Личный вклад автора. Автором выполнен поиск и анализ источников литературы, при активном участии автора проведены эксперименты, обработка и интерпретация данных, сформулированы положения, выносимые на защиту, выводы и подготовлены публикации по результатам диссертационного исследования.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 работ, из них 9 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России, и 6 тезисов в материалах научных съездов и конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 150 страницах печатного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, главы обсуждения результатов исследования и выводов. Содержит 36 таблиц и 13 рисунков. Список литературы включает 76 отечественных и 231 зарубежный источник.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Активные формы кислорода при воспалении и боли

Воспаление – многокомпонентный процесс с множеством альтернативных и перекрещивающихся связей [266]. В ответ на повреждение или действие патогенного раздражителя возникает острое экссудативное воспаление, при котором организм пытается устранить вызвавшую его причину с последующим восстановлением целостности тканей. В норме процесс воспаления завершается, однако при определенных обстоятельствах оно становится плохо контролируемым, развивается хроническое воспаление, которое может начаться даже без явного воздействия внешнего повреждающего фактора и продолжаться длительное время. Хроническое воспаление является одним из ключевых звеньев патогенеза аутоиммунных, онкологических, инфекционных, ишемических и атеросклеротических заболеваний [151, 266].

В зоне воспаления усиливается образование активных форм кислорода (АФК), участвующих в реакциях перекисного окисления липидов (ПОЛ) [41]. Электронная конфигурация АФК определяет их высокую реакционную способность и чрезвычайно короткий период существования. Так, скорость взаимодействия гидроксильного радикала ($\bullet\text{OH}$) с окружающими молекулами практически равна скорости его диффузии. В большинстве случаев ключевыми АФК в реакциях свободно-радикального окисления (СРО) являются супероксид-анион радикал ($\bullet\text{OO}^-$), радикал оксида азота ($\bullet\text{NO}$), перекись водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал ($\bullet\text{OH}$). Супероксид-анион радикал ($\bullet\text{OO}^-$) и перекись водорода (H_2O_2) не обладают достаточной энергией для инициации ПОЛ, но являются необходимыми компонентами в реакциях образования запускающего ПОЛ гидроксильного радикала ($\bullet\text{OH}$) [252] (рисунок 1).

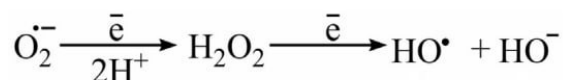


Рисунок 1. Схема образования гидроксильного радикала ($\bullet\text{OH}$) из супероксид-анион радикала ($\bullet\text{O}_2^-$) [129]

АФК играют важную роль в физиологических процессах. Они участвуют в окислительно-восстановительной регуляции фосфорилирования белков, ионных каналов и факторов транскрипции, нужны для процессов биосинтеза, в частности гормонов щитовидной железы, и являются компонентами при сшивании внеклеточного матрикса. АФК образуются при участии ферментов НАДФН-оксидаз [107]. НАДФН-оксидазы – это мембраносвязанные ферментные комплексы, переносящие электрон от внутриклеточного НАДФН на наружную сторону мембраны с восстановлением внеклеточного молекулярного кислорода до супероксид

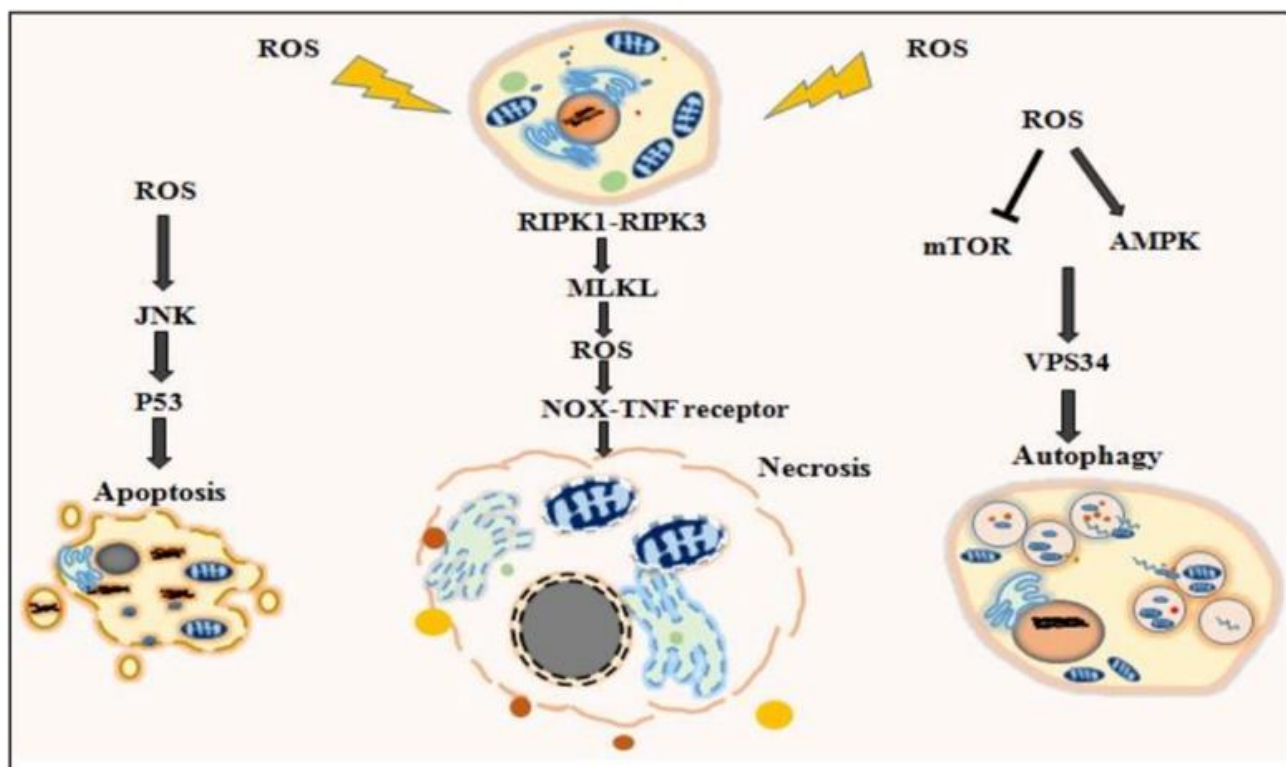
анион-радикала (большинство НАДФН оксидаз) или перекиси водорода (НАДФН оксидаза 4) [46, 90]. АФК влияют на регуляцию АД, когнитивных и иммунных функций; выполняют защитную функцию, участвуя в уничтожении патогенных микроорганизмов и развитии воспалительной реакции, и влияют на клеточный рост [107]. Образование АФК происходит в разных биологических системах: в дыхательной цепи митохондрий, электронно-транспортной цепи микросом, при переходе оксигемаглобина в метгемоглобин, в процессе метаболизма архидоновой кислоты, в реакции гипоксантин-ксантиноксидаза, при биосинтезе и окислении катехоламинов и др. [297]. При недостатке образования АФК развиваются хроническая гранулематозная болезнь и некоторые аутоиммунные расстройства [107].

АФК инициируют свободнорадикальные цепные реакции и окисляют липиды, белки и ДНК. Свободнорадикальное окисление (СРО) липидов приводит к снижению текучести мембран клеток (из-за окисления полиненасыщенных жирных кислот), повышению проницаемости мембран для воды и веществ, в норме не проникающих через них или проникающих через определенные ионные каналы, повреждению мембранных белков, включая ферменты, транспортные белки и т.д. [75]. Усиление образования АФК может привести к программируемой клеточной гибели: в зависимости от условий, к некрозу, апоптозу, ферроптозу или аутофагии (рисунок 2) [79]. Образование АФК избыточно при сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваниях [107].

Первоначальная защита от патогенов осуществляется циркулирующими белками системы комплемента и резидентными клетками иммунной системы, распознающими патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (pathogen associated molecular patterns, PAMP или образы патогенности). Так, такой широко известный PAMP как липополисахарид (ЛПС) связывается с Толл-подобным рецептором TLR4, и это приводит к запуску эндоцитоза, активации НАДФН-оксидазы 2 и, как следствие, продукции супероксид анион-радикала нейтрофилами и макрофагами [41, 100]. Ряд молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями (Damage-associated molecular patterns, DAMPs или образы опасности), активирует макрофаги, несущие на своей поверхности серию рецепторов, распознающих патогены (pathogen-recognizing receptors, PRR), включающих рецептор TLR4 и Nod-подобный рецептор (Nod-like-receptor, NLR) [44], что вызывает образование хемотаксических цитокинов, обеспечивающих миграцию клеток иммунной системы в очаг повреждения тканей [41]. Находящиеся во внеклеточном пространстве окисленные липиды являются лигандами рецептора TLR4: они либо активируют его, либо, конкурируя с ЛПС, ингибируют активацию рецептора [41].

АФК при повышении их продукции под действием разных стимулов [34, 43], как и выступающие в роли эндогенных метаболических DAMPs липиды, жирные кислоты, церамиды

и холестерол, могут активировать NLRP3 инфламмосомы [211, 219, 229]. Активация NLRP3 инфламмосом приводит к образованию и секреции интерлейкина (ИЛ) 1 β и ИЛ-18 и пироптозу – быстрой литической программируемой гибели клетки [196].



Примечания:

1. При окислительном стрессе апоптоз под действием АФК происходит за счет активации пути С-Jun-N-концевой киназы (JNK)/P53
2. АФК могут вызвать некроз за счет влияния на комплекс серин/треониновых протеинкиназ RIP1-RIP3
3. При окислительном стрессе аденозинмонофосфат (АМФ)-активируемая протеинкиназа (АМПК) стимулирует активность комплекса Vps34, который необходим для инициации аутофагии

Рисунок 2 – Образование большого количества активных форм кислорода (ROS) может вызывать аутофагию, апоптоз и некроз клеток [79]

Среди клеток иммунной системы клетками, наиболее быстро реагирующими на инфекционные агенты и возникающие при повреждении хемотаксические градиенты, являются нейтрофилы. Они осуществляют фагоцитоз внеклеточных патогенов, ликвидируя их в фагосоме путем воздействия АФК, образованными НАДФН-оксидазами [65]. Наряду с этим, с целью

локализации и ликвидации микроорганизмов нейтрофилы образуют внеклеточные нити (Neutrophil extracellular traps, NETs). Этот процесс чаще всего сопровождается гибелью нейтрофила и называется нетозом [65, 89]. Образование АФК и формирование NETs нейтрофилами необходимы для разрешения воспаления, вызванного некрозом [14]. При этом нейтрофилы не приспособлены к существованию в условиях окислительного стресса, у них низкий уровень ферментов антиоксидантной защиты, что вызывает их гибель в течение 24 ч после рекрутирования и усугубляется с возрастом [103].

Моноциты и лимфоциты вовлекаются в воспалительный процесс позже нейтрофилов, в течение 24 ч. При высокой концентрации DAMPs и провоспалительных цитокинов моноциты начинают экспрессировать маркеры M1-макрофагов, что обеспечивает им способность мигрировать на большие расстояния для ликвидации инфекции. У клеток с этим фенотипом повышена активность НАДФН-оксидаз и соответственно образование супероксид анион-радикала; экспрессия и активность NO-синтазы и соответственно образование оксида азота (NO) и продукция воспалительных медиаторов [41]. Если супероксид анион-радикал и оксид азота NO находятся в непосредственной близости, они реагируют друг с другом с образованием пероксинитрита (OONO). При этом необязательно, чтобы супероксид анион-радикал и оксид азота NO образовывались в одной клетке, так как оксид азота NO диффундирует через клеточные мембраны и легко преодолевает расстояние в пределах диаметров нескольких клеток [84]. Пероксинитрит является сильным окислителем и может напрямую реагировать с богатыми электронами группами, такими как сульфгидрильные группы [168], железосерные кластеры [23]; цинка тиолатом [33], активным сайтом тирозинфосфатаз [200]; он гидроксилирует и нитрует ароматические соединения [94]. Пероксинитрит реагирует с диоксидом углерода с образованием нитрозопероксикарбоната (O=NOOCO_2^-), вступающего в реакции нитрования и способного к гомолитическому расщеплению с образованием свободных радикалов: радикала оксида азота NO_2^\bullet и анион-радикала $\text{CO}_3^{\bullet-}$. Не вступивший в реакции пероксинитрит быстро протонируется до пероксоазотной кислоты (HNO_4) и перегруппировывается, формируя нитрат в качестве основного конечного продукта и некоторое количество NO_2^- [75]. Хотя пероксинитрит является сильным окислителем, с большинством молекул он реагирует относительно медленно. Однако при воспалительных процессах скорость образования пероксинитрита повышается значительно (до миллионов раз) из-за выраженного увеличения образования супероксид анион-радикала и оксида азота NO [160].

Образование АФК происходит в каскаде арахидоновой кислоты (рисунок 3), в котором под действием простагландин-Н-синтазы образуются эйкозаноиды простагландины (включая простагландин), участвующие в многочисленных физиологических процессах в норме и при воспалении. Простагландин-Н-синтаза имеет два каталитических центра – циклооксигеназу

(поэтому фермент простагландин-Н-синтазу иначе называют циклооксигеназой, ЦОГ) и пероксидазой [49], – и ее экспрессия при воспалении значительно возрастает [56]. За счет циклооксигеназной активности осуществляется окисление арахидоновой кислоты до простагландина (ПГ) G_2 , и в этой реакции образуется гидроксильный радикал. Пероксидаза катализирует превращение PGG_2 в PGH_2 в присутствии доноров электронов, которые могут окисляться до свободных радикалов, реагирующих с другими молекулами с образованием АФК [49]. Кроме того, при метаболизме PGH_2 в тромбоксан A_2 , осуществляемом тромбоксан A_2 синтазой, образуется малоновый диальдегид (МДА), участвующий в реакциях образования оснований Шиффа – конечных продуктов СРО липидов и белков [105].

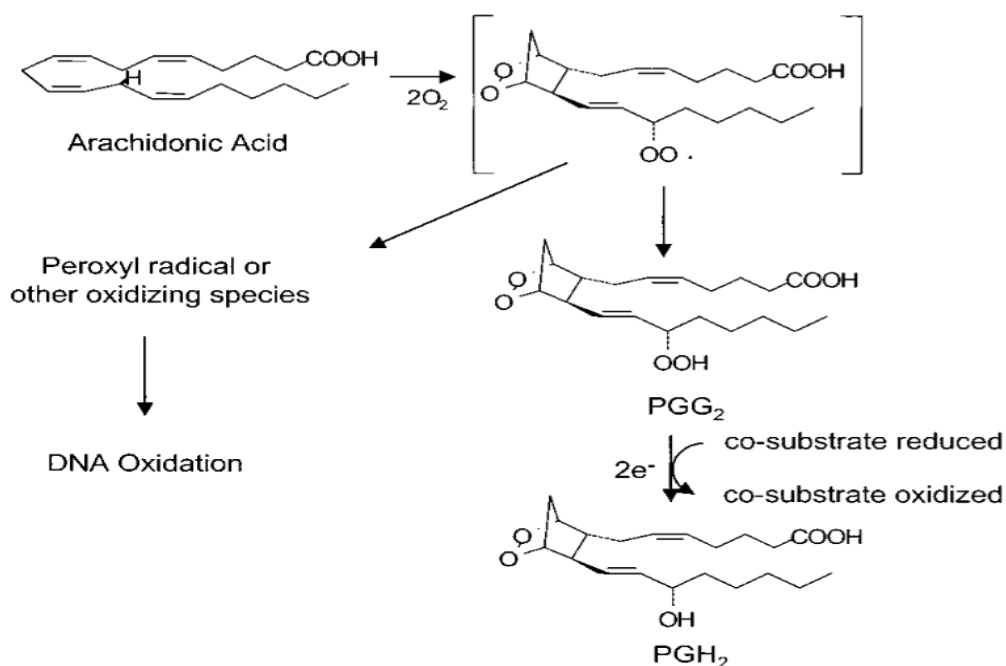


Рисунок 3 – Катализируемый простагландин-Н-синтазой (циклооксигеназой) метаболизм арахидоновой кислоты до простагландина H_2 [152]

АФК выступают в качестве альгоенов, вызывающих гипералгезию при воспалении, и применение соединения, имитирующего ферментативную активность супероксиддисмутазы (СОД), или перехватчика АФК ослабляет выраженность гипералгезии, вызванной воспалительным агентом каррагинаном [217]. АФК усиливают глутамат-зависимую передачу болевого сигнала, окисляя сульфгидрильные группы транспортеров глутамата и таким образом инактивируя их, вследствие чего снижается захват глутамата из синаптической щели и перенос его в клетку [60, 131, 207]. Перекись водорода и пероксинитрит активируют TRPA1 и TRPV1 ионные каналы [149]. Перекись водорода, кроме того, может влиять и на TRPM2 ионные каналы, активация которых, как и TRPA1 и TRPV1 ионных каналов, усиливает болевую чувствительность. Активацию TRPA1 ионных каналов вызывают и продукты СРО липидов, в том числе акролеин и 4-гидрокси-2-транс-ноненаль [75].

Известно, что применение антиоксидантов пациентами с фибромиалгией способствует снижению выраженности боли [54]; использование витамина Е способствует уменьшению боли у пациентов с ревматоидным артритом [47] и у пациентов с вызванной химиотерапией периферической нейропатией [142].

1.2 Механизм действия НПВС и их влияние на образование АФК

На сегодняшний день к одним из наиболее часто назначаемых лекарственных препаратов относят нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) [260], которые применяют для лечения острой и хронической боли и воспаления [245]. В частности, показанием к назначению НПВС является острый и хронический болевой синдром вследствие дорожно-транспортного травматизма, который по данным ВОЗ входит в первые десять ведущих причин инвалидности в 2021 г [224]. Хроническая боль является одним из основных клинических проявлений ревматических заболеваний [306]. По статистике ВОЗ на 2019 г, ревматоидным артритом страдали 18 млн человек во всем мире [68].

НПВС – это группа лекарственных препаратов, проявляющих противовоспалительное, болеутоляющее и жаропонижающее действие вследствие уменьшения образования ПГ за счет ингибирования ЦОГ, катализирующей катаболизм арахидоновой кислоты до ПГ [11]. В свою очередь, арахидоновая кислота образуется главным образом под действием фосфолипазы A_2 из фосфолипидов клеточных мембран [136]. ЦОГ существует в виде двух изоформ ЦОГ-1 и ЦОГ-2, и по способности преимущественно ингибировать ЦОГ-2 НПВС подразделяются на селективные ингибиторы ЦОГ-2 и неселективные ингибиторы ЦОГ [133].

Основными вырабатываемыми в клетке биоактивными ПГ являются ПГ E_2 , простаглицлин (ПГ I_2), ПГ D_2 и ПГ F_2 . ПГ E_2 и простаглицлин обладают цитопротекторным действием; снижение образования ПГ E_2 под влиянием неселективных ингибиторов ЦОГ обуславливает развитие язвочного побочного эффекта, проявляющегося поражением желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), включающим изъязвление желудка и тонкого кишечника [16]. Простаглицлин преобладает в эндотелии сосудов, снижает пролиферацию гладкомышечных клеток в них, расслабляет клетки гладкой мускулатуры, расширяет кровеносные сосуды, что приводит к снижению АД [62]. Простаглицлин усиливает коллатеральный кровоток, стимулирует фибринолиз, проявляет антиатерогенный эффект, снижает агрегацию и адгезию тромбоцитов. Тромбоксан, напротив, усиливает агрегацию тромбоцитов; вызывает спазм гладкой мускулатуры, активацию гранулоцитов и вазоконстрикцию [291].

ПГ $F_2\alpha$ повышает системное АД, АД в легочной артерии, тонус сосудов головного мозга, почек, сердца, кишечника, потенцирует вазоконстрикторное действие прессорных гормонов,

увеличивает натрийурез и диурез, снижает насыщение крови кислородом и кровоток в органах [232]. ПГF₂α оказывает влияние на лютеолиз [221], и может снижать образование прогестерона [99].

ПГD₂ образуется в таких органах, как головной мозг, селезенка, тимус, костный мозг, матка, яичник, яйцевод, яичко, предстательная железа и придаток яичка [13, 92, 171, 205, 208, 209]. ПГD₂ участвует в регуляции температуры тела, обоняния, ноцицепции и репродуктивной функции, влияет на выделение гормонов, оказывает снотворное действие, снижает агрегацию тромбоцитов, вызывает расширение сосудов и сужение бронхов [17, 86, 180, 202, 209]. ПГD₂ оказывает влияние на иммунологические взаимодействия матери и плода во время беременности. ПГD₂ ингибирует презентацию антигена за счет подавления миграции дендритных клеток, вследствие чего материнские Т-клетки не могут атаковать клетки плода [180]. ПГD₂ высвобождается из тучных клеток и может выступать в качестве медиатора аллергии и воспаления [122, 139]. Известно, что продуцируемый гельминтами ПГD₂ препятствует вызванной фактором некроза опухоли альфа (TNF-α) миграции клеток Лангерганса в эпидермисе, что приводит к ингибированию презентации антигенов паразитов дендритными клетками хозяина и позволяет паразитам ускользнуть от иммунной системы хозяина [5].

При воспалении повышается экспрессия ЦОГ-2 [31, 189], что приводит к увеличению образования ПГ в тканях, обеспечивающих развитие основных признаков острого воспаления и вызывающих приток лейкоцитов и инфильтрацию иммунными клетками зоны повреждения [172]. ПГ наряду с другими медиаторами, выделяемыми поврежденными тканями и клетками при воспалении, усиливают боль, снижая порог чувствительности участвующих в ноцицепции TRPV1 ионных каналов путем разных посттрансляционных механизмов [24, 27, 81, 96, 157].

Среди ПГ наиболее важную роль в развитии воспалительных процессов играет ПGE₂, который обладает альгогенным и пирогенным действием, увеличивает сосудистую проницаемость и вызывает активацию лейкоцитов. ПGE₂ повышает образование интерлейкина-6 (ИЛ-6) макрофагами и другими клетками [42, 57, 106, 130, 222, 227]. Высвобождение клетками ИЛ-6 под действием ПGE₂ осуществляется за счет стимуляции ПGE₂ рецепторов EP1/EP3 [42, 71] и EP2/EP4 [57, 227]. ИЛ-6 является индуктором белков острой фазы в печени, активирует пролиферацию Т-лимфоцитов, активированных антигеном В-лимфоцитов, усиливает синтез антител и функциональную активность Т-киллеров, повышает экспрессию молекул адгезии и хемотаксиса [101]. В свою очередь, ИЛ-6 и ИЛ-1β стимулируют образование ПGE₂ в гипоталамусе крыс [21].

В спинномозговых клетках ганглиев аналог ПGE₂ повышает уровень мРНК и белка ИЛ-6 за счет активации рецептора EP4, протеинкиназы А, протеинкиназы С, ERK/MAPK и NFκB

сигнального пути. Селективный ингибитор ЦОГ-2 и селективный антагонист EP4 подавляют повышенную при частичной перевязке седалищного нерва экспрессию ИЛ-6 в нейронах спинномозговых ганглиев у крыс [195].

Повышение экспрессии ЦОГ-2 наблюдается в синовиальных тканях при ревматоидном артрите, остеоартрите и анкилозирующем спондилите [31, 189]. Активность ЦОГ-2 повышена в атеросклеротических бляшках, во время ангиогенеза и при заживлении ран [69, 97]. При повышении экспрессии ЦОГ-2 наблюдается усиление хемотаксиса и лейкоцит-эндотелиальных взаимодействий, что способствует атерогенезу. Однако ПГ₂, образующийся под действием ЦОГ-2, напротив, снижает хемотаксис моноцитов и расширяет сосуды [62]. Конститутивная экспрессия ЦОГ-2 происходит в плотном пятне и интерстициальных клетках мозгового вещества почек [78]. Ингибирование ЦОГ-2 приводит к задержке воды в почках, снижению почечной экскреции натрия и калия, способствует возникновению периферических отеков и увеличению веса [62]. Как следствие, хроническая терапия НПВС может быть причиной почечной недостаточности [38, 115, 226], а гиперкалиемия, развитию которой способствует длительный прием ингибиторов ЦОГ, может вызвать аритмию [18].

ЦОГ-1 является конститутивно экспрессируемым ферментом во многих тканях, в частности в ЖКТ ЦОГ-1 обеспечивает образование выполняющих защитную функцию ПГЕ₁ и ПГЕ₂ [88]. ЦОГ-1 экспрессируется тромбоцитами и отвечает за синтез тромбксана А₂, вызывающего агрегацию тромбоцитов [212] и сужение кровеносных сосудов. При повышенном образовании тромбксана А₂ увеличивается риск инфаркта миокарда и инсульта [62]. Кроме того, ЦОГ-1 экспрессируется в дистальном отделе нефрона, макрофагами и раковыми клетками яичников [212].

Неселективные ингибиторы ЦОГ эффективны при лечении воспаления и боли, однако за счет ингибирования ЦОГ-1 могут вызывать кровотечения и серьезные желудочно-кишечные осложнения [61, 166]. Известно, что применение большинства неселективных ингибиторов ЦОГ повышает риск гастроудоденальных кровотечений в 2-4 раза [20, 67, 184]. Развивающееся на фоне неселективных ингибиторов ЦОГ повреждение слизистой оболочки подвздошной и тощей кишки сопровождается малозаметной кровопотерей, приводящей к железодефицитной анемии [260].

Селективные ингибиторы ЦОГ-2 обладают сходным по выраженности с неселективными ингибиторами ЦОГ обезболивающим и противовоспалительным действием, и при их применении значительно снижен риск серьезных НЯ со стороны ЖКТ по сравнению с применением неселективных ингибиторов ЦОГ [113]. Поэтому селективные ингибиторы ЦОГ-2 часто назначают для лечения воспалительных заболеваний [97, 119].

Наличие факторов риска возникновения нежелательных явлений (НЯ) у пациентов, нуждающихся в приеме НПВС, требует медикаментозной профилактики, направленной на их снижение. Пожилой возраст, язвенная болезнь в анамнезе, инфекция *Helicobacter pylori* увеличивает риск осложнений со стороны ЖКТ при приеме НПВС. Пациентам с высоким риском этих осложнений назначают преимущественно селективные ингибиторы ЦОГ-2 и в дополнение к НПВС ингибиторы протонного насоса (ИПН), а также курс антихеликобактерной терапии при диагностировании инфекции *Helicobacter pylori* [20, 39, 104, 185, 193, 220]. Однако при вызванной НПВС энтеропатии прием ИПН может повысить риск НЯ со стороны ЖКТ, что связывают с дисбактериозом кишечника [197, 199, 218], поэтому рекомендовано назначать НПВС в сочетании с гастропротективным препаратом ребамипидом, который является индуктором синтеза цитопротективных ПГ и за счет повышения синтеза альфа-дефензинов проявляет антибактериальные и противовоспалительные свойства [85, 87, 118, 279]. По сравнению с ИПН ребамипит более эффективен при вызванных НПВС повреждениях тонкого кишечника, однако нет убедительных доказательств его эффективности при вызванной НПВС язве желудка. Таким образом, на сегодняшний день отсутствуют высокоэффективные препараты для терапии обусловленного приемом НПВС сочетанного поражения верхних и нижних отделов ЖКТ [156].

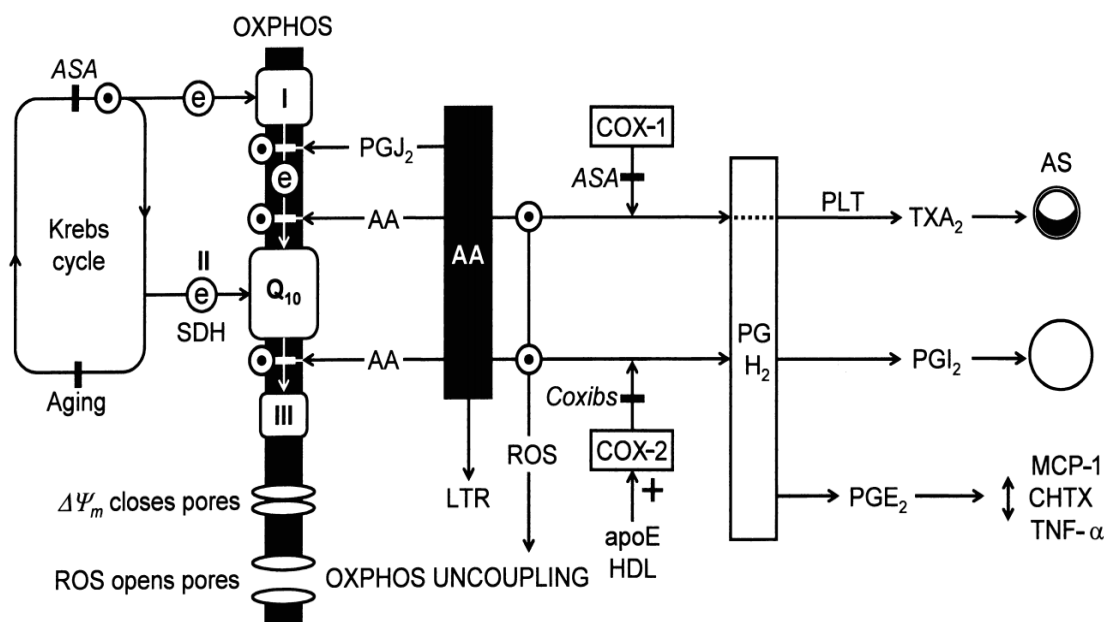
Риск кардиоваскулярных осложнений в большей степени связывают с применением селективных ингибиторов ЦОГ-2 (прежде всего, коксибов), чем с применением неселективных ингибиторов ЦОГ. Однако в последнее время кардиоваскулярные осложнения все чаще определяют как «класс-специфический» побочный эффект НПВС, вероятность появления которого обусловлена индивидуальными свойствами и дозой конкретных препаратов [6, 59, 112, 146, 186, 198, 216]. Неселективные ингибиторы ЦОГ, как и коксибы, могут снижать почечную экскрецию натрия и калия, и гиперкалиемия может вызвать аритмию [18]. Назначение антикоагулянтных или антитромбоцитарных средств пациентам с высоким кардиоваскулярным риском, которые принимают НПВС, в профилактических целях нецелесообразно из-за повышения риска желудочно-кишечных кровотечений [25, 40, 166, 278]. Пациентам с высоким кардиоваскулярным риском или диагностированным заболеванием сердечно-сосудистой системы показана консультация кардиолога и коррекция назначения длительной терапии НПВС [260]. С осторожностью и под контролем АД (при наличии артериальной гипертензии), уровня глюкозы в крови (при наличии сахарного диабета) НПВС назначают пациентам, принимающим ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента или блокаторы рецепторов ангиотензина в комбинации с мочегонными средствами в связи с риском нефротоксических реакций [26, 194, 265, 294].

Ингибированием циклооксигеназной активности, наряду с влиянием на образование ПГ, обусловлены и антиоксидантные свойства НПВС: снижение продукции гидроксильного радикала в реакции образования PGG_2 ; PGG_2 как субстрата для образования PGH_2 (за счет пероксидазной активности фермента) и участвующего в реакциях образования оснований Шиффа МДА [105]. Антиоксидантные свойства НПВС могут проявляться за счет их способности снижать окислительный стресс при активации нейтрофилов путем разных механизмов. Так, нимесулид проявляет свойство перехватчика пероксинитрита ($\cdot\text{OONO}$) и радикалов жирных кислот ($\text{L}\cdot$), но не эффективен как перехватчик супероксид анион-радикала ($\cdot\text{OO}\cdot$); ацеклофенак – перехватчик пероксинитрита ($\cdot\text{OONO}$), но не радикалов жирных кислот ($\text{L}\cdot$) [145].

Однако НПВС наряду со способностью снижать уровень АФК могут оказывать прооксидантное действие. Известно, что представители группы НПВС разобщают окисление и фосфорилирование в митохондриях [144, 183], могут ингибировать активность комплекса-I электрон-транспортной цепи митохондрий [144, 181]. Это приводит к утечке электронов из дыхательной цепи [181], которые восстанавливают молекулярный кислород до супероксид анион-радикала ($\cdot\text{OO}\cdot$) [147]. Супероксид анион-радикал ($\cdot\text{OO}\cdot$) не проникает через мембраны митохондрий и под действием митохондриальной СОД немедленно превращается в перекись водорода (H_2O_2), что обеспечивает защиту митохондрий от митохондриального окислительного стресса [261]. Однако перекись водорода (H_2O_2) легко проникает через мембраны [223] и является источником гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) в реакциях Фентона и Габера-Вейса, который вызывает повреждение клеточных макромолекул.

Способность НПВС вызывать митохондриальную дисфункцию является, наряду со снижением образования гастропротекторных ПГ, механизмом повреждающего действия НПВС на ЖКТ [138, 192]. Так, выраженность вызванного неселективным ингибитором ЦОГ индометацином митохондриального окислительного стресса повышается с увеличением степени повреждения им слизистой оболочки желудка. Индометацин снижает уровень глутатиона, усиливает ПОЛ, карбонилирование белков и образование АФК в митохондриях клеток слизистой оболочки желудка. Образующиеся в митохондриях АФК повреждают аконитазу, что приводит к высвобождению железа Fe^{2+} из железосерного кластера. Fe^{2+} реагирует с перекисью водорода в реакции Фентона [132] с образованием гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$). Образование гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) играет решающую роль в развитии вызванной индометацином митохондриальной патологии, которая приводит к гибели митохондрий, и применение перехватчиков гидроксильного радикала ($\cdot\text{OH}$) предупреждает ее развитие [132].

Со способностью ингибиторов ЦОГ вызывать митохондриальную дисфункцию связывают и их побочное действие на сердечно-сосудистую систему (рисунок 4). Ингибирование ЦОГ-2 вызывает наряду с уменьшением образования ПГ_{I2}, расширяющего артерии и противодействующего протромботическим эффектам тромбксана, повышение образования АФК, которые снижают мембранный потенциал $\Delta\Psi_m$ митохондрий, действуя на митохондриальные поры. Вследствие ингибирования ЦОГ накапливается арахидоновая кислота, которая подавляет перенос электронов от комплекса I к коферменту Q10 и от Q10 к комплексу III, что усиливает образование АФК. Окислительное фосфорилирование осуществляется за счет электронов из цикла Кребса, при подавлении которого ацетилсалициловой кислотой повышается образование АФК, оказывающих цитотоксическое действие [62].



Примечание:

ASA – Низкие дозы ацетилсалициловой кислоты; TXA₂ – тромбксан A₂; PLT – тромбоциты; PGI₂ – простаглицин; AA – арахидоновая кислота; e – электрон; I - III – комплексы I – III дыхательной цепи митохондрий; Q10 – кофермент Q10; OXPHOS – окислительное фосфорилирование; MCP-1 – моноцитарный хемоаттрактивный белок-1; TNF- α – фактор некроза опухоли- α ; apoE – аполипопротеин E; HDL – липопротеины высокой плотности; SDH – сукцинатдегидрогеназа

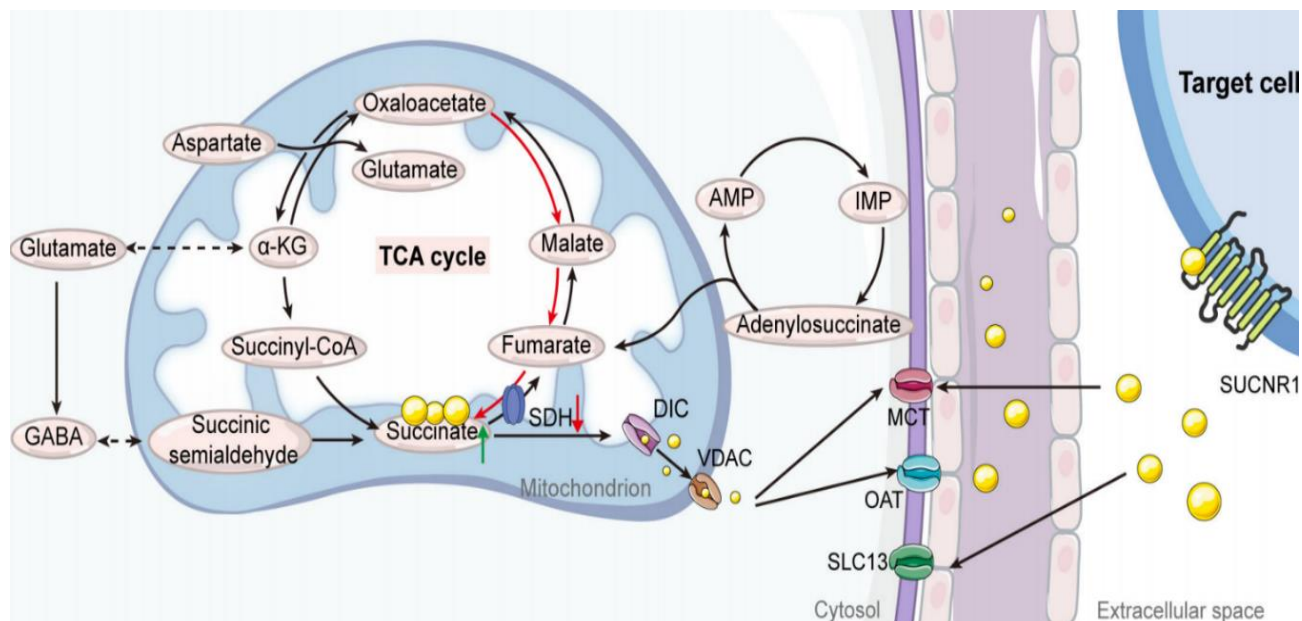
Рисунок 4 – Влияние НПВС на взаимосвязь эйкозаноидного и митохондриального метаболизма при сердечно-сосудистых заболеваниях [62]

Таким образом, НПВС, снижая выраженность воспаления и боли за счет ингибирования ЦОГ и последующего образования ПГ, могут оказывать как антиоксидантное, так и прооксидантное действие, причем последнее является одним из механизмов побочного действия этих препаратов. Окислительный стресс играет важную роль в патогенезе воспалительных заболеваний [52, 159], и чрезмерное образование АФК может способствовать хронизации воспалительного процесса [125]. Это обуславливает интерес к изучению применения антиоксидантных препаратов в комплексной терапии воспалительных заболеваний [125].

1.3 Роль сукцината в воспалительных процессах

В последние годы активно изучается вклад метаболических и энергетических изменений в развитие воспалительных процессов. Ключевую роль во взаимосвязи метаболических и воспалительных процессов все чаще отводят сукцинату – промежуточному продукту цикла трикарбоновых кислот, который является субстратом сукцинатдегидрогеназы и донором электронов в электрон-транспортной цепи митохондрий [83, 135, 179].

В цикле трикарбоновых кислот сукцинат образуется из α -кетоглутарата посредством двух реакций. Сначала α -кетоглутарат декарбоксилируется α -кетоглутаратдегидрогеназой до сукцинил-КоА, который превращается в сукцинат под действием сукцинил-КоА-синтетазы [135]. В норме сукцинат быстро окисляется до фумарата под действием сукцинатдегидрогеназы [83]. Сукцинатдегидрогеназа расположена на внутренней мембране митохондрий и является одновременно ферментом цикла трикарбоновых кислот и II ферментативным комплексом электрон-транспортной цепи митохондрий. Она обеспечивает превращение сукцината в фумарат и одновременно восстанавливает убихинон в убихинол и флавиноадениндинуклеотид (ФАД) в ФАДН₂, что представляет собой критические этапы в производстве АТФ [36, 135]. В условиях гипоксии, наблюдаемых при активации иммунных клеток при воспалении или при онкогенезе [53, 73], активность сукцинатдегидрогеназы снижается, это приводит к изменению направления потока электронов и позволяет фумарату служить акцептором электронов в электрон-транспортной цепи митохондрий, вследствие чего происходит накопление сукцината [8, 177]. Кроме того, увеличение внутриклеточного уровня сукцината происходит через шунт гамма-аминомасляной кислоты [201] и за счет поглощения внеклеточного сукцината натрийзависимыми переносчиками семейства SLC13 [63] (рисунок 5).



Примечание:

TCA cycle – цикл трикарбоновых кислот; SDH – сукцинатдегидрогеназа; GABA – γ -аминомасляная кислота; DIC – дикарбоксилатный транспортер; VDAC – зависящий от напряжения анионный канал; OAT – транспортеры органических анионов/дикарбоксилатов; MCT – монокарбоксилатный транспортер; SLC13 – натриевые транспортеры анионных субстратов; AMP – аденозинмонофосфат; IMP – инозинмонофосфат

Рисунок 5 – Образование и транспорт сукцината в клетке [83]

Накопленный внутри митохондрий сукцинат переносится через внутреннюю мембрану митохондрий дикарбоксилатным транспортером (DIC), зависящий от напряжения анионный канал (VDAC) обеспечивает процесс переноса сукцината через внешнюю мембрану митохондрий [29, 161]. Попав в цитозоль, сукцинат перемещается во внеклеточное пространство с помощью транспортеров органических анионов/дикарбоксилатов (OATs) [63]. При гипоксии усиливаются гликолитические процессы с образованием лактата и снижением pH в клетках [167, 170]. Подкисление среды меняет структуру сукцината, что обеспечивает ему возможность проникать через клеточные мембраны с помощью монокарбоксилатного транспортера (MCT) [4, 15] (рисунок 5). Поглощение сукцината CD4+ T-лимфоцитами частично происходит посредством MCT [74]. Известно, что повышение поглощения сукцината макрофагами имеет решающее значение для усиления и поддержания процесса воспаления [63].

Увеличение концентрации сукцината в цитоплазме клетки приводит к ингибированию пролилгидроксилаз, влияющих на стабильность ключевого фактора транскрипции, регулирующего клеточные реакции на гипоксию, – фактора, индуцируемого гипоксией, 1 α

(HIF-1 α), даже в богатых кислородом средах [37, 213]. Ингибирование пролилгидроксилаз вызывает стабилизацию HIF-1 α , после чего он перемещается в ядро, связывается с чувствительными к гипоксии элементами и инициирует транскрипцию генов, включая связанные с воспалением гены [201, 203]. Таким образом, эндогенный, накопленный внутриклеточно, сукцинат выступает в роли провоспалительного медиатора [83].

Высвобождаясь из клетки, сукцинат взаимодействует со своим мембранным рецептором SUCNR1 [109]. Рецептор SUCNR1 экспрессируется в разных тканях и органах, включая почки, печень, селезенку, тонкий кишечник, сердце, сетчатку, в клетках иммунной системы – макрофагах, дендритных клетках и некоторых типах Т-клеток [7, 176, 178]. В то время как эндогенный сукцинат выполняет роль провоспалительного медиатора, экзогенный сукцинат, внеклеточно локализованный сукцинат, проявляет противовоспалительную активность [63, 165, 269]. Противовоспалительный эффект сукцината связывают с его влиянием на сукцинат/SUCNR1 сигналинг [83, 206]. Так, на модели воспалительного каскада в нервных стволовых клетках сукцинат проявляет противовоспалительную активность за счет действия на сукцинат/SUCNR1 сигналинг, которое приводит к функциональным изменениям в клетках воспалительного микроокружения. Отсутствие рецептора SUCNR1 в нервных стволовых клетках значительно снижает противовоспалительный эффект сукцината [165]. Сукцинат способен ингибировать высвобождение медиаторов воспаления ИЛ-6, ИЛ-1 β , фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) и оксида азота (NO) макрофагами [76].

В клинической практике сукцинатсодержащие препараты применяют для терапии эндогенной интоксикации при синдроме системного воспалительного ответа. Включение сукцинатсодержащих препаратов в схемы лечения острых кишечных инфекций, алкогольной интоксикации, абдоминального сепсиса приводит к ускорению купирования симптомов интоксикации благодаря влиянию этих препаратов на тканевую гипоксию и биоэнергетическую дисфункцию [269]. Противовоспалительная эффективность сукцинатсодержащих препаратов зарегистрирована при их применении в схемах терапии коронавирусной инфекции: добавление в состав лекарственной терапии полиэлектролитного раствора, содержащего меглюмина натрия сукцинат, способствует уменьшению легочного и системного эндотелиита, характерного для тяжелых форм коронавирусной инфекции, и, как следствие, сдерживает развитие синдрома системного воспалительного ответа [292].

Таким образом, экзогенный сукцинат при применении в виде сукцинатсодержащих средств проявляет противовоспалительную активность за счет корригирующего действия на метаболическую и энергетическую дисфункцию тканей при воспалении, механизм которой связывают с влиянием экзогенного сукцината на сукцинат/SUCNR1 сигналинг.

1.4 Антиоксидантный препарат этилметилгидроксипиридина сукцинат, его действие при воспалении и боли

Этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) является антиоксидантным препаратом, который обладает мембраностабилизирующими свойствами, улучшает микроциркуляцию и реологические свойства крови, в том числе стабилизирует мембранные структуры эритроцитов и тромбоцитов при гемолизе (рисунок 6) [242]. ЭМГПС применяется в комбинированной терапии цереброваскулярных и сердечно-сосудистых заболеваний, болезней нервной системы, открытоугольной глаукомы и алкогольной интоксикации [241].

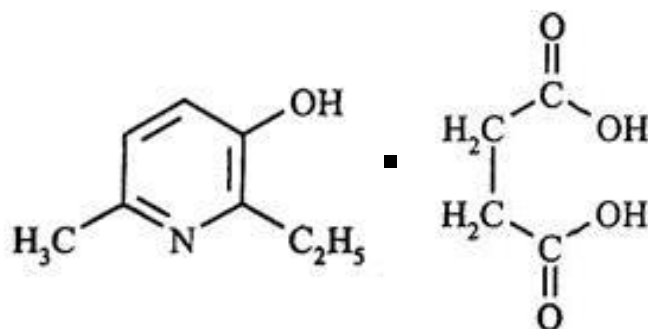


Рисунок 6 – Структурная формула ЭМГПС (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат)

Действие ЭМГПС осуществляется за счет политаргетного механизма, включающего улучшение энергетического статуса клетки, влияние на цикл трикарбоновых кислот [274, 275], подавление ПОЛ и модифицирующее действие на фосфолипидный состав мембран [237, 242, 253]. ЭМГПС усиливает антиоксидантную защиту клетки: стабилизирует уровень эндогенных антиоксидантов, повышает концентрацию восстановленных нуклеотидов и активность ферментов антиоксидантной защиты [255].

ЭМГПС проявляет мембранопротекторные, антиагрегантные и антиоксидантные эффекты за счет наличия в его структуре гетероциклического аналога фенольных антиоксидантов 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (эмоксипина) [253]. ЭМГПС эффективнее, чем гидрофобные антиоксиданты эмоксипин и проксипин, подавляет процессы СРО липидов при воспалительной реакции. Это обусловлено тем, что на начальной стадии воспаления гиперпродукция АФК происходит в водной фазе, в которой гидрофильный ЭМГПС проявляет свою активность, тогда как гидрофобные антиоксиданты взаимодействуют со свободными радикалами, локализованными в основном на уровне мембран клеток [264].

Присутствие в молекуле ЭМГПС сукцината обеспечивает наличие противогипоксического действия [267, 268]. Сукцинат, являясь ферментом цикла

трикарбонных кислот и компонентом дыхательной цепи митохондрий, необходим для синтеза АТФ, и, действуя на сукцинат/SUCNR1 сигналинг, проявляет противовоспалительную активность [83, 206, 231]. Курсовое введение ЭМГПС вызывает дозозависимую индукцию сукцинатного рецептора SUCNR1 и белков-маркеров биогенеза митохондрий в коре головного мозга молодых и стареющих животных [262]. ЭМГПС при курсовом введении стареющим крысам проявляет нейропротекторное действие, повышая уровень экспрессии маркеров противовоспалительного M2-фенотипа микроглии в коре головного мозга животных [263], и ограничивает развитие стресс-индуцированного воспаления за счет предупреждения снижения уровня рецептора SUCNR1, цитокинов ИЛ-10 и трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), транскрипционного коактиватора PGC-1 α и глюкокортикоидного рецептора α в коре головного мозга крыс [296].

Эффект ЭМГПС был оценен в исследовании, включающем 114 пациентов обоего пола с тяжелой черепно-мозговой травмой, патогенез повреждений при которой включает избыточное образование АФК и интенсификацию окислительного стресса [246, 248, 280, 290, 300]. Установлено, что ЭМГПС при включении в терапию тяжелой черепно-мозговой травмы, начиная с первых суток после травмы, предотвращает резкую активацию ПОЛ и истощение антиоксидантных систем [248]. ЭМГПС способствует снижению выраженности синдрома системного воспалительного ответа, проявляющегося повышением уровня TNF- α , ИЛ-6, ИЛ-8, С-реактивного белка, ферментов (аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, γ -глутамилтранспептидазы, лактатдегидрогеназы и креатининфосфокиназы) и миоглобина в сыворотке пациентов после реваскуляризации миокарда [255].

В экспериментальном исследовании на крысах линии Вистар установлено, что ЭМГПС при однократном внутривнутрибрюшинном введении в дозе 200 мг/кг способен повышать порог вокализации животных при электроболовой стимуляции основания хвоста и усиливать эффект ненаркотических анальгетиков анальгина (400 мг/кг) и комбинированного препарата пенталгина (состав: парацетамол, напроксен, кофеин безводный, дротаверина гидрохлорид, фенирамина малеат; доза в опыте была 400 мг/кг) в этом тесте [277]. В клинических исследованиях показано, что ЭМГПС при применении в комбинированной терапии совместно с НПВС, вазоактивными препаратами, миорелаксантами, витаминами группы В ускоряет темп снижения боли при радикулопатиях [234, 272, 273, 293, 303] и остеохондрозе разных отделов позвоночника [301].

1.5 Обоснование цели диссертационного исследования и используемых НПВС

Участие АФК в патогенезе воспаления, боли и побочных эффектов НПВС определяет интерес к изучению противовоспалительных и противоболевых эффектов антиоксидантных препаратов и их влияния на эффекты НПВС. Данные о механизме действия и эффектах антиоксидантного препарата ЭМГПС являются основанием для гипотезы о том, что применение ЭМГПС совместно с НПВС позволит повысить противовоспалительную и противоболевую эффективность НПВС. При этом предположительно не должно наблюдаться усиления выраженности побочного действия НПВС ввиду того, что одним из механизмов его развития является окислительный стресс и нарушение энергетического статуса клетки [181], выраженность которых способен снизить ЭМГПС.

Целью диссертационного исследования является оценка противовоспалительного и противоболевого действия и сопутствующих эффектов НПВС при их комбинированном применении с ЭМГПС – препаратом, обладающим антиоксидантным действием. В качестве НПВС в исследование были включены препараты, различающиеся по селективности ингибирования ЦОГ-2: неселективный ингибитор ЦОГ диклофенак натрия и селективный ингибитор ЦОГ-2 эторикоксиб.

Диклофенак является одним из широко назначаемых и доступных НПВС (рисунок 7) [204, 284]. Он обладает противоболевым, противовоспалительным и жаропонижающим действием. Диклофенак в равной степени ингибирует ЦОГ-1 и ЦОГ-2 с последующим снижением образования простагландинов и тромбоксана [66, 191]. Наряду с этим, в качестве дополнительных компонентов механизма противоболевого действия диклофенака рассматривают угнетение образования лейкотриенов и провоспалительных пептидов, ингибирование фосфолипазы A_2 , влияние на уровень арахидоновой кислоты, кислоточувствительные ионные каналы, L-аргинин-NO-cGMP сигнальный путь и NMDA рецептор, блокаду тромбоксановых рецепторов и рецептора, активируемого пероксисомным пролифератором γ (PPAR γ) (рисунок 8) [66, 191]. Кроме того, экспериментально показано, что при воспалении диклофенак натрия может снижать миграцию лейкоцитов в очаг воспаления [126, 134, 162].

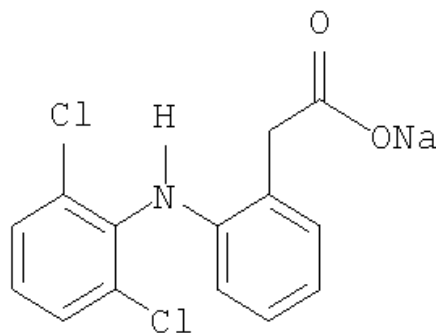
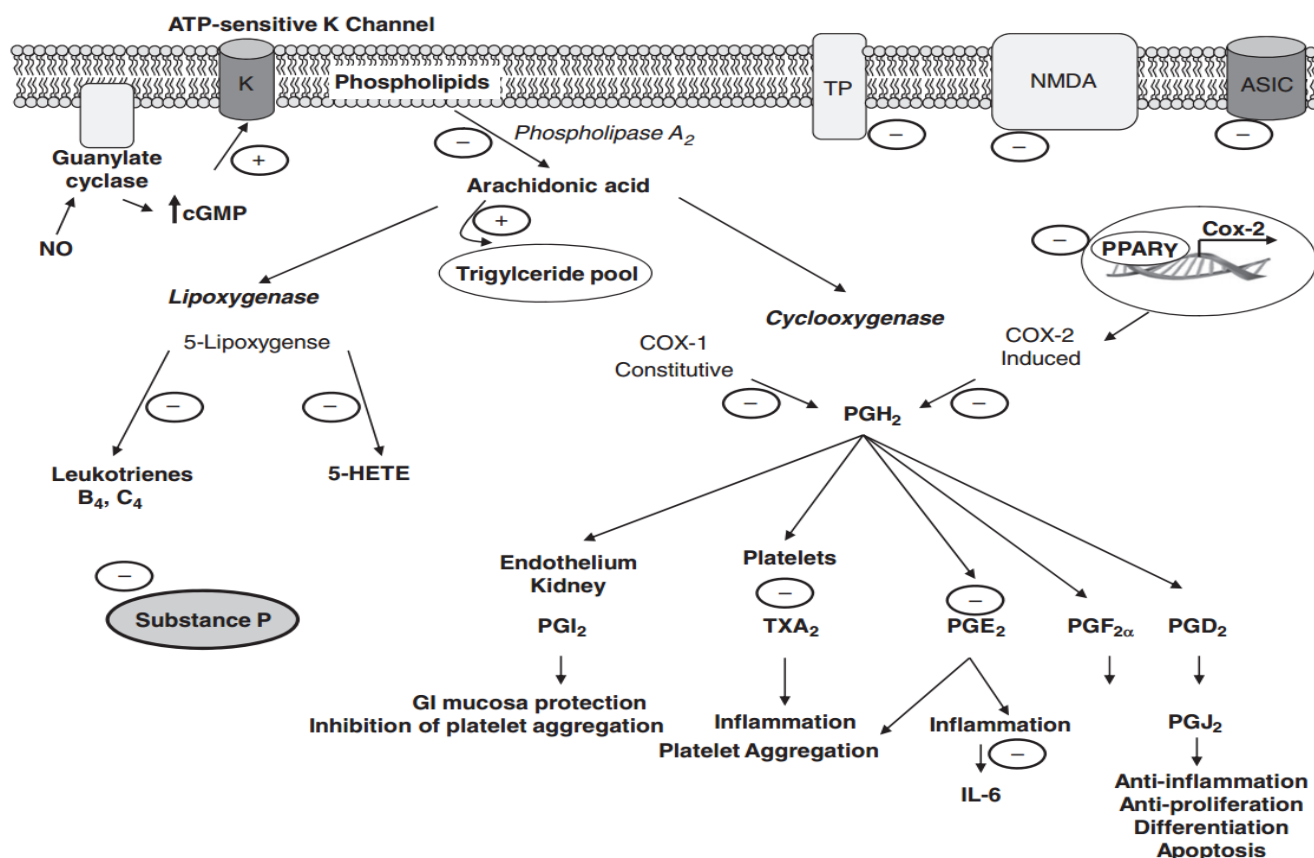


Рисунок 7 – Структурная формула диклофенака натрия (натриевая соль 2-(2-(2,6-дихлорфениламино)фенил)уксусной кислоты)

Диклофенак представлен большим количеством лекарственных форм – таблетки, покрытые пленочной оболочкой; таблетки, покрытые кишечнорастворимой пленочной оболочкой; таблетки с пролонгированным высвобождением; капсулы с модифицированным высвобождением; трансдермальный пластырь, мазь и гель для наружного применения; суппозитории ректальные; капли глазные; гель стоматологический; раствор для внутримышечного введения [251], позволяющих применять его при разных схемах терапии. По сравнению с натриевой солью, калиевая соль диклофенака характеризуется более быстрой абсорбцией, что обеспечивает более быстрое развитие противовоспалительного эффекта. Она входит в состав таблеток диклофенака калия немедленного высвобождения, мягких гелевых капсул диклофенака калия с жидким наполнением и порошка диклофенака калия для перорального применения [3].

Диклофенак натрия назначают для симптоматического лечения боли различного генеза, в том числе при ревматических заболеваниях и анкилозирующем спондилите [191]. Результаты мета-анализа 176 клинических исследований с участием 146524 пациентов с целью оценки эффективности и безопасности применения диклофенака в сравнении с другими ингибиторами ЦОГ показали, что он является предпочтительным препаратом для терапии боли и воспаления у пациентов с остеоартритом или ревматоидным артритом. Эффективность диклофенака при курсовом шестинедельном применении была сопоставимой с эффективностью эторикоксиба и напроксена. При этом использование диклофенака сопровождалось более низкой частотой серьезных осложнений со стороны верхних отделов ЖКТ по сравнению с напроксеном и ибупрофеном, которая была сопоставима с частотой серьезных осложнений со стороны верхних отделов ЖКТ при приеме целекоксиба, но выше, чем у эторикоксиба [210]. Данные фармакокинетических исследований свидетельствуют о том, что для обеспечения высокой концентрации диклофенака натрия в синовиальной жидкости необходимо его применение 2-4 раза в сутки [191].



Примечания:

1. Ингибирующее (-) или стимулирующее (+) действие диклофенака обозначено соответствующими кружками (-) и (+)
2. ASIC – чувствительный к кислоте ионный канал; cGMP – циклический гуанозинмонофосфат; COX-1 – циклооксигеназа-1; COX-2 – циклооксигеназа-2; GI – желудочно-кишечный тракт; 5-HETE – 5-гидроксиэйкозатетраеновая кислота; IL-6 – интерлейкин-6; K – АТФ-чувствительный калиевый канал; NMDA – N-метил-D-аспаратный рецептор; NO – оксид азота; PGD₂ – простагландин D₂; PGE₂ – простагландин E₂; PGF_{2α} – простагландин F₂ альфа; PGH₂ – простагландин H₂; PGI₂ – простагландин I₂; PGI₂ – простагландин J₂; PPARγ – гамма-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом; TP – тромбоксан-простагландинный рецептор; TXA₂ – тромбоксан A₂

Рисунок 8 –Механизм действия диклофенака [66]

Основными побочными эффектами диклофенака как неселективного ингибитора ЦОГ являются НЯ со стороны ЖКТ. Их развитие обусловлено ингибированием ЦОГ-1 с последующим снижением образования в слизистой оболочке ЖКТ обладающего цитопротекторным действием ППЕ₁, обеспечивающего продукцию слизи, секрецию в просвет желудка бикарбонатов, поддержание кровотока в слизисто-подслизистом слое, восстановление

слизистой оболочки за счет активной пролиферации камбиальных элементов желудочного эпителия [254]. Вызванное ингибированием ЦОГ-1 снижение образования ПГЕ₁ приводит к дисбалансу между факторами агрессии (соляной кислотой, ферментами, желчными кислотами, бактериями и их продуктами) и факторами защиты слизистой оболочки ЖКТ [158, 193, 254]. Это может привести к формированию эрозий, нарушению проходимости ЖКТ, кровотечениям, образованию язв желудка и/или язв двенадцатиперстной кишки [64, 77, 114, 166].

Эторикоксиб – НПВС из группы коксибов, селективно ингибирует ЦОГ-2 ($IC_{50}(\text{ЦОГ1/ЦОГ2})=106$ [174]), обладает противоболевым, противовоспалительным и жаропонижающим действием [307], разработан с целью снижения риска побочных эффектов со стороны ЖКТ по сравнению с неселективными ингибиторами ЦОГ (рисунок 9) [62, 141]. Эторикоксиб выпускают только в таблетках, покрытых пленочной оболочкой [307]. Последние 15 лет эторикоксиб широко назначается в Российской Федерации [302]; в рандомизированных клинических исследованиях зарегистрирована равнозначная эффективность эторикоксиба и диклофенака у пациентов с остеоартритом [230].

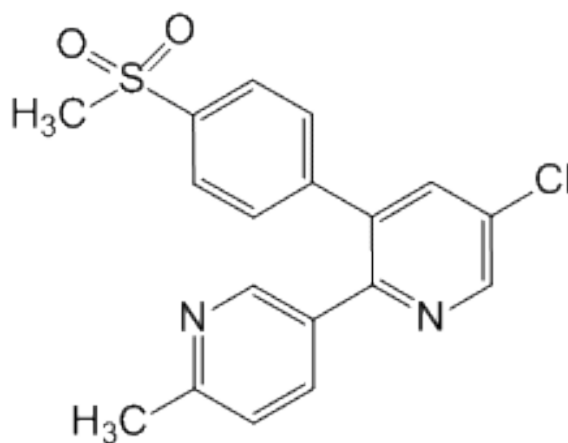


Рисунок 9 – Структурная формула эторикоксиба (5-хлор-6'-метил-3-[4-(метилсульфонил)фенил]-2,3'-бипиридина)

Эторикоксиб показан для снижения выраженности боли и воспаления при ревматоидном артрите, остеоартрите, анкилозирующем спондилите и остром подагрическом артрите [51, 140]. По данным ряда клинических исследований анальгетический эффект эторикоксиба не уступает и даже превосходит анальгетический эффект диклофенака и ибупрофена [113]. В шестинедельном двойном слепом рандомизированном клиническом исследовании у пациентов с остеоартритом коленного или тазобедренного сустава эффективность эторикоксиба (60 мг, один раз в сутки) была сопоставима с эффективностью диклофенака (50 мг три раза в сутки), причем в первый день применения терапевтический эффект наступал быстрее при назначении

эторикоксиба [230]. Метаанализ 76 рандомизированных клинических исследований, включающих 58451 пациента, показал, что эторикоксиб в дозе 60 мг/день так же эффективно снижает боль у пациентов с остеоартритом коленного и тазобедренного сустава, как и диклофенак в дозе 150 мг/день [35].

Коксибы селективно ингибируют ЦОГ-2, что сопровождается сниженным риском развития НЯ со стороны ЖКТ. Однако это приводит к повышению риска развития НЯ со стороны сердечно-сосудистой системы, так как селективное ингибирование ЦОГ-2 вызывает значительное снижение ЦОГ-2-зависимого эндотелиального синтеза ПГ₂ в отсутствие влияния на ЦОГ-1-зависимый синтез тромбоксана в тромбоцитах. Повышенное вследствие этого образование тромбоксана вызывает усиление агрегации тромбоцитов и тромбоз, сужение кровеносных сосудов, что приводит к повышению АД [62]. Ингибирование ЦОГ-2 может вызвать задержку воды в почках и, как следствие, периферические отеки и увеличение массы тела; хроническое применение ингибиторов ЦОГ-2 может привести к почечной недостаточности [38, 115, 226]. В экспериментальных исследованиях показано, что селективное ингибирование ЦОГ-2 способствует увеличению риска острого инфаркта миокарда, артериальной гипертонии, атерогенеза и образования тромбов [28]. Высокий риск смерти вследствие сердечно-сосудистых событий был основанием для отзыва высокоселективных ингибиторов ЦОГ-2 рофекоксиба и вальдекоксиба с фармацевтического рынка [62].

Таким образом, побочные эффекты как неселективных ингибиторов ЦОГ, так и селективных ингибиторов ЦОГ-2 ограничивают их применение, поэтому используются и разрабатываются подходы к снижению осложнений при применении НПВС. Так, в соответствии с клиническими рекомендациями при высокой вероятности осложнений со стороны ЖКТ показано назначение наиболее безопасных для ЖКТ НПВС в сочетании с ИПН как дополнительного метода профилактики осложнений со стороны ЖКТ [260]. Ингибиторы ЦОГ-2 назначают в сочетании со статинами, снижающими выраженность гиперхолестеринемии и используемыми для профилактики осложнений атеросклероза, т.е. для уменьшения риска инфаркта миокарда, мозгового инсульта и коронарной смерти [62]. Наличие у пациентов сочетанной патологии со стороны ССС и ЖКТ значительно ограничивает возможность назначения НПВС ввиду риска НЯ, что особенно актуально для пациентов в возрасте [235, 256]. Побочное действие НПВС имеет дозозависимый характер, его выраженность коррелирует с длительностью применения НПВС, поэтому оптимален поиск подходов к снижению доз НПВС в отсутствие ослабления противовоспалительного и противоболевого действия. Этого предположительно можно добиться при комбинированном использовании НПВС и ЭМГПС.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Животные

Исследование выполнено на половозрелых самцах белых аутбредных крыс, самцах мышей ICR и самцах мышей линии BALB/c. Масса крыс на начало эксперимента составляла 220-240 г (n=661), мышей ICR – 24-29 г (n=242), мышей BALB/c – 21-26 г. (n=97). Животных получали из питомника лабораторных животных «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА» (Московская область) и содержали в соответствии со стандартными условиями вивария при свободном доступе к корму и воде при 12-ти часовом световом режиме. Организацию и проведение работ осуществляли в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами», ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». Все эксперименты одобрены независимым этическим комитетом ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протокол № 01 от 29 января 2021 г, протокол № 02 от 10 февраля 2022 г, протокол № 01 от 18 января 2023 г, протокол № 05 от 05.03.2024 г) и проведены во временном интервале с 9.00 до 17.00. Количество животных в группах составляло от 6 до 12 особей.

2.2 Препараты и вещества, используемые в экспериментах

1. Препараты исследования:

- Диклофенак натрия (2-(2-(2,6-дихлорфениламино)фенил)уксусная кислота (в виде натриевой соли); Вольтарен[®], раствор для внутримышечного введения 75 мг/3 мл; регистрационное удостоверение – Новартис Фарма АГ, Швейцария) – вводили в дозах 1 мг/кг, 5 мг/кг и 10 мг/кг.

- Эторикокиб (5-хлор-6'-метил-3-[4-(метилсульфонил)фенил]-2,3'-бипиридин; Аркоксиа[®], таблетки, покрытые пленочной оболочкой 60 мг; регистрационное удостоверение – Мерк Шарп и Доум Б.В., Нидерланды) – вводили в дозах 1 мг/кг, 5 мг/кг и 10 мг/кг.

- Этилметилгидроксипиридина сукцинат (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат; Мексидол[®], ЭМГПС, раствор для внутривенного/внутримышечного введения 50 мг/мл; регистрационное удостоверение – ООО «НПК «ФАРМАСОФТ», Россия) – вводили в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг.

В качестве растворителя использовали физиологический раствор (Натрия хлорид, раствор для инфузий 0,9%; ОАО НПК «ЭСКОМ»).

При комбинированном применении ЭМГПС вводили животным за 10 мин до введения НПВС.

2. Вещества для моделирования патологических состояний:

- Каррагинан (Sigma-Aldrich, США) – применяли в виде 1% и 2,5% раствора, вводили субплантарно в заднюю лапу крыс (0,1 мл) и мышей (0,05 мл), соответственно.

- Коллаген II типа, бычий (Eurofins, Люксембург), растворяли с добавлением 0,1 Н уксусной кислоты и смешивали с полным адьювантом Фрейнда в количестве 100 мкг/50 мкл; вводили внутривожно в основание хвоста мышей.

- Полный адьювант Фрейнда (ПАФ) – взвесь БЦЖ в вазелиновом масле (Sigma-Aldrich, США), использовали для эмульгирования коллагена II типа.

- Формалин («БиоВитрум», Россия) – применяли в виде 2% раствора, вводили в объеме 0,1 мл субплантарно в заднюю лапу крыс.

- Ледяная уксусная кислота «Спектр-Хим» х.ч. – разводили и вводили мышам внутривентрально в виде 0,9% раствора; готовили 0,1 Н уксусную кислоту и использовали ее при приготовлении эмульсии коллагена с ПАФ.

- Ацетилсалициловая кислота (АСК, таблетки по 500 мг; Фармстандарт, Россия) – вводили перорально в дозе 150 мг/кг.

2.3 Дизайн исследования

Экспериментальная работа была выполнена в три этапа, задачей которых являлось изучение влияния этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) на выраженность основных (противоболевой и противовоспалительный) и побочных (ульцерогенное действие и повышение АД) эффектов НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба (рисунок 10).

Первый этап работы посвящен изучению влияния ЭМГПС на противоболевое действие диклофенака натрия и эторикоксиба на моделях острой ноцицептивной (висцеральной и соматической) боли, при которой эффективны НПВС. Первоначально выбирали дозы диклофенака натрия, эторикоксиба и ЭМГПС для их комбинированного применения на основании эффективности НПВС и ЭМГПС при однократном пероральном введении на модели острой висцеральной боли у мышей (тест «Уксусные корчи»). Далее изучали влияние ЭМГПС на противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба при комбинированном применении этих НПВС с ЭМГПС на моделях соматической боли: в формалиновом тесте и тесте механической гипералгезии при воспалении у крыс при однократном пероральном

введении и на модели послеоперационной гипералгезии у крыс при курсовом пероральном введении.

На втором этапе работы оценивали влияние ЭМГПС на противовоспалительное (антиэкссудативное) действие ингибиторов ЦОГ при однократном и курсовом введении в выбранных на первом этапе исследования дозах. При однократном пероральном введении антиэкссудативную эффективность НПВС и ЭМГПС при комбинированном применении изучали на модели каррагинанового отека у крыс и мышей. Противовоспалительный эффект НПВС и ЭМГПС при их комбинированном применении при курсовом пероральном введении исследовали на модели коллагенового артрита у мышей линии BALB/c, при котором наблюдается развивающееся экссудативное воспаление. У животных с коллагеновым артритом оценивали выраженность отечности задних конечностей и болевого синдрома, тяжесть артрита; регистрировали следующие биохимические показатели: концентрацию оксипролина как маркера распада коллагена; активность ферментов антиоксидантной системы каталазы и глутатионпероксидазы; концентрацию вторичного продукта ПОЛ МДА в сыворотке крови. О влиянии превентивного курсового сочетанного применения ЭМГПС и НПВС и действии препаратов при повышении доз судили на основании данных, полученных на модели каррагинанового отека у крыс.

На третьем этапе исследования оценивали влияние ЭМГПС на выраженность побочных эффектов НПВС. Ульцерогенный эффект диклофенака натрия и эторикоксиба и влияние на него ЭМГПС оценивали на модели гастротоксичности, вызванной пероральным введением ацетилсалициловой кислоты в течение трех дней, у крыс. Вызванное введением НПВС повышение АД, изменение гематологических показателей и влияние на них ЭМГПС оценивали при ежедневном пероральном введении препаратов крысам в течение двух и трех недель, соответственно. При этом регистрировали массу тела животных как параметра, характеризующего их общее состояние. Кроме того, оценивали влияние НПВС и их комбинированного применения с ЭМГПС при однократном и курсовом пероральном введении на поведение крыс в методиках «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». При курсовом пероральном введении дополнительно регистрировали локомоторную активность животных в тесте «Вращающийся стержень».

Выбор доз НПВС и ЭМГПС для использования в комбинациях

тест «Укусные корчи»
(мыши)

Оценка влияния ЭМГПС на основные эффекты НПВС: Противоболевой



Оценка влияния ЭМГПС на побочные эффекты НПВС:

Ульцерогенный

модель гастротоксичности (крысы)

Повышение артериального давления (крысы)

Изменение гематологических показателей (крысы)

Влияние на поведение животных

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Тест «Открытое поле»

Тест «Вращающийся стержень»

Рисунок 10 – Дизайн исследования

2.4 Методы исследования

2.4.1 Методы исследования противоболевой активности

2.4.1.1 Тест «Укусные корчи»

Эксперимент проводили на самцах мышей ICR. Острую висцеральную боль у животных вызывали внутрибрюшинным введением 0,9% раствора уксусной кислоты из расчета 0,1 мл на 10 г массы тела. При внутрибрюшинном введении раствора уксусной кислоты происходит раздражение серозных оболочек, что провоцирует сокращение абдоминальной мускулатуры, проявляющееся специфическими болевыми движениями – корчами. Их количество подсчитывали, начиная сразу после введения раствора уксусной кислоты, на протяжении 15 мин [244]. Снижение количества корчей в группах животных, которым вводили препараты, по сравнению с контрольной группой мышей, которым вводили растворитель, свидетельствует о противоболевом действии препаратов. Эторикоксиб и диклофенак натрия, ЭМГПС, НПВС с ЭМГПС вводили перорально за 1 ч до введения уксусной кислоты. Животные контрольной группы перорально получали эквивалентный объем растворителя – физиологического раствора (10 мл/кг).

2.4.1.2 Формалиновый тест

Эксперимент проводили на самцах белых аутбредных крыс. Формалиновый тест моделирует боль при операционных разрезах [244]. Эторикоксиб и диклофенак натрия, ЭМГПС, НПВС с ЭМГПС и растворитель (контрольной группе) вводили перорально за 1 ч до введения 0,1 мл 2% раствора формалина в заднюю лапу. Боль, которая развивается после введения раствора формалина, характеризуется двумя фазами. Первую острую фазу боли регистрируют, начиная сразу после введения раствора формалина, на протяжении первых 5 мин после его введения. Далее происходит уменьшение болевой реакции животных – интерфаза, которую фиксировали с 6 мин после введения раствора формалина [72]. С 20 минуты после введения альгогена начинается вторая тоническая фаза формалиновой боли, которую регистрировали с 20 по 60 мин после введения раствора формалина [58]. Болевое поведение животных фиксировали каждые 5 мин в баллах. Регистрировали 4 типа поведенческих реакций: 0 – отсутствие реакции; 1 – лапа остается на горизонтальной поверхности, но животное на нее не опирается; 2 – лапа поднята; 3 – крыса облизывает лапу, грызет или встряхивает. Подсчитывали сумму баллов в острую (0-5 мин) и тоническую (20-60 мин) фазу боли. Критерием противоболевого эффекта считали снижение болевых реакций у животных, получавших препараты, относительно контрольной группы.

Субплантарное введение раствора формалина в заднюю лапу крыс вызывало отек, выраженность которого регистрировали по изменению диаметра лап до введения и через 4 ч после введения раствора формалина. О противовоспалительном (антиэкссудативном) действии препаратов судили по уменьшению отека лапы по сравнению с контрольной группой [304].

2.4.1.3 Тест механической гипералгезии при воспалении

Эксперимент проводили на самцах белых аутбредных крыс. Гипералгезию регистрировали у крыс с воспалением, вызванным введением 0,1 мл 1% раствора каррагинана в заднюю лапу [244]. О гипералгезии судили по снижению порога тактильной чувствительности, которую фиксировали через 3 и 24 ч после введения раствора каррагинана с помощью волосков фон Фрея массой от 0,06 до 23,96 г (Aesthesio® Ugo Basile, Италия). Крыс помещали по отдельности в пластиковые камеры (20×10×14 см) на возвышенной решетчатой платформе с перфорациями и в течение 15 мин адаптировали в условиях покоя. Нити фон Фрея предъявляли перпендикулярно в разных местах подошвенной поверхности задних лап животных, исключая области пальцев и скакательного сустава. Для каждого волоска фон Фрея тестирование проводили 5 раз с интервалом 3 с. Определяли порог реакции, вызывающий отдергивание лапы. Эторикоксиб и диклофенак натрия, ЭМГПС, НПВС с ЭМГПС вводили перорально дважды через 2 ч и 23 ч после введения раствора каррагинана. Группе крыс без воспаления лапы

(контрольная группа) и группе крыс «Каррагинан» (животным с отеком лапы, которым не вводили препараты) перорально в эти же сроки вводили физиологический раствор.

2.4.1.4 Модель послеоперационной гипералгезии

Эксперимент проводили на самцах белых аутбредных крыс. У крыс с этой моделью наблюдается механическая гипералгезия на протяжении нескольких дней после хирургической манипуляции [19].

На обработанной асептически подошвенной поверхности задней лапы наркотизированных этаминал-натрием (45 мг/кг, внутривенно) крыс разрезали кожу в длину на 1 см, затем выделяли короткий сгибатель пальцев и разрезали его в продольном направлении, оставляя связки неповрежденными. После надреза мышцу возвращали в исходное положение и разрез кожи зашивали (нить – 5-0 polyglactin 910, Ethicon, Somerville, NJ). Место разреза обрабатывали стрептоцидом и раствором бриллиантового зеленого [19].

Механическую гипералгезию регистрировали с помощью волосков фон Фрея (Aesthesio® Ugo Basile, Италия). Крыс помещали в пластиковые камеры (20×10×14 см) на возвышенной решетчатой платформе с перфорациями размером 1 см². После их адаптации к установке (15 мин), волосок фон Фрея с калиброванной силой на сгибание, равной 10 г, предъявляли перпендикулярно в разных местах подошвенной поверхности задней лапы, исключая область пальцев и скакательного сустава, 10 раз (длительность воздействия – 1 с). Регистрировали число отдергиваний задних лап в ответ на их стимуляцию [187]. Чувствительность к механическому раздражению регистрировали в области операционного шва и в области плюсны [19]. Эторикоксиб и диклофенак натрия, ЭМГПС, НПВС с ЭМГПС, растворитель вводили дважды в сутки (в 9.00 и 16.00), начиная со дня операции (0 сутки) и в течение 3 дней после нее. Болевую чувствительность крыс оценивали за сутки до операции, на 1, 2, 3 и 4 сутки после операции. В эти же дни фиксировали массу тела крыс.

2.4.2 Методы исследования противовоспалительной активности

2.4.2.1 Модель каррагинанового отека

Каррагинановый отек моделировали на самцах мышей ICR и белых аутбредных крыс.

Каррагинановый отек лапы у мышей вызывали субплантарным введением 0,05 мл 2,5% раствора каррагинана в заднюю лапу животных [110]. Отек лапы регистрировали по разнице диаметра лапы в области плюсны, измеренного штангенциркулем (мм), через 1, 2, 3, 4, 5 и 6 ч после индукции воспаления относительно диаметра лапы до введения раствора каррагинана.

Каррагинановый отек лапы у крыс вызывали субплантарным введением 0,1 мл 1% раствора каррагинана в заднюю лапу животных [304]. Отек лапы регистрировали по разнице

диаметра лапы в области плюсны, измеренного штангенциркулем (мм), через 1, 2, 3 и 4 ч после индукции воспаления относительно диаметра до введения раствора каррагинана.

По полученным данным для каждой экспериментальной группы строили график зависимости изменения отека лап животных от времени, регистрируемого соответственно в течение 6 ч при моделировании каррагинанового отека у мышей и в течение 4 ч при моделировании каррагинанового отека у крыс. Для каждого графика методом трапеций вычисляли площадь под кривой (мм²).

Исследуемые препараты и растворитель (контрольной группе) вводили в зависимости от задач эксперимента за 1 ч до индукции каррагинанового отека или в течение 10 дней ежедневно (один раз в день), последнее введение препаратов осуществляли за 1 ч до введения раствора каррагинана.

2.4.2.2 Модель коллагенового артрита

Коллагеновый артрит моделировали у мышей BALB/c по протоколу, описанному у Augello A. и соавторов [9]. Иммунизацию проводили дважды, первую осуществляли введением мышам внутрикожно в основание хоста 100 мкг бычьего коллагена II типа, эмульгированного с ПАФ в объеме 50 мкл. Перед повторной иммунизацией животных с интрадермально введенным бычьим коллагеном II типа с ПАФ рандомизировали на группы по наличию симптома развивающейся отечности лап и массе тела. Вторую иммунизацию осуществляли на 21 сутки после проведения первой таким же способом. Препараты вводили ежедневно перорально в течение 21 суток после 2 инъекции коллагена, в это же время регистрировали симптомы артрита у животных. Контрольной группе перорально вводили физиологический раствор.

Клиническую оценку выраженности артрита проводили визуально у каждого животного для каждой лапы отдельно, подсчитывали сумму баллов для каждой мыши [228]: 0 – отсутствие видимых изменений; 0,5 – покраснение и отек одного сустава пальца; 1 – покраснение и легкий отек подушечки стопы, скакательных суставов или 2-5 пальцев; 2 – покраснение и отек 2 суставов; 3 – покраснение и отек лапы полностью; 4 – сниженная отечность и деформации суставов. То есть максимальная выраженность клинических проявлений артрита у животного соответствовала 16 баллам. Показатели групп животных сравнивали с контрольной группой.

У мышей BALB/c с коллагеновым артритом оценивали отек задних лап по их толщине в области плюсны. Для этого с помощью электронного штангенциркуля измеряли диаметр задних лап в области плюсны (мм) перед второй иммунизацией бычьим коллагеном II типа на 21 сутки после первой иммунизации и на 7, 14 и 21 сутки после второй иммунизации бычьим коллагеном II типа.

На 7, 14 и 21 сутки после повторной иммунизации бычьим коллагеном II типа у мышей BALB/c оценивали механическую гипералгезию с помощью волосков фон Фрея массой от 0,06 до 23,96 г (Aesthesio® Ugo Basile, Италия). Мышей помещали по отдельности в пластиковые камеры (20×10×14 см) на возвышенной решетчатой платформе с перфорациями и в течение 15 мин адаптировали в условиях покоя. Нити фон Фрея предъявляли перпендикулярно в разных местах подошвенной поверхности задних лап животных, исключая области пальцев и скакательного сустава (длительность воздействия составляла 2 с). Для каждого волоска фон Фрея тестирование проводили 5 раз с интервалом 3 с. Определяли минимальный порог реакции, вызывающий отдергивание лапы.

Кроме того, у мышей BALB/c с коллагеновым артритом регистрировали наличие моторного дефицита, оценивая их координацию движений в тесте «Вращающийся стержень». Установка «Вращающийся стержень» (Rota Rod, Ugo Basile, Италия) представляет собой барабан 3 см в диаметре, разделенный 6 дисками (25 см в диаметре) на 5 одинаковых частей. Барабан может вращаться в разных скоростных режимах, задаваемых в зависимости от задач исследования и тяжести состояния животных. Животных адаптировали к условиям методики перед повторной иммунизацией бычьим коллагеном II типа, осуществляя 3 последовательных посадки на барабан установки со скоростью вращения 5 оборотов/мин. Тестирование моторного навыка осуществляли при режиме вращения барабана с постоянной скоростью 10 оборотов/мин, регистрируя латентное время падения мышей на 7, 14 и 21 сутки после повторной иммунизации мышей.

2.4.2.3 Биохимические методы исследования¹

На 42 сутки после 1 инъекции бычьего коллагена II типа мыши BALB/c с коллагеновым артритом были подвергнуты эвтаназии (декапитация), и была получена их сыворотка крови для проведения ее биохимического исследования. В сыворотке крови животных были оценены следующие показатели: концентрация оксипролина и МДА; активность каталазы и глутатионпероксидазы.

Главным структурным компонентом экстрацеллюлярного матрикса, обеспечивающего эластичность и прочность тканей, является коллаген. При увеличении катаболизма коллагена в тканях повышается содержание оксипролина. Концентрацию оксипролина как маркера катаболизма коллагена в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом регистрировали по методике с пара-диметиламинобензальдегидом [102].

¹ Эксперименты проводили совместно с сотрудником отдела нейropsychофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» д.б.н., проф. Золотовым Н.Н.

Уровень интенсификации ПОЛ при воспалении может рассматриваться как показатель выраженности воспалительного процесса [240, 286]. При воспалении в тканях повышается концентрация вторичного продукта ПОЛ МДА, который реагирует с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [48, 137]. Об уровне МДА в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом судили по образованию его окрашенного продукта с солью Мора [238].

Ферментом в сыворотке крови, относящимся к первому звену внутриклеточной защиты от АФК, интенсивность образования которых повышается при воспалении, является каталаза. Функцией фермента является разрушение перекиси водорода, образующейся в ходе различных окислительных процессов в организме. Об активности каталазы в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом судили по убыли ее субстрата – перекиси водорода [128, 150, 270].

Еще одним ферментом антиоксидантной системы, участвующим в защите организма от окислительного повреждения, субстрат которого – перекись водорода, является глутатионпероксидаза, катализирующая восстановление гидроперекисей липидов в соответствующие спирты и восстановление пероксида водорода до воды. Об активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом судили по образованию окрашенного продукта с реактивом Элмана [288].

Определение концентрации малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови мышей

Для определения концентрации МДА к 5 мкл сыворотки крови добавляли 40 мкл 0,485 М соли Мора и инкубировали при 37°C в течение 30 мин. Затем к образцам добавляли 1000 мкл 0,9% раствора ТБК (Serva, Германия) в 50% уксусной кислоте и инкубировали при 80°C в течение 60 мин. После охлаждения измеряли оптическую плотность образцов на спектрофотометре DU-50 (Beckman-Coulter, США) при 532 нм. Расчет количества МДА проводили на основании значения коэффициента молярной экстинкции $1,56 \cdot 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Все измерения проводили в двух параллелях [238]. Концентрацию МДА выражали в ммоль/л.

Определение активности каталазы

Определение активности каталазы в сыворотке крови проводили спектрофотометрически по изменению оптической плотности реакционной смеси, содержащей 5 мкл сыворотки крови, 2000 мкл фосфатного буфера и 1000 мкл 0,06% раствора перекиси водорода в фосфатном буфере. Реакцию запускали добавлением в реакционную смесь перекиси водорода. Оптическую плотность регистрировали в течение 30 мин на спектрофотометре DU-50 (Beckman-Coulter, США) в полумикрокувете при длине волны 240 нм [128]. Все измерения

осуществляли в двух параллелях. Расчет активности пероксидазы проводили на основании значения коэффициента молярной экстинкции перекиси водорода, равного $39,4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ [150], по формуле:

$A, \text{ ммоль}/(\text{мин}\cdot\text{мл}\cdot\text{см}) = [(\text{ОП}0 - \text{ОП}30)] / [\varepsilon \cdot t \cdot (V_{\text{сыворотки}} / V_{\text{реакционной смеси}})]$, где:

ОП0 – оптическая плотность реакционной смеси, содержащей 5 мкл сыворотки крови, 2000 мкл фосфатного буфера и 1000 мкл 0,06% раствора перекиси водорода, сразу после начала реакции – 0 мин;

ОП30 – оптическая плотность реакционной смеси, содержащей 5 мкл сыворотки крови, 2000 мкл фосфатного буфера и 1000 мкл 0,06% раствора перекиси водорода, через 30 мин после начала реакции;

ε – коэффициент молярной экстинкции перекиси водорода, равный $39,4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$,

t – время реакции, 30 мин,

$V_{\text{сыворотки}}$ – объем сыворотки крови, 0,005 мл,

$V_{\text{реакционной смеси}}$ – объем реакционной смеси, 3,005 мл

Активность пероксидазы выражали в ммоль/(мин*мл*см) прореагировавшего перекиси водорода.

Определение активности глутатионпероксидазы

Определение активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови проводили спектрофотометрически по методу, описанному в [288] в нашей модификации.

Приготовление реактива 1. Предварительно готовили трис-НСl буфер 0,05М, рН 7,4, содержащий 5мМ этилендиаминтетрауксусную кислоту. Непосредственно перед проведением анализа на этом буфере готовили реактив 1 – раствор глутатиона и азида натрия в соотношении 0,35 мг восстановленного глутатиона и 0,68 мг азида натрия на 1 мл.

Проведение анализа. К 5 мкл сыворотки крови добавляли 500 мкл реактива 1 и 20 мкл 18 мМ раствора перекиси водорода и инкубировали полученную смесь в течение 10 мин при 37°C. Реакцию останавливали добавлением 100 мкл 50% раствора трихлоруксусной кислоты, осажденные белки удаляли центрифугированием (10 мин, 30 оборотов/мин). 100 мкл супернатанта вносили в 1000 мкл трис-НСl буфера 0,1 М, рН 8,5 и добавляли туда 20 мкл раствора 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислоты) (ДТНБ, реактива Элмана) на абсолютном метаноле (4г/л). Измерения осуществляли при длине волны 412 нм в двух параллелях. Расчет активности глутатионпероксидазы проводили на основании значения коэффициента молярной экстинкции ДТНБ, равного $13,7 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ в [173], по формуле:

$A, \text{ ммоль}/(\text{мин}\cdot\text{мл}\cdot\text{см}) = [(\text{ОП}0 - \text{ОП}10) - (\text{ОП}к0 - \text{ОП}к10)] \cdot 244,8 / [\varepsilon \cdot t]$, где:

ОПп10 – оптическая плотность реакционной смеси, содержащей 5 мкл сыворотки крови, которую инкубировали в течение 10 мин;

ОПп0 – оптическая плотность реакционной смеси, содержащей 5 мкл сыворотки крови, реакцию в которой останавливали сразу после ее начала – 0 мин;

ОПк10 – оптическая плотность реакционной смеси, которую инкубировали в течение 10 мин;

ОПк0 – оптическая плотность реакционной смеси, содержащей вместо сыворотки крови 5 мкл фосфатного буфера, реакцию в которой останавливали сразу после ее начала – 0 мин;

ϵ – коэффициент молярной экстинкции йода, равный $13,7 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$,

t – время реакции, 10 мин,

244,8 – разведение образцов в ходе эксперимента.

Активность пероксидазы выражали в ммоль/(мин*мл*см) не вступившего в реакцию глутатиона.

Определение концентрации оксипролина в сыворотке крови

Концентрацию оксипролина в сыворотке крови определяли колориметрически по образованию окрашенного продукта в реакции с п-диметиламинобензальдегидом [102]. Для этого к 50 мкл сыворотки крови добавляли 500 мкл 5% раствора натрия гипобромита (4°C), перемешивали с помощью встряхивателя вибрационного типа «Vortex». Спустя 3-10 мин добавляли 25 мкл 16% раствора натрия сульфита, перемешивали и затем добавляли 500 мкл 5% раствора п-диметиламинобензальдегида и 250 мкл 6 н. раствора соляной кислоты. Пробы инкубировали 150 с при 90°C , после чего остужали в воде комнатной температуры в течение 3 мин. Оптическую плотность проб регистрировали при длине волны 560 нм. Концентрацию оксипролина в сыворотке крови рассчитывали по калибровочной кривой, для построения которой использовали образцы с концентрацией оксипролина 1, 3, 5, 10, 15, 20 и 25 мкг/мл (рисунок 11).

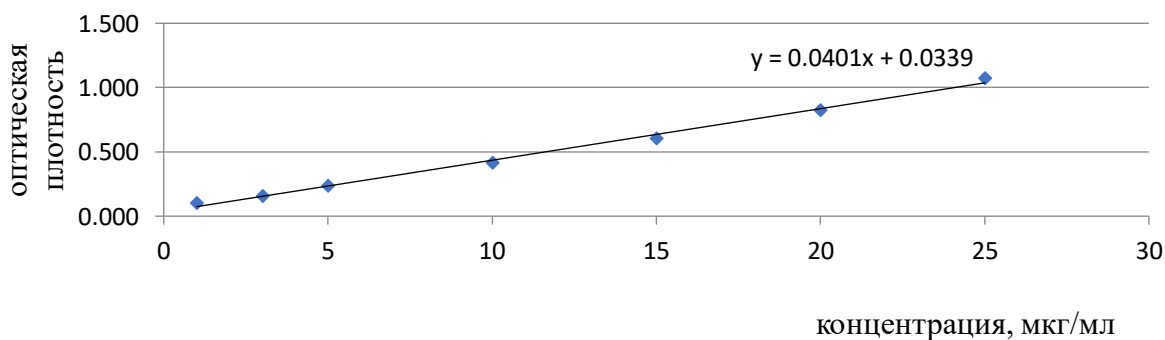


Рисунок 11 – Калибровочная кривая для определения концентрации оксипролина

2.4.3 Методы исследования побочного действия НПВС и влияния на него этилметилгидроксипиридина сукцината

2.4.3.1 Модель гастротоксичности

Эксперименты проводили на самцах белых аутбредных крыс. Гастротоксичность моделировали трехдневным (один раз в день) пероральным введением ацетилсалициловой кислоты в дозе 150 мг/кг [282], вызывающем умеренно выраженные повреждения слизистой оболочки желудка. Ульцерогенное действие диклофенака натрия и эторикоксиба и влияние на него ЭМГПС оценивали в два этапа. На первом этапе работы регистрировали влияние препаратов при однократном пероральном введении за 1 ч до третьего введения ацетилсалициловой кислоты. На втором этапе работы изучали влияние трехкратного перорального (один раз в день) введения препаратов на вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность. Исследуемые препараты вводили за 1 ч до каждого введения ацетилсалициловой кислоты.

Повреждения слизистой оболочки желудка оценивали визуально в баллах по модифицированной нами шкале (таблица 1) [10]. Для каждой крысы подсчитывали суммарный балл повреждений слизистой оболочки желудка.

Таблица 1 – Шкала для оценки повреждений слизистой оболочки желудка (СОЖ)

Повреждения СОЖ	Баллы
Нет повреждений	0
Диффузная гиперемия	0,5
Точечные эрозии - от 1 до 2 шт.	1
Точечные эрозии - от 3 до 6 шт.	1,5
Точечные эрозии - от 7 до 10 шт.	2
Более 10 точечных эрозий	2,5
2 и более сливающиеся точечные эрозии	3
1 выраженная эрозия + от 0 до 4 шт. точечных эрозий	3,5
2 выраженных эрозии + от 0 до 4 шт. точечных эрозий	4
2 выраженные эрозии + 5 шт. и более точечных эрозий	4,5
Выраженные эрозии - 3 или более шт.	5
Язвы менее 3 мм - от 1 до 10 шт.	5,5
Язвы менее 3 мм - от 10 до 20 шт.	6
Язвы размером более 3 мм	6,5

2.4.3.2 Регистрация артериального давления

Эксперимент проводили на самцах белых аутбредных крыс. Препараты вводили перорально (ежедневно, 1 раз в сутки) на протяжении 21 суток. Регистрацию АД проводили до введения препаратов, на 14 и 21 сутки их введения у неанестезированных крыс неинвазивно с помощью окклюзионной хвостовой манжеты, используя систему Kent Scientific CODA Non-Invasive Blood Pressure System (Kent Scientific Corporation, США), работа которой основана на методе объемной регистрации давления.

Пред каждым тестированием осуществляли пятнадцатиминутную адаптацию животных, в течение которой иммобилизованные в индивидуальных акриловых фиксаторах крысы находились на нагревательной площадке (с температурой 36°C), накрытые темной тканью. У каждого животного показатели систолического давления и диастолического давления регистрировали трижды, затем вычисляли их среднее значение.

На протяжении эксперимента регистрировали массу тела крыс, вычисляя ее прирост на 6, 10, 15, 19 и 22 сутки как разницу зафиксированной в эти дни массы тела со значением в 1 сутки введения препаратов перед их введением.

2.4.3.3 Регистрация гематологических показателей²

Образцы крови животных получали, ампутировав кончик хвоста, удаляя из пробы первые капли для предотвращения загрязнения и возможной ошибки при измерении. На гематологическом анализаторе Mindray BC-2800Vet (Китай) регистрировали следующие гематологические показатели: абсолютное содержание лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов, эритроцитов и тромбоцитов; гемоглобин. Гематологические показатели регистрировали до введения препаратов (фоновые значения) и на 14 сутки после их введения.

2.4.3.4 Методы исследования поведения крыс

Влияние НПВС, ЭМГПС, НПВС с ЭМГПС при однократном и курсовом пероральном (ежедневном пятнадцатидневном) введении на поведение животных оценивали на самцах белых аутбредных крыс в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». При курсовом введении препаратов дополнительно была оценена локомоторная активность животных в тесте «Вращающийся стержень».

² Эксперимент проводили совместно с сотрудниками отдела лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» Алексеевой С.В. и Качаловым К.С.

Тест «Открытое поле»

Поведение крыс регистрировали в течение 3 мин в установке «Открытое поле», круглое (НПК «Открытая Наука», Россия), представляющей собой камеру диаметром 90 см с бортиком высотой 38 см. Пол арены расчерчен на 19 секторов, расположенных в 3 ряда (ряд секторов на периферии, сектора средней части арены и центральный сектор), и имеет 13 отверстий по 4 см. Регистрировали латентный период начала движения в с, горизонтальную двигательную активность крыс на периферии и в центральной зоне поля (за центральную зону принимали сектора в средней части поля и центральный сектор), вертикальную двигательную активность (стойки), число обследованных отверстий. Рассчитывали коэффициент ориентировочно-исследовательской реакции (K_{OIP}) – сумму показателей горизонтальной и вертикальной двигательной активности и числа обследованных отверстий [243, 259].

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»

В течение 5 мин наблюдения в установке «Приподнятый крестообразный лабиринт» для крыс (НПК «Открытая Наука», Россия) регистрировали время, проведенное животными на центральной площадке, в открытых и закрытых рукавах, и число заходов в открытые и закрытые рукава установки [243].

Тест «Вращающийся стержень»

Перед тестированием крыс адаптировали к условиям установки «Вращающийся стержень» для крыс (Rota Rod, Ugo Basile, Италия), осуществляя 3 посадки на барабан установки, вращающийся со скоростью 5 оборотов/мин. Тестирование моторного навыка осуществляли при режиме вращения барабана со скоростью от 10 до 30 оборотов/мин (при ускорении 1 оборот за 10 с), регистрируя латентное время падения крыс в с.

2.5 Статистическая обработка

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Statistica 10.0. Нормальность распределения данных проверяли критерием Шапиро-Уилка с последующей оценкой межгруппового равенства дисперсий критерием Левена. При нормальном распределении в группах и соблюдении межгруппового равенства дисперсий дальнейшую статистическую обработку проводили путем однофакторного дисперсионного анализа с последующим сравнением групп с помощью критерия Ньюмена-Кейлса, Даннета и t-критерия Стьюдента. При отсутствии нормального распределения использовали критерий Краскела-Уоллиса с последующим множественным сравнением с помощью критерия Данна или применением метода сравнения средних рангов для всех групп, критерия Манна-Уитни

без/с поправкой Бонферрони или поправкой Беньямини-Хохберга [12, 80]. Различия между группами считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение влияния препарата с антиоксидантным действием этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) на выраженность противоболевого и противовоспалительного действия и побочных эффектов ингибиторов циклооксигеназы (ЦОГ) – селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба и неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия – проводили в несколько этапов. На первом этапе работы оценивали влияние ЭМГПС на противоболевое действие эторикоксиба и диклофенака натрия; на втором – изучали влияние ЭМГПС на противовоспалительное действие ингибиторов ЦОГ. Третий этап работы включал эксперименты, задачей которых явилась оценка влияния ЭМГПС на выраженность побочного действия эторикоксиба и диклофенака натрия.

3.1 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при висцеральной и соматической боли в экспериментах на мышах и крысах

Влияние ЭМГПС на противоболевые эффекты НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба оценивали при их однократном и курсовом пероральном введении. При однократном пероральном введении противоболевой эффект препаратов регистрировали на моделях острой висцеральной боли у мышей (тест «Укусные корчи») и соматической боли у крыс (формалиновый тест и тест механической гипералгезии при воспалении). Действие ЭМГПС на противоболевой эффект НПВС при курсовом пероральном введении изучали на модели послеоперационной гипералгезии у крыс.

3.1.1 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при однократном пероральном введении на моделях висцеральной и соматической боли

Влияние препаратов на висцеральную боль в тесте «Укусные корчи» у мышей. Висцеральная боль у мышей после внутрибрюшинного введения им 0,9% раствора уксусной кислоты проявлялась специфическими болевыми движениями – корчами, количество которых в контрольных группах варьировало от 48,3 до 62,0 единиц (таблица 2-4). Диклофенак натрия оказывал дозозависимое противоболевое действие и значимо снижал болевую реакцию животных при однократном пероральном введении в дозах от 1 мг/кг до 10 мг/кг, но не в дозе 0,5 мг/кг. Противоболевой эффект препарата в дозе 1 мг/кг соответствовал уменьшению числа корчей на 43,6% по сравнению с контрольной группой, в дозе 5 мг/кг – на 57,0%, в дозе 10 мг/кг – на 64,6%. При этом снижение висцеральной боли при введении мышам диклофенака натрия в

дозах 5 мг/кг и 10 мг/кг было значимо соответственно на 47,7% и 57,0% более выражено, чем в группе животных, которым его вводили в дозе 0,5 мг/кг (таблица 2). Применение диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг приводило к значимому снижению боли на 47,7%; использование этого НПВС совместно с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг подавляло боль на 40,3%. Применение диклофенака натрия в дозе 0,5 мг/кг, в которой препарат не оказывал значимого влияния на висцеральную боль, совместно с ЭМГПС в дозах 25 мг/кг и 12,5 мг/кг приводило к появлению значимого противоболевого эффекта. Комбинация этого НПВС в дозе 0,5 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг снижала боль на 29,8%, с ЭМГПС в дозе 12,5 мг/кг – на 25,1% (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние диклофенака натрия и его комбинированного применения с этилметилгидроксипиридином сукцинатом (ЭМГПС) на болевую реакцию в тесте «Укусные корчи» у мышей ICR

Группа	Число животных в группе	Число корчей, ед.	Снижение корчей по сравнению с контролем, %
Контроль, физ. р-р п/о	9	48,29 ±1,74 (4,61)	-
Диклофенак 0,5 мг/кг п/о	8	39,71 ±5,12 (13,54)	17,8
Диклофенак 1 мг/кг п/о	8	27,25 ±2,14 (6,04)**	43,6
Диклофенак 5 мг/кг п/о	9	20,78 ±2,04 (6,12)***/#	57,0
Диклофенак 10 мг/кг п/о	9	17,11 ±2,30 (6,90)***/###	64,6
Диклофенак 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 100 мг/кг п/о	6	28,83 ±4,09 (10,03)**	40,3
Диклофенак 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 25 мг/кг п/о	8	25,25 ±3,74 (10,57)***	47,7
Диклофенак 0,5 мг/кг п/о + ЭМГПС 25 мг/кг п/о	9	33,88 ±5,49 (15,53)*/^	29,8
Диклофенак 0,5 мг/кг п/о + ЭМГПС 12,5 мг/кг п/о	6	36,17 ±3,10 (7,60)*/^/@	25,1
Примечания			
1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение).			
2. физ. р-р – физиологический раствор, п/о – пероральное введение.			
3. *-p<0,05, **-p<0,005, ***-p<0,0005 по сравнению с контрольной группой, критерий Ньюмена-Кейлса.			
4. #-p<0,05, ##-p<0,005 по сравнению с группой «Диклофенак 0,5 мг/кг», критерий Ньюмена-Кейлса.			
5. ^- p<0,05 по сравнению с группой «Диклофенак 5 мг/кг», критерий Ньюмена-Кейлса.			
6. @- p<0,05 по сравнению с группой «Диклофенак 10 мг/кг», критерий Ньюмена-Кейлса.			

Эторикокиб при однократном пероральном введении в диапазоне доз 1 мг/кг – 20 мг/кг дозозависимо подавлял висцеральную боль у мышей. Препарат в дозе 1 мг/кг значимо снижал количество корчей на 22,5%, в дозе 5 мг/кг – на 33,9%, в дозе 10 мг/кг – на 36,4%, в дозе 20 мг/кг – на 43,2%. Применение эторикокиба в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозах 25-100 мг/кг усиливало выраженность противоболевого эффекта НПВС и приводило к подавлению

боли на 40,1-44,2%, что было сопоставимо с эффектом селективного ингибитора ЦОГ-2 в дозе 20 мг/кг. Хотя при статистическом анализе с помощью критерия Ньюмена-Кейлса статистически значимых ($p < 0,05$) различий между группами животных, которым вводили только эторикокиб и эторикокиб (1 мг/кг) с ЭМГПС (25-100 мг/кг), не было, при сравнении этих групп с помощью t-критерия Стьюдента зарегистрировано значимое ($p < 0,05$) повышение эффективности при комбинированном введении НПВС с ЭМГПС на 22,6-28,0% по сравнению с введением только эторикокиба (1 мг/кг). Однако при применении эторикокиба (1 мг/кг) совместно с ЭМГПС в дозе 12,5 мг/кг количество корчей практически не отличалось от показателя в группе мышей, которым вводили только эторикокиб в дозе 1 мг/кг (таблица 3).

Таблица 3 – Влияние эторикокиба и его комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на болевую реакцию в тесте «Укусные корчи» у мышей ICR

Группа	Число животных в группе	Число корчей, ед.	Снижение корчей по сравнению с контролем, %
Контроль, физ. р-р п/о	8	50,5 ± 2,36 (6,68)	-
Эторикокиб 1 мг/кг п/о	9	39,13 ± 3,52 (9,95)*	22,5
Эторикокиб 5 мг/кг п/о	9	33,38 ± 5,25 (14,84)*	33,9
Эторикокиб 10 мг/кг п/о	9	32,12 ± 5,2 (14,72)*	36,4
Эторикокиб 20 мг/кг п/о	7	28,67 ± 3,92 (9,61)**	43,2
Эторикокиб 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 100 мг/кг п/о	6	28,17 ± 3,18 (7,78)**	44,2
Эторикокиб 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 50 мг/кг п/о	10	30,27 ± 1,96 (6,5)*	40,1
Эторикокиб 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 25 мг/кг п/о	6	29,17 ± 3,68 (9,02)**	42,2
Эторикокиб 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 12,5 мг/кг п/о	6	36,83 ± 3,72 (9,11)*	27,1
Примечания 1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение). 2. физ. р-р – физиологический раствор, п/о – пероральное введение. 3. *- $p < 0,05$, **- $p < 0,005$ по сравнению с контрольной группой, однофакторный дисперсионный анализ с последующим апостериорным сравнением при помощи критерия Ньюмена-Кейлса.			

ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозах 25 мг/кг – 100 мг/кг значимо не влиял на выраженность висцеральной боли у мышей. Вместе с тем, при его применении в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг наблюдалась тенденция к снижению количества корчей, составившая соответственно 19,8% ($p = 0,07$) и 23,4 % ($p = 0,075$, t-критерий Стьюдента) (таблица 4).

Таблица 4 – Влияние с этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) на болевую реакцию в тесте «Укусные корчи» у мышей ICR

Группа	Число животных в группе	Число корчей, ед.	Снижение корчей по сравнению с контролем, %
Контроль, физ. р-р п/о	9	62,0 ± 6,2 (17,5)	-
ЭМГПС 25 мг/кг п/о	9	49,3 ± 5,3 (14,0)	20,5
ЭМГПС 50 мг/кг п/о	11	49,7 ± 3,2 (10,7)	19,8
ЭМГПС 100 мг/кг п/о	8	47,5 ± 4,1 (11,5)	23,4
Примечания			
1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение).			
2. физ. р-р – физиологический раствор, п/о – пероральное введение.			

Таким образом, на модели острой висцеральной боли у мышей ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозах 25 мг/кг – 100 мг/кг не оказывал значимого влияния на ее выраженность, но усиливал противоболевой эффект ингибиторов ЦОГ диклофенака натрия и эторикоксиба при их однократном пероральном введении в дозах 0,5 мг/кг и 1 мг/кг, соответственно.

Влияние препаратов на соматическую боль в формалиновом тесте у крыс. В формалиновом тесте, имитирующем боль при операционных разрезах, спонтанное болевое поведение крыс после введения им 0,1 мл 2% раствора формалина характеризовалось двухфазной реакцией (таблица 5). Первая фаза длилась в течение 5 мин и обусловлена действием формалина на ионный канал TRPA1 афферентных нейронов. Вторая фаза начиналась с 20 мин после введения раствора формалина, механизм ее развития связывают с воспалительной реакцией и центральной сенситизацией [58]. Регистрируемое с 5 по 20 мин уменьшение боли – интерфаза – объясняют результатом гиперполяризации и временной инактивации нейронов, повышение возбудимости которых и центробежное распространение формалина в коже вызывает вторую фазу формалиновой боли [72].

Диклофенак натрия при однократном пероральном введении в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг оказывал дозозависимое противоболевое действие в формалиновом тесте у крыс. Неселективный ингибитор ЦОГ в дозе 10 мг/кг значимо снижал число свидетельствующих о боли спонтанных реакций крыс в острую фазу боли на 50,0% в тоническую – на 31,7%. При этом значимое уменьшение боли у животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг, по сравнению с контрольной группой было отмечено в отдельные временные точки: через 5, 45 и 50 мин после введения им раствора формалина. Введение крысам неселективного

ингибитора ЦОГ в меньшей дозе 1 мг/кг приводило к значимому подавлению боли (на 26,8%) только в тоническую фазу (таблица 5).

Эторикоксиб оказывал значимое противоболевое действие в формалиновом тесте у крыс при однократном пероральном введении в дозе 10 мг/кг, но не в дозе 1 мг/кг. Селективный ингибитор ЦОГ-2 в дозе 10 мг/кг значимо на 22,0% снижал число свидетельствующих о боли спонтанных реакций крыс в тоническую фазу формалиновой боли. На острую фазу боли препарат влияния не оказывал (таблица 5).

ЭМППС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг не оказывал значимого влияния на болевое поведение крыс в формалиновом тесте. Однако его применение совместно с диклофенаком натрия или эторикоксибом в дозе 1 мг/кг усиливало выраженность противоболевого действия НПВС за счет появления способности снижать боль (на 50,0%) в острую фазу. Эффект комбинированного применения НПВС с ЭМППС, как и диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг, в острую фазу боли развивался за счет сокращения ее длительности, так как болевые реакции крыс сразу после введения раствора формалина (0 мин регистрации) во всех опытных группах практически не различались. Значимых различий в поведении животных опытных групп во время интерфазы выявлено не было (таблица 5).

После инъекции в лапу крыс раствора формалина развивается отек в месте введения флогогена, при котором в зону повреждения тканей мигрируют лейкоциты, преимущественно нейтрофилы. По уменьшению выраженности отека при введении соединений судят о наличии у них антиэкссудативных свойств [117].

В проведенном эксперименте флогоген через 4 ч после введения вызвал воспалительную реакцию у крыс, которая характеризовалась увеличением диаметра лапы на 1,9 мм. ЭМППС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг значимого влияния на выраженность экссудации не оказывал. Эторикоксиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг оказывал сходный противовоспалительный эффект: в дозе 1 мг/кг препарат подавлял экссудацию на 47,4%, в дозе 10 мг/кг – на 43,6%. Применение ЭМППС в дозе 25 мг/кг совместно с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг не приводило к появлению значимых различий с группой животных, которым вводили только селективный ингибитор ЦОГ-2 в дозе 1 мг/кг, однако при введении эторикоксиба в дозе 1 мг/кг с ЭМППС в дозе 25 мг/кг был зарегистрирован максимальный антиэкссудативный эффект – выраженность отека снижалась на 69,2% (таблица 6).

Диклофенак натрия в обеих изучаемых дозах значимо подавлял выраженность формалинового отека у крыс: в дозе 1 мг/кг – на 33,3%, в дозе 10 мг/кг – на 38,5%. При введении диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМППС в дозе 25 мг/кг эффект был более выражен: экссудация снижалась на 43,6% (таблица 6).

Таблица 5 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) при однократном пероральном введении на болевую реакцию в формалиновом тесте у крыс, баллы

Время после введения формалина, мин	Группа, 2% раствор формалина +							
	Контроль, физ. р-р	ЭМГПС 25 мг/кг п/о	Диклофенак натрия 1 мг/кг п/о	Диклофенак натрия 10 мг/кг п/о	Диклофенак 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 25 мг/кг п/о	Эторикоксиб 1 мг/кг п/о	Эторикоксиб 10 мг/кг п/о	Эторикоксиб 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 25 мг/кг п/о
0 (30 с)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)
5	3,0 (1,0; 3,0)	2,0 (1,0; 3,0)	1,5 (1,0; 2,0)	0,0 (0,0; 1,0)*	0,0 (0,0; 2,0)	1,0 (0,0; 1,0)	1,0 (0,0; 2,0)	0,0 (0,0; 0,0)*^
Острая фаза	6,0 (4,0; 6,0)	5,0 (4,0; 5,0)	4,5 (4,0; 5,0)	3,0 (3,0; 3,75)*	3,0 (3,0; 3,5)*	3,5 (3,0; 4,0)	4,0 (3,0; 4,75)	3,0 (3,0; 3,0)*^
10	1,0 (0,75; 1,0)	1,0 (0,0; 1,0)	0,0 (0,0; 0,75)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 1,0)	1,0 (1,0; 1,0)	0,0 (0,0; 0,75)	0,0 (0,0; 0,0)
15	1,0 (0,0; 2,0)	1,0 (1,0; 3,0)	1,5 (0,25; 2,0)	0,5 (0,0; 2,0)	2,0 (1,25; 2,0)	2,0 (1,0; 2,0)	0,5 (0,0; 1,0)	0,0 (0,0; 2,0)
Интерфаза	2,0 (1,75; 2,0)	3,0 (1,0; 4,0)	2,0 (0,25; 3,0)	1,0 (0,0; 2,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,5 (2,0; 3,75)	0,5 (0,0; 2,0)	0,5 (0,0; 2,0)
20	2,0 (0,75; 2,0)	2,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	2,5 (2,0; 3,0)	1,0 (1,0; 3,0)	2,0 (1,0; 2,0)
25	3,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,5 (2,0; 3,0)
30	3,0 (3,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	3,0 (3,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	3,0 (2,0; 3,0)
35	3,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 2,0)	2,0 (1,0; 2,0)	2,0 (2,0; 2,0)	2,0 (1,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,0 (2,0; 3,0)
40	3,0 (2,75; 3,0)	2,0 (1,0; 2,0)	2,0 (1,0; 2,0)	2,0 (1,0; 2,0)	2,0 (1,0; 2,0)	2,0 (2,0; 2,0)	2,0 (2,0; 3,0)	1,0 (1,0; 2,0)*
45	3,0 (1,75; 3,0)	2,0 (1,0; 2,00)	2,0 (1,0; 2,0)	1,0 (0,0; 2,0)*	2,0 (2,0; 2,0)	1,5 (1,0; 2,0)	2,0 (2,0; 2,0)	1,0 (1,0; 2,0)
50	2,5 (1,75; 3,0)	2,0 (1,0; 3,00)	1,0 (0,0; 2,0)	1,0 (1,0; 1,0)*	2,0 (1,0; 2,0)	1,5 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 1,75)*
55	2,0 (1,0; 2,25)	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (1,1; 1,0)	0,0 (0,0; 1,0)	1,0 (0,0; 1,0)	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 1,0)	0,5 (0,0; 1,0)
60	1,0 (0,75; 2,0)	2,0 (1,0; 2,0)	1,0 (0,0; 1,0)^	0,0 (0,0; 1,0)^	1,0 (0,0; 1,0)^	1,0 (0,0; 1,0)	1,0 (0,3; 1,0)	0,5 (0,0; 1,0)^
Тоническая фаза	20,5 (19,0; 23,5)	19,0 (16,0; 20,0)	15,0 (13,0; 17,0)*	14,0 (14,0; 15,0)*	17,0 (12,0; 17,0)*	16,0 (14,0; 18,0)*	16,0 (14,0; 18,0)*	13,0 (12,0; 15,0)*
<p>Примечания</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей, в группах 9-10 животных. 2. физ. р-р – физиологический раствор, п/о – пероральное введение. 3. Суммарный балл в острую фазу, интерфазу и тоническую фазу – это сумма баллов, характеризующих болевое поведение животных, за 0 и 5 мин; 10 и 15 мин; и с 20 по 60 мин, соответственно. 4. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Краскела-Уоллиса с последующим статистическим анализом данных методом сравнения средних рангов для всех групп. 5. ^ - $p < 0,05$ по сравнению с группой «ЭМГПС 25 мг/кг п/о», критерий Краскела-Уоллиса с последующим статистическим анализом данных методом сравнения средних рангов для всех групп. 								

Таблица 6 – Влияние эторикоксиба, диклофенака натрия и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на выраженность формалинового отека у крыс

Группа	Число животных в группе	Увеличение диаметра лапы, мм	Снижение отека по сравнению с контролем, %
Контроль, физ. р-р п/о	9	1,9 (1,5; 2,5)	-
ЭМГПС 25 мг/кг п/о	9	1,7 (1,5; 2,0)	10,5
Эторикоксиб 1 мг/кг п/о	10	1,0 (0,9; 1,5)*	47,4
Эторикоксиб 10 мг/кг п/о	10	1,1 (1,0; 1,2)*	43,6
Эторикоксиб 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 25 мг/кг п/о	10	0,6 (0,6; 1,3)*	69,2
Диклофенак натрия 1 мг/кг п/о	9	1,3 (1,0; 1,3)*	33,3
Диклофенак натрия 10 мг/кг п/о	9	1,2 (0,9; 1,4)*	38,5
Диклофенак натрия 1 мг/кг п/о + ЭМГПС 25 мг/кг п/о	9	1,1 (0,8; 1,3)*	43,6
<p>Примечания</p> <ol style="list-style-type: none"> Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей, в группах 9-10 животных. физ. р-р – физиологический раствор, п/о – пероральное введение. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Краскелла-Уоллиса с апостериорным сравнением при помощи критерия Данна. 			

Таким образом, ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг повышает выраженность противоболевого действия диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг в формалиновом тесте у крыс за счет появления способности снижать болевые реакции в острую фазу. Оценка выраженности формалинового отека у крыс свидетельствует о том, что максимальный антиэкссудативный эффект зарегистрирован при введении животным НПВС в дозе 1 мг/кг в сочетании с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг.

Влияние препаратов на соматическую боль в тесте механической гипералгезии при воспалении у крыс. При экссудативном воспалении лапы у крыс, вызванном инъекцией раствора каррагинана, развивается гипералгезия, которую регистрировали с помощью нитей фон Фрея через 3 и 24 ч после его индукции. При тактильной стимуляции порог чувствительности животных с каррагинановым отеком, которым вводили растворитель, через 3 ч после введения флогогена составил 5 г, через 24 ч – 8 г против порога чувствительности, равного 60 г, у крыс, которым в лапу раствор каррагинана не вводили.

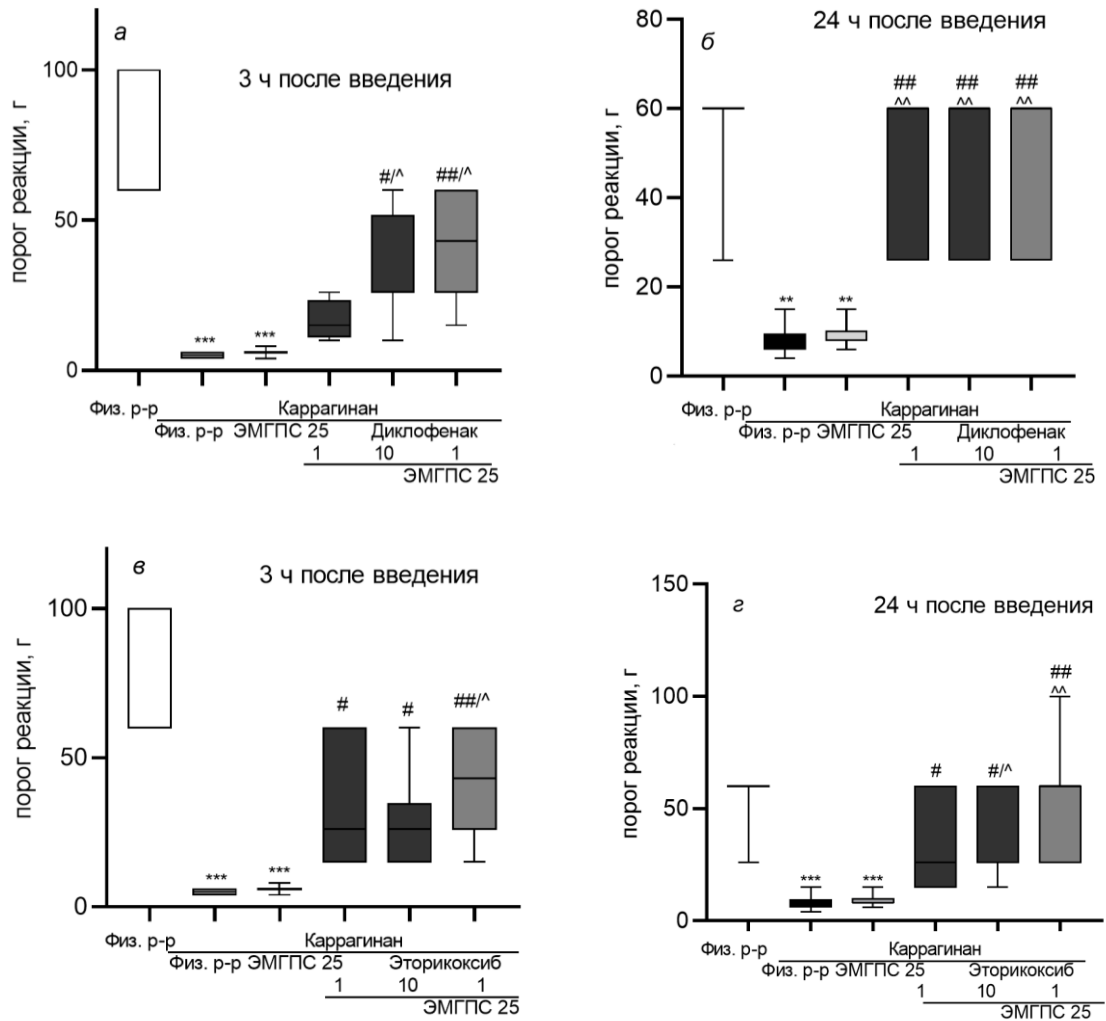
Диклофенак натрия при однократном пероральном введении в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг в тесте механической гипералгезии при воспалении у крыс проявлял дозозависимый противоболевой эффект. Через 3 ч после индукции воспаления неселективный ингибитор ЦОГ значительно увеличивал порог чувствительности животных по сравнению с группой, которой вводили раствор каррагинана и растворитель, только при введении в дозе 10 мг/кг (порог

чувствительности составил 26 г). Через 24 ч после введения флогогена порог чувствительности крыс, которым вводили диклофенак натрия в обеих изучаемых дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, повышался до значения группы животных без отека лапы (рисунок 12а, б).

У крыс с каррагинановым отеком, которым вводили селективный ингибитор ЦОГ-2 эторикокиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, порог чувствительности при тактильной стимуляции поврежденной лапы был значимо выше по сравнению с группой животных с отеком лапы, которым вводили только растворитель, и через 3 и 24 ч после индукции воспаления был равен 26 г (рисунок 12в, г).

ЭМГПС в дозе 25 мг/кг не влиял на порог чувствительности поврежденной лапы крыс с каррагинановым отеком при ее тактильной стимуляции. Однако его введение совместно с диклофенаком натрия в дозе 1 мг/кг приводило к повышению порога чувствительности животных через 3 ч после введения флогогена по сравнению с введением только этого НПВС в дозе 1 мг/кг, который не оказывал на него значимого влияния. Порог чувствительности крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, через 3 ч после введения флогогена составил 43 г, то есть был в 8,6 раза выше, чем в группе крыс с отеком лапы, которым вводили только растворитель. Через 24 ч после индукции воспаления при тактильной стимуляции порог чувствительности крыс с отеком лапы, которым вводили диклофенак натрия (1 мг/кг) с ЭМГПС (25 мг/кг), не отличался от порога чувствительности животных, которым вводили этот НПВС в обеих изучаемых дозах (рисунок 12а, б). На эффект селективного ингибитора ЦОГ-2 ЭМГПС (25 мг/кг) оказывал меньшее влияние. Порог чувствительности крыс, которым перорально вводили эторикокиб (1 мг/кг) с ЭМГПС (25 мг/кг), через 3 и 24 ч после индукции воспаления был незначимо повышен по сравнению с соответствующими значениями в группе животных, которым вводили только эторикокиб (1 мг/кг), и составлял соответственно 43 и 60 г (рисунок 12в, г).

Таким образом, на модели механической гипералгезии у крыс, вызванной экссудативным воспалением после инъекции раствора каррагинана в лапу животных, ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг усиливает в большей степени противоболевой эффект диклофенака натрия, а не эторикокиба в дозе 1 мг/кг.



Примечания

1. На оси ординат – порог болевой реакции в граммах (г).
2. Данные представлены в виде боксплотов (медиана; верхний и нижний квартили; минимум и максимум).
3. **- $p < 0,005$, ***- $p < 0,0005$ по сравнению с группой «Физ. р-р»; #- $p < 0,05$, ##- $p < 0,005$ по сравнению с группой «Каррагинан + физ.р-р»; ^- $p < 0,05$, ^^- $p < 0,005$ по сравнению с группой «Каррагинан + этилметилгидроксипиридина сукцинат 25»; критерий Краскела-Уоллиса с последующим статистическим анализом данных методом сравнения средних рангов для всех групп.

Рисунок 12 – Влияние диклофенака натрия (а, б), эторикоксиба (в, г) и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) при однократном пероральном введении в тесте механической гипералгезии при воспалении у крыс через 3 (а, в) и 24 (б, г) ч после введения раствора каррагинана

Таким образом, результаты экспериментов, оценивающих влияние ЭМГПС на эффект ингибиторов ЦОГ при однократном пероральном введении на моделях висцеральной и соматической боли, показали, что на модели висцеральной боли у мышей ЭМГПС в дозе 25 мг/кг усиливает противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба в дозах 0,5 мг/кг и 1 мг/кг, соответственно. На моделях соматической боли у крыс ЭМГПС в дозе 25 мг/кг усиливает противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг. При этом

ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг не оказывает значимого влияния на выраженность боли у мышей и крыс на моделях острой висцеральной и соматической боли.

3.1.2 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при курсовом пероральном введении на модели послеоперационной гипералгезии у крыс

Послеоперационную гипералгезию у крыс, воспроизводящую острую ноцицептивную боль при хирургических разрезах, моделировали разрезанием скальпелем кожи, фасций и короткого сгибателя пальцев левой задней лапы. У крыс с этой моделью на протяжении нескольких дней после хирургической манипуляции наблюдается механическая гипералгезия, что свидетельствует о подобии регистрируемых в эксперименте проявлений клинической картины в послеоперационном периоде у людей [19].

В продолжение изучения влияния ЭМГПС на выраженность противоболевого действия ингибиторов ЦОГ было оценено действие ЭМГПС на анальгетический эффект диклофенака натрия и эторикоксиба при курсовом (дважды в сутки, в течение 4 суток, начиная со дня операции) введении препаратов на модели послеоперационной гипералгезии у крыс. Диклофенак натрия в дозах 1 мг/кг, 10 мг/кг с последующим переходом на 5 мг/кг вследствие регистрации токсического действия препарата, эторикоксиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, НПВС в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг вводили перорально дважды в сутки (в 9.00 и 16.00), начиная со дня операции (0 сутки), и в течение 3 дней после нее.

Чувствительность задних лап крыс к механической стимуляции, зарегистрированная за сутки до операции, была сопоставима во всех группах. Число отдергиваний задних лап животными в ответ на 10-кратное воздействие волоском фон Фрея с калиброванной силой на сгибание, равной 10 г, соответствовало 0-1 (таблицы 7-10).

Начиная с 1 суток после операции, у крыс контрольной группы, не получавших изучаемых средств, регистрировали механическую гипералгезию. Число отдергиваний задних лап животными в ответ на 10-кратное воздействие волоском фон Фрея с калиброванной силой на сгибание, равной 10 г, в области операционного шва соответствовало 9; в области плюсны прооперированной лапы – 5. На 2 сутки после операции болевая чувствительность крыс увеличилась до числа отдергиваний задних лап в ответ на 10-кратное воздействие волоском фон Фрея, соответствующего 10 отдергиваниям для области операционного шва, 7 отдергиваниям – для области левой плюсны. На 3 и 4 сутки после операции чувствительность к механическому раздражению прооперированной лапы в области шва соответствовала 7,5

отдергиваниям. Чувствительность левой плюсны к механическому раздражению на 3 сутки после операции характеризовалась значением медианы, равным 3,5, на 4 сутки – 2,5 отдергиваниям лапы (таблица 7, 8).

Диклофенак натрия при курсовом пероральном введении в дозе 1 мг/кг не оказывал значимого влияния на болевую чувствительность крыс с моделью послеоперационной гипералгезии. Второй дозой диклофенака натрия была выбрана доза 10 мг/кг. Его введение в этой дозе осуществляли в день операции и утром на следующий день после нее. Однако далее, ввиду наблюдаемого ухудшения состояния животных, дозу снизили до 5 мг/кг. К концу эксперимента (4 сутки после операции) в группе крыс, которым перорально вводили диклофенак натрия в дозе сначала 10 мг/кг, затем 5 мг/кг, погибло 5 из 10 животных. В остальных группах гибели не наблюдали. При некропсии погибших крыс регистрировали симптомы гастроэнтеропатии: истончение стенок и эрозивно-язвенные повреждения ЖКТ, вздутие желудка и кишечника, заброс желчи в желудок; остатки пищи в желудке практически отсутствовали. Поэтому мы связываем отсутствие значимого противоболевого эффекта неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия при курсовом введении сначала в дозе 10 мг/кг, затем в дозе 5 мг/кг в проведенном опыте с развитием его побочного действия, которое привело к повышению чувствительности животных (таблица 7, 8).

Эторикоксиб при курсовом пероральном введении в дозе 1 мг/кг не оказывал значимого влияния на болевую чувствительность крыс с моделью послеоперационной гипералгезии. Однако селективный ингибитор ЦОГ-2 в дозе 10 мг/кг уменьшал развившуюся после хирургической манипуляции механическую гипералгезию в области левой плюсны на 1, 2 и 3 сутки после операции, значимо не влияя на болевую реакцию животных в области операционного шва (таблица 7, 8).

ЭМГПС в дозе 25 мг/кг не оказывал значимого влияния на болевую чувствительность крыс, но повышал противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба (таблица 7, 8). Так, если НПВС в дозе 1 мг/кг не оказывали значимого влияния на выраженность болевой чувствительности крыс с моделью послеоперационной гипералгезии, то их комбинированное применение в этой дозе с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг значимо снижало гипералгезию у крыс. Диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг уменьшал число отдергиваний левой задней лапы в ответ на механическое воздействие в области операционного шва в 2,6; 5,0 и 7,5 раза соответственно на 1, 2 и 3 сутки после операции ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой (таблица 7). Диклофенак натрия с ЭМГПС значимо снижал число отдергиваний левой задней лапы при воздействии на плюсну волоском фон Фрея на 1 и 2 сутки после хирургической манипуляции: до значения медианы, равного 0,5, в 1 сутки; полностью

устранял повышенную чувствительность к механической стимуляции на 2 сутки после операции (таблица 8).

Эторикоксиб в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг снижал болевую чувствительность в области операционного шва на 33,3% на 1 сутки после операции, в 2,9 раза – на 2 сутки после операции и полностью устранял ее на 3 сутки после операции. При этом на 1, 2 и 3 сутки после операции в группе прооперированных крыс, которым вводили эторикоксиб в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, не зарегистрировано повышения чувствительности плюсны левой задней лапы к механической стимуляции (таблица 7, 8).

Статистически значимой разницы между контрольной группой животных и группами крыс, которым вводили НПВС с ЭМГПС, на 4 сутки после операции выявлено не было ввиду развившегося снижения чувствительности прооперированной лапы у крыс в контрольной группе. При этом чувствительность к механическому воздействию правой задней лапы крыс значимо не изменялась по сравнению с соответствующими значениями за сутки до операции во всех опытных группах во все дни регистрации (таблица 9).

Масса крыс с моделью послеоперационной гипералгезии в контрольной группе на 1-4 сутки после хирургической манипуляции значимо не отличалась от соответствующих значений, зафиксированных за сутки до нее (таблица 10), что характеризует развившуюся у животных послеоперационную боль как боль слабой выраженности, при которой не снижается потребление пищи и воды. Эторикоксиб в дозе 1 и 10 мг/кг, диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг, ЭМГПС в дозе 25 мг/кг и НПВС в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг не оказывали влияния на массу тела крыс после операции. Однако диклофенак натрия при пероральном введении в дозе 10 мг/кг с последующим переходом на 5 мг/кг два раза в сутки значимо снижал массу тела крыс, начиная со 2 суток после операции (таблица 10), что обусловлено развитием НПВС-индуцированной гастроэнтеропатии.

Таблица 7 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на болевую чувствительность в области операционного шва у крыс с моделью послеоперационной гипералгезии

Группа	Количество животных на начало опыта	Фоновое число отдергиваний	Число отдергиваний левой задней лапы в ответ на раздражение области операционного шва нитью фон Фрея силой на сгибание, равной 10 г; сутки после операции:			
			1 сутки	2 сутки	3 сутки	4 сутки
Контроль, физ. р-р	10	0,0 (0,0; 0,0)	9,0 (7,3; 10,0)	10,0 (9,0; 10,0)	7,5 (6,3; 9,5)	7,5 (2,0; 9,8)
ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	9,0 (7,0; 10,0)	5,5 (5,0; 10,0)	8,5 (4,8; 10,0)	4,0 (3,0; 6,3)
Диклофенак 1 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,8)	8,0 (5,5; 9,5)	7,5 (6,3; 8,0)	1,5 (1,0; 4,8)	7,5 (4,5; 9,8)
Диклофенак 10 мг/кг, затем 5 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	7,5 (6,3; 9,5)	9,0 (6,0; 10,0)	8,0 (5,0; 8,8)	5,0 (3,0; 7,0)
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	3,5* (2,3; 5,0)	2,0* (1,0; 4,8)	1,0* (0,0; 1,8)	4,5 (3,3; 8,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	8,0 (5,5; 10,0)	5,5 (3,0; 6,8)	3,0 (0,0; 3,8)	6,5 (1,3; 10,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	6,0 (4,3; 8,0)	4,5 (2,3; 7,0)	1,0* (1,0; 2,5)	2,5 (1,0; 8,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	6,0* (3,3; 7,0)	3,5* (3,0; 4,8)	0,0* (0,0; 2,5)	1,0 (0,0; 2,8)
Примечания						
1 Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.						
2 физ. р-р – физиологический раствор, п/о – пероральное введение.						
3 * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.						

Таблица 8 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на болевую чувствительность в области плюсны левой задней лапы у крыс с моделью послеоперационной гипералгезии

Группа, количество животных на начало опыта	Количество животных на начало опыта	Фоновое число отдергиваний	Число отдергиваний левой задней лапы в ответ на раздражение плюсны нитью фон Фрея силой на сгибание, равной 10 г; сутки после операции:			
			1 сутки	2 сутки	3 сутки	4 сутки
Контроль, физ. р-р	10	0,0 (0,0; 0,0)	5,0 (4,3; 7,5)	7,0 (4,5; 10,0)	3,5 (1,3; 6,3)	2,5 (0,5; 5,0)
ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (1,0; 6,0)	3,5 (3,0; 6,5)	2,0 (0,3; 3,8)	2,5 (2,0; 3,0)
Диклофенак 1 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,8)	2,0 (2,0; 3,8)	1,0 (0,0; 3,8)	0,0 (0,0; 1,0)	2,0 (2,0; 2,8)
Диклофенак 10 мг/кг, затем 5 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	4,0 (2,5; 5,0)	3,0 (0,0; 6,0)	3,0 (0,8; 3,8)	0,0 (0,0; 3,0)
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,5*(0,0; 1,8)	0,0* (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,5 (0,0; 2,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	5,0 (3,0; 8,5)	2,0 (1,0; 5,0)	0,5 (0,0; 3,0)	2,5 (0,0; 5,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	2,0* (0,5; 2,0)	1,5* (0,3; 2,8)	0,0* (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 1,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,0* (0,0; 1,0)	0,0* (0,0; 1,8)	0,0* (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Примечания 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. 2. физ. р-р – физиологический раствор, п/о – пероральное введение. 3. * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.						

Таблица 9 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на чувствительность в области правой плюсны к механической стимуляции лап у крыс с моделью послеоперационной гипералгезии

Группа	Число крыс на начало опыта	Число отдергиваний правой задней лапы в ответ на раздражение плюсны нитью фон Фрея силой на сгибание, равной 10 г; сутки после операции:			
		1 сутки	2 сутки	3 сутки	4 сутки
Контроль	10	0,0 (0,0; 0,8)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Диклофенак 1 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Диклофенак 10 мг/кг, затем 5 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (0,0; 2,8)	0,0 (0,0; 0,0)
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг	10	0,0 (0,0; 1,5)	0,0 (0,0; 1,5)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Примечания					
1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.					
2. Медиана фонового числа отдергиваний равна 0,0.					

Таблица 10 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на массу крыс с моделью послеоперационной гипералгезии

Группа	Число крыс на начало опыта	Фоновое значение, г	Масса животных, г; сутки после операции:			
			1 сутки	2 сутки	3 сутки	4 сутки
Контроль	10	283,5 (281,3; 289,5)	290,5 (284; 298,8)	296 (291; 307,8)	305 (300; 317,5)	313 (305,5; 320)
ЭМГПС 25 мг/кг	10	289,5 (284,3; 291,8)	300 (298; 300)	300 (298,5; 305,3)	310 (300,8; 312)	310 (303,5; 317,75)
Диклофенак 1 мг/кг	10	289 (281,3; 294,5)	297,5 (288,3; 309,5)	299,5 (288,5; 309,3)	301,5 (287,8; 313,5)	314 (293,3; 322)
Диклофенак 5 мг/кг, 10 мг/кг, затем 5 мг/кг	10	289,5 (280,5; 300)	294 (283,8; 303,75) n=10	272* (259; 278,3) n=9	259,5* (245,5; 269,8) n=6	253* (233; 254) n=5
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	289 (284,3; 295,8)	299 (290,3; 300)	297 (291,3; 300)	300 (292,3; 305,8)	304,5 (300,3; 309,8)
Эторикоксиб 1 мг/кг	10	281 (274,8; 292,8)	289 (285,3; 300)	291,5 (284; 301,5)	294 (287,8; 306)	299,5 (292,3; 312,8)
Эторикоксиб 10 мг/кг	10	287 (282,8; 295,8)	295,5 (287; 306,3)	298 (290,3; 310,3)	304,5 (293,5; 317,3)	308,5 (298,3; 322)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	287,5 (283,8; 292,3)	297,5 (292,8; 302,3)	300 (297; 301,5)	303,5 (300,5; 308)	310 (305; 320)
<p>Примечания</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. 2. n – количество животных в группе, указано для диклофенака натрия при его курсовом введении сначала в дозе 10 мг/кг, затем в дозе 5 мг/кг в каждый день регистрации. 3. * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль», критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. 						

Таким образом, на модели послеоперационной гипералгезии у крыс, вызванной разрезом кожи, фасций и короткого сгибателя пальцев задней лапы, установлено, что диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг, эторикоксиб в дозе 1 мг/кг и ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при курсовом пероральном введении (дважды в сутки, в течение 4 суток) не оказывают значимого противоболевого действия. Однако введение ингибиторов ЦОГ в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг приводит к появлению значимого противоболевого эффекта, что свидетельствует о способности ЭМГПС усиливать действие диклофенака натрия и эторикоксиба.

3.2 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при экссудативном воспалении в экспериментах на мышах и крысах

Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) на эффективность ингибиторов ЦОГ диклофенака натрия и эторикоксиба при экссудативном воспалении оценивали при их однократном и курсовом пероральном введении на мышах и крысах. В качестве модели острого экссудативного воспаления применяли модель каррагинанового отека у мышей и крыс. Эффективность НПВС и влияние на нее ЭМГПС при курсовом превентивном введении препаратов оценивали на модели каррагинанового отека у крыс, при курсовом введении после индукции воспаления – на модели коллагенового артрита у мышей BALB/c.

3.2.1 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при остром экссудативном воспалении на модели каррагинанового отека у крыс и мышей

Каррагинановый отек лапы у крыс и мышей является моделью острого экссудативного воспаления, сопровождающегося повышением в поврежденных тканях экспрессии ЦОГ-2, индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) [169] и концентрации продуктов СРО липидов [2, 110, 143].

Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината в дозе 25 мг/кг на эффективность диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг на модели каррагинанового отека у мышей и крыс

В проведенных экспериментах эторикоксиб и диклофенак натрия в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, НПВС (1 мг/кг) с ЭМГПС (25 мг/кг) и физиологический раствор (контрольной группе) вводили перорально за 1 ч до индукции воспаления.

Каррагинановый отек у крыс регистрировали через 1, 2, 3 и 4 часа после введения 0,1 мл 1% раствора каррагинана в заднюю лапу животных. У крыс контрольной группы отек нарастал в течение 3 ч после введения флогогена, достигая максимума, равного увеличению диаметра плюсны животных на 2,1 мм относительно фоновых значений (до введения раствора каррагинана), и снижался к 4 ч после индукции воспаления (таблица 11). ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг не вызывал снижения выраженности экссудативного воспаления у крыс. Диклофенак натрия оказывал дозозависимое противовоспалительное действие. Неселективный ингибитор ЦОГ в дозе 1 мг/кг статистически значимо снижал отечность лап крыс через 1, 3 и 4 ч после введения раствора каррагинана –

соответственно на 25,8%, 37,1% и 25,8%; в дозе 10 мг/кг его эффект характеризовался значимым уменьшением экссудации на 51,6%, 32,7%, 50,5% и 40,2% соответственно через 1, 2, 3 и 4 ч после введения раствора каррагинана по сравнению с контрольной группой. Площади под кривой для групп диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг были ниже показателя контрольной группы соответственно на 27,9% и 42,5% (таблица 11). ЭМГПС в дозе 25 мг/кг повышал антиэкссудативную эффективность диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг. Значимое снижение отека лап крыс, которым вводили ЭМГПС в дозе 25 мг/кг и диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг, относительно показателей контрольной группы наблюдали на протяжении всего эксперимента. Через 1 ч после введения каррагинана оно составляло 36,7%, через 2 ч – 34,2%, через 3 ч – 60,0%, через 4 ч – 75%. Это приводило к уменьшению площади под кривой изменения диаметра лап крыс с отеком, которым вводили диклофенак натрия с ЭМГПС, на 49,3% по сравнению с контрольной группой (таблица 11). При этом диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг заметнее снижал отечность лап крыс через 4 ч после индукции воспаления по сравнению с диклофенаком натрия в дозе 1 мг/кг. Увеличение диаметра плюсны животных, которым вводили диклофенак натрия с ЭМГПС, было статистически значимо в 3,0 раза меньше, чем при введении НПВС в дозе 1 мг/кг. Площади под кривой в группах крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг и диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, значимо не различались (таблица 11).

Эторикоксиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, как и диклофенак натрия в этих дозах, снижал экссудативное воспаление у крыс с каррагинановым отеком, статистически значимой разницы в эффективности этих НПВС не выявлено. В отличие от диклофенака натрия, при применении эторикоксиба не наблюдали дозозависимости его антиэкссудативного эффекта. Так, по сравнению с контрольной группой эторикоксиб в дозе 10 мг/кг значимо снижал отек на 39,8%, 29,1%, 33,8% и 37,9% соответственно через 1, 2, 3 и 4 ч после индукции воспаления, уменьшение площади под кривой составляло 33,1%. Эторикоксиб в дозе 1 мг/кг по сравнению с контрольной группой статистически значимо уменьшал отек через 1, 2 и 3 ч после введения раствора каррагинана соответственно на 32,0%, 37,7% и 40,0%, площадь под кривой – на 36,1%. Комбинация эторикоксиба в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг сильнее подавляла отечность через 1 и 4 ч после введения каррагинана: разница по сравнению с контрольной группой через 1 ч составляла 51,6%, через 4 ч – 49,2% (таблица 11).

Таблица 11 – Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) в дозе 25 мг/кг на эффективность диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг на модели каррагинанового отека у крыс

Группа	Число крыс в группе	Изменение диаметра лапы после введения раствора каррагинана, мм:				Площадь под кривой, мм ²
		1 час	2 час	3 час	4 час	
Каррагинан + Контроль, физ. р-р	10	1,28±0,08(0,25)	1,99±0,18(0,57)	2,10±0,13(0,42)	1,32±0,08(0,25)	5,37±0,36 (1,12)
Каррагинан +ЭМГПС 25 мг/кг	10	1,28±0,13(0,41)	2,23±0,17(0,54)	2,00±0,14(0,45)	1,56±0,07(0,22)*	5,65±0,31 (0,99)
Каррагинан +Диклофенак 1 мг/кг	10	0,95±0,11(0,35)*	1,58±0,20(0,62)	1,32±0,17(0,54)*	0,98±0,14(0,44)*#	3,87±0,44 (1,41)*
Каррагинан +Диклофенак 10 мг/кг	9	0,62±0,13(0,40)*	1,34±0,17(0,51)*	1,04±0,18(0,54)*	0,79±0,17(0,52)*#	3,09±0,42 (1,27)*
Каррагинан +Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	9	0,81±0,15(0,44)*	1,31±0,15(0,46)*	0,84±0,17(0,52)*	0,33±0,11(0,33)*	2,72±0,34 (1,03)*
Каррагинан +Эторикоксиб 1 мг/кг	9	0,87±0,09(0,27)*	1,24±0,12(0,37)*	1,26±0,16(0,47)*	0,99±0,12(0,36)	3,43±0,29 (0,88)*
Каррагинан +Эторикоксиб 10 мг/кг	9	0,77±0,13(0,38)*	1,41±0,14(0,42)*	1,39±0,16(0,48)*	0,82±0,10(0,30)*	3,59±0,31 (0,92)*
Каррагинан +Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	9	0,62±0,15(0,46)*	1,42±0,14(0,43)	1,18±0,23(0,70)*	0,67±0,19(0,56)*	3,25±0,44 (1,31)*
Примечания 1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение). 2. физ.р-р – физиологический раствор. 3. * - $p \leq 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Даннета. 4. # – $p \leq 0,05$ по сравнению с соответствующей комбинацией НПВС и ЭМГПС, критерий Даннета.						

Каррагинановый отек у мышей регистрировали через 1, 2, 3, 4, 5 и 6 ч после введения 0,05 мл 2,5% раствора каррагинана в заднюю лапу животных. Максимальная отечность лап у мышей с каррагинановым отеком зарегистрирована через 2 ч после индукции воспаления и соответствовала увеличению диаметра плюсны животных на 1,75 мм; с 3 по 6 ч наблюдения она постепенно снижалась до показателя, равного 0,99 мм. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг на отечность лап мышей влияния не оказывал. Дозозависимость антиэкссудативного эффекта диклофенака натрия на этой модели наблюдалась ярче, чем при введении препарата крысам. Так, при применении неселективного ингибитора ЦОГ в дозе 1 мг/кг статистически значимое снижение отека лап животных зафиксировано только через 1 ч (на 31,8%) после введения флогогена, показатель площади под кривой значимо не снижался по сравнению с контрольной группой (таблица 12). Диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг статистически значимо подавлял отечность лап мышей через 1, 3, 4, 5 и 6 ч после индукции воспаления относительно показателей контрольной группы соответственно на 37,9%, 34,7%, 34,6%, 42,4% и 49,5%, площадь под кривой уменьшалась на 34,7% (таблица 12). Диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг оказывал наиболее выраженное антиэкссудативное действие: значимое снижение диаметра плюсны животных на 39,0%–60,6% по сравнению с контрольной группой зарегистрировано на протяжении всего опыта, площадь под кривой была ниже на 45,2% (таблица 12). При этом эффект комбинированного применения диклофенака натрия и ЭМГПС не отличался от эффекта диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг и статистически значимо превышал эффект препарата в дозе 1 мг/кг через 2 и 6 ч после введения раствора каррагинана соответственно на 25,9% и 54,7% (площадь под кривой при этом снизилась на 36,1%).

Таблица 12 – Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) в дозе 25 мг/кг на эффективность диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг на модели каррагинанового отека у мышей

Группа	Число мышей в группе	Изменение диаметра лапы после введения раствора каррагинана, мм:						Площадь под кривой, мм ²
		1 час	2 час	3 час	4 час	5 час	6 час	
Каррагинан + Контроль, физ. р-р	8	1,32±0,15(0,42)	1,75±0,17(0,48)	1,70±0,18(0,51)	1,36±0,15(0,42)	1,18±0,16(0,47)	0,99±0,13(0,36)	7,14±0,62 (1,74)
Каррагинан +ЭМГПС 25 мг/кг	8	1,01±0,15(0,42)	1,47±0,13(0,37)	1,53±0,11(0,32)	1,19±0,11(0,30)	1,00±0,13(0,36)	0,66±0,14(0,40)	6,02±0,49 (1,38)
Каррагинан +Диклофенак 1 мг/кг	10	0,90±0,09(0,30)*	1,35±0,09(0,28)#	1,55±0,14(0,43)	1,26±0,11(0,36)	1,10±0,12(0,37)	0,86±0,12(0,39)#	6,12±0,43 (1,36)#
Каррагинан +Диклофенак 10 мг/кг	9	0,82±0,16(0,50)*	1,32±0,12(0,37)	1,11±0,14(0,41)*	0,89±0,14(0,41)*	0,68±0,13(0,38)*	0,50±0,11(0,34)*	4,66±0,53 (1,59)*
Каррагинан +Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,72±0,05(0,17)*	1,00±0,08(0,24)*	0,93±0,07(0,22)*	0,83±0,09(0,29)*	0,59±0,11(0,36)*	0,39±0,11(0,32)*	3,91±0,30 (0,95)*
Каррагинан +Эторикоксиб 1 мг/кг	9	0,59±0,10(0,29)*	1,37±0,08(0,23)#	1,40±0,14(0,43)#	0,99±0,14(0,41)	0,81±0,12(0,36)	0,62±0,12(0,36)*	5,17±0,45 (1,35)*#
Каррагинан +Эторикоксиб 10 мг/кг	9	0,99±0,13(0,38)#	1,30±0,11(0,34)#*	1,25±0,15(0,45)	1,01±0,13(0,40)	0,83±0,09(0,27)	0,55±0,10(0,29)*	5,17±0,45 (1,34)*#
Каррагинан +Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	0,59±0,08(0,25)	0,90±0,08(0,26)	1,01±0,10(0,33)	0,82±0,09(0,28)	0,70±0,09(0,27)	0,44±0,06(0,19)	3,94±0,38 (1,19)*
<p>Примечания</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение). 2. физ.р-р – физиологический раствор. 3. *- p≤0,05 по сравнению с контрольной группой, критерий Даннета. 4. # – p≤0,05 по сравнению с соответствующей комбинацией НПВС и ЭМГПС, критерий Даннета. 								

Эторикоксиб на модели каррагинанового отека у мышей, как и на модели каррагинанового отека у крыс, в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг вызывал сопоставимое антиэкссудативное действие, о чем свидетельствуют равные значения площадей под кривой для этих групп. При этом противовоспалительный эффект препарата в этих дозах был не таким значительным, как при применении диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг. По сравнению с контрольной группой при применении эторикоксиба в дозе 10 мг/кг статистически значимое снижение отека наблюдали только через 2 и 6 ч после введения флогогена соответственно на 25,7% и 44,4%, в дозе 1 мг/кг – через 1 и 6 ч соответственно на 55,3% и 37,4%, площадь под кривой была ниже на 27,6% (таблица 12). ЭМГПС (25 мг/кг) усиливал антиэкссудативное действие эторикоксиба (1 мг/кг) на модели каррагинанового отека у мышей: площадь под кривой при комбинированном применении препаратов была ниже показателя групп, которым вводили только селективный ингибитор ЦОГ-2 в обеих изучаемых дозах, на 23,8% (таблица 12). Отек лап мышей, которым вводили эторикоксиб с ЭМГПС, был статистически значимо менее выраженным по сравнению с группой животных, которым вводили эторикоксиб в дозе 1 мг/кг (через 2 ч – на 34,3%, через 3 ч – на 27,9%) и в дозе 10 мг/кг (через 1 ч – на 40,4%, через 2 ч – на 25,0%).

Таким образом, на модели каррагинанового отека у крыс и мышей установлено, что ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг не оказывает противовоспалительного действия, но усиливает антиэкссудативное действие неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия и селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба при их однократном пероральном введении в дозе 1 мг/кг.

Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината в дозе 100 мг/кг на эффективность диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг на модели каррагинанового отека у крыс

Влияние ЭМГПС в дозе 100 мг/кг на антиэкссудативный эффект диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг оценивали при однократном и курсовом превентивном введении препаратов на модели каррагинанового отека у крыс.

Оценка влияния ЭМГПС в дозе 100 мг/кг на антиэкссудативный эффект диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг при однократном внутрибрюшинном введении. У крыс с каррагинановым отеком задней лапы, которым внутрибрюшинно вводили физиологический раствор (контрольная группа), отечность нарастала в течение 2 ч после введения раствора каррагинана, далее не менялась к 3 ч и снижалась к 4 ч эксперимента. Динамика нарастания отека у крыс, которым внутрибрюшинно вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг, была

подобной. Отечность лап крыс, получавших НПВС в дозе 5 мг/кг, со 2 по 3 ч после введения раствора каррагинана и площадь под кривой изменения диаметра лап была несколько ниже, чем у животных контрольной группы, однако различия между этими группами не достигали уровня статистической значимости $p < 0,05$ (таблица 13). Повышение дозы диклофенака натрия до 10 мг/кг приводило к усилению его противовоспалительного действия. По сравнению с контрольной группой значимое снижение отека поврежденной лапы у крыс, которым препарат вводили в дозе 10 мг/кг, наблюдали через 3 и 4 ч после введения флогогена. Оно составляло соответственно 39,1% и 41,2%. Площадь под кривой изменения диаметра лап крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг, была значимо на 30,6% ниже, чем в контрольной группе. Кроме того, через 4 ч после введения раствора каррагинана отмечали статистически значимую разницу между группами животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг: в дозе 10 мг/кг препарат был эффективнее на 33,3% (таблица 13).

Диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг проявлял максимально выраженное антиэкссудативное действие. При введении диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг значимое снижение отечности лап крыс наблюдали на 2, 3 и 4 ч после введения раствора каррагинана по сравнению с контрольной группой, составившее, соответственно, 47,8%, 56,5% и 47,1% по сравнению с контрольной группой. Площадь под кривой изменения диаметра лап крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг и ЭМГПС в дозе 100 мг/кг, была значимо на 48,4% ниже, чем в контрольной группе. Диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг при введении в сочетании с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг был эффективнее диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг, о чем свидетельствовало более выраженное уменьшение отека лап крыс на 2 и 3 ч опыта по сравнению с группой, получавшей только диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг, соответственно, на 36,8% и 47,4% ($p < 0,05$). По эффективности диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг не уступал диклофенаку натрия в дозе 10 мг/кг (таблица 13).

Таблица 13 – Влияние диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг и его комбинированного применения в дозе 5 мг/кг с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) в дозе 100 мг/кг при однократном внутривнутрибрюшинном введении на каррагинановый отек задней лапы крыс

Группа	Число крыс в группе	Изменение диаметра лапы после введения раствора каррагинана, мм				Площадь под кривой, мм ²
		1 час	2 часа	3 часа	4 часа	
Каррагинан + Контроль, физ. р-р	8	1,3 (1,1;2,0)	2,3±0,2 (0,6)	2,3±0,2 (0,6)	1,7±0,2 (0,5)	6,2±0,4 (1,2)
Каррагинан + Диклофенак 5 мг/кг	9	1,4 (1,0;2,1)	1,9±0,2 (0,7)	1,9±0,2 (0,7)	1,5±0,2 (0,7)	5,3±0,6 (1,8)
Каррагинан + Диклофенак 10 мг/кг	8	1,4 (1,2;1,5)	1,7±0,2 (0,7)	1,4±0,2 (0,5)*	1,0±0,1(0,2)* #	4,3±0,3 (1,0)*
Каррагинан + Диклофенак 5 мг/кг + ЭМГПС 100 мг/кг	9	1,1 (0,9;1,2)	1,2±0,2 (0,6)*#	1,0±0,1 (0,4)*#	0,9±0,2 (0,6)*	3,2±0,4 (1,1)* #
Примечания						
1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение) при применении параметрических методов анализа; в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей при применении непараметрических методов анализа; физ. р-р – физиологический раствор.						
2. * - p<0,05 по сравнению с группой «Контроль», критерий Ньюмена-Кейлса.						
3. # - p<0,05 по сравнению с группой «Диклофенак 5 мг/кг ввб», критерий Ньюмена-Кейлса.						

Таким образом, диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг при однократном внутривнутрибрюшинном введении оказывает сопоставимое с диклофенаком натрия в дозе 10 мг/кг антиэкссудативное действие на модели каррагинанового отека лапы у крыс и более эффективен, чем диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг.

Оценка влияния ЭМГПС в дозе 100 мг/кг на антиэкссудативный эффект диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг при превентивном десятидневном пероральном введении. Воспалительная реакция, вызванная введением 1% раствора каррагинана в заднюю лапу, у животных контрольной группы, которым вводили растворитель – физиологический раствор, характеризовалась нарастанием отека лапы в течение 3 ч после введения флогогена, снижаясь к 4 ч наблюдения. Согласно статистическому анализу данных с использованием методов множественных сравнений изучаемые препараты значительно не снижали выраженность экссудативной реакции у животных. Вместе с тем, если при введении диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг не выявлено его значимого влияния на экссудацию и при сравнении с контрольной группой с помощью критерия Манна-Уитни или t-критерия Стьюдента (в зависимости от распределения в выборках и соблюдения равенства дисперсий), то при введении этого НПВС в дозе 10 мг/кг или при его введении в дозе 5 мг/кг в сочетании с ЭМГПС зарегистрированы значимые различия при сравнении с контрольной группой. Так, диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг снижал отек лапы у крыс на 47,1%, 52,2% и 37,9% соответственно через 1, 2 и 3 ч после индукции воспаления при уменьшении площади под кривой на 39,9%. ЭМГПС в дозе 100 мг/кг

в сочетании с диклофенаком натрия в дозе 5 мг/кг усиливал эффект НПВС. По сравнению с контрольной группой (критерий Манна-Уитни) комбинация этих препаратов значимо подавляла экссудацию через 1 и 2 ч после введения флогогена на 58,8% и 47,8% при уменьшении площади под кривой на 26,5% (таблица 14). Однако усиление антиэкссудативного эффекта, наблюдаемое после десятидневного перорального введения НПВС в дозе 5 мг/кг с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг, было менее выраженным, чем после однократного внутрибрюшинного комбинированного введения препаратов в этих дозах (таблица 13). Эффект комбинированного применения диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг и ЭМГПС в дозе 100 мг/кг (однократно, внутрибрюшинно) был значимо выше (через 3 и 4 часа после введения флогогена) эффекта диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг (однократно, внутрибрюшинно) (таблица 14). Примечательно, что у ЭМГПС при ежедневном десятидневном пероральном введении в дозе 100 мг/кг выявлена способность усиливать экссудативную реакцию крыс через 4 ч после введения раствора каррагинана (таблица 14).

При этом ежедневное пероральное введение диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг приводило к снижению массы тела крыс и к их гибели. Прирост массы тела животных этой группы был отрицательным на протяжении всего опыта: на 4 сутки введения препарата медиана изменения массы тела относительно ее значения до 1 введения диклофенака натрия составляла – (минус) 2,5 г; на 10 сутки введения масса тела крыс снизилась на 50 г по сравнению со значением в 1 сутки опыта. На протяжении 10 дней введения диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг зарегистрирована гибель 4 из 10 животных в группе, в других группах гибели не было (таблица 15).

ЭМГПС в дозе 100 мг/кг, диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг и их комбинация значимо не влияли на набор массы тела крысами по сравнению с контрольной группой на 4 сутки их введения, однако на 10 сутки зарегистрирован сниженный прирост массы тела у крыс, которым вводили НПВС с ЭМГПС. По сравнению с 1 днем регистрации масса тела животных этой группы уменьшилась на 6 г (таблица 15).

Таблица 14 – Влияние диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг и его комбинированного применения в дозе 5 мг/кг с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) в дозе 100 мг/кг при 10-дневном превентивном пероральном введении на каррагинановый отек задней лапы крыс

Группа	Число крыс в группе	Изменение диаметра лапы после введения раствора каррагинана, мм:				Площадь под кривой, мм ²
		1 час	2 час	3 час	4 час	
Каррагинан + Контроль, физ. р-р	10	0,85 (0,65; 1,05)	1,15 (0,95; 1,35)	1,40±0,12 (0,35)	1,29±0,15 (0,42)	3,58 (3,25; 3,93)
Каррагинан + ЭМГПС 100 мг/кг	10	0,70 (0,60; 0,80)	1,55 (1,10; 1,90)	1,72±0,13 (0,42)	1,74±0,16 (0,50)**	4,50 (3,20; 5,55)
Каррагинан + Диклофенак 5 мг/кг	10	0,60 (0,10; 1,00)	1,00 (0,70; 1,60)	1,17±0,19 (0,60)	1,20±0,15 (0,49)#	3,25 (1,55; 4,30)
Каррагинан + Диклофенак 10 мг/кг	6	0,45 (0,20; 0,50)*	0,55 (0,30; 0,90)*#	0,87±0,16 (0,39)*#	0,97±0,08 (0,20)#	2,15 (1,75; 2,60)*#
Каррагинан + Диклофенак 5 мг/кг + ЭМГПС 100 мг/кг	10	0,35 (0,30; 0,60)*	0,60 (0,50; 0,90)*#	1,28±0,17 (0,53)	1,10±0,11 (0,36)#	2,63 (2,00; 3,05)*
<p>Примечания</p> <p>1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение) при применении параметрических методов анализа; в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей при применении непараметрических методов анализа; физ. р-р – физиологический раствор.</p> <p>2. * - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, критерий Манна-Уитни или t-критерий Стьюдента в случае соответственно отсутствия нормального распределения данных в выборках и/или соблюдения межгруппового равенства дисперсий или наличия нормального распределения данных в выборках и соблюдения межгруппового равенства дисперсий.</p> <p>3. ** - p<0,05 по сравнению с контрольной группой, критерий Ньюмена-Кейлса.</p> <p>4. # - p<0,05 по сравнению с группой «Каррагинан + ЭМГПС 100 мг/кг», критерий Краскела-Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна или критерий Ньюмена-Кейлса в случае соответственно отсутствия нормального распределения данных в выборках и/или соблюдения межгруппового равенства дисперсий или наличия нормального распределения данных в выборках и соблюдения межгруппового равенства дисперсий.</p>						

Примечательно, что вскрытие выведенных из эксперимента по его завершении и погибших крыс не выявило видимых язвенных дефектов ЖКТ у животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг. У крыс этой группы наблюдались истончение стенок кишечника, вздутие желудка и кишечника, заброс желчи в желудок, и остатки пищи в ЖКТ практически отсутствовали – симптомы развившегося при введении НПВС воспаления ЖКТ. НПВС-ассоциированная энтеропатия, приводящая к хроническому воспалению кишечника, является частым побочным эффектом НПВС; повреждение тощей и подвздошной кишки при НПВС-ассоциированной энтеропатии сопровождается малозаметной кровопотерей, которая является причиной железодефицитной анемии [260].

Таблица 15 – Влияние диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг и его комбинированного применения в дозе 5 мг/кг с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) в дозе 100 мг/кг при 10-дневном превентивном пероральном введении на массу тела крыс

Группа	Число крыс на 10/1 день опыта	Масса до введения препаратов, г	Изменение массы тела относительно значений в 1 день введения препаратов (до их введения), г	
			4 день	10 день
Контроль, физ. р-р	10/10	256,1±5,1 (16,1)	20,5 (18,0; 32,0)	27,0 (18,0; 32,0)
ЭМГПС 100 мг/кг	10/10	254,2±3,6 (11,5)	24,5 (20,0; 35,0)#	24,0 (11,0; 52,0)#
Диклофенак 5 мг/кг	10/10	256,7±2,9 (9,2)	21,0 (17,0; 25,0)#	7,0 (-19,0; 13,0)
Диклофенак 10 мг/кг	6/10	253,9±4,4 (14,0)	-2,5 (-11,0; 1,0)*	-50,0 (-66,0; -22,0)*
Диклофенак 5 мг/кг + ЭМГПС 100 мг/кг	10/10	253,5±3,5 (11,9)	11,0 (6,0; 14,0)	-6,0 (-9,0; 1,0)*
<p>Примечания</p> <p>1. Данные представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего (стандартное отклонение) при применении параметрических методов анализа; в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей при применении непараметрических методов анализа; физ. р-р – физиологический раствор.</p> <p>2. * - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Краскела-Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна.</p> <p>3. # - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Диклофенак 10 мг/кг», критерий Краскела-Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна.</p>				

Таким образом, ЭМГПС при превентивном десятидневном пероральном введении в дозе 100 мг/кг не оказывает антиэкссудативного действия на модели каррагинанового отека у крыс, но усиливает эффект диклофенака натрия при превентивном десятидневном пероральном введении. При превентивном десятидневном пероральном введении ЭМГПС в дозе 100 мг/кг с диклофенаком натрия в дозе 5 мг/кг усиление противовоспалительного эффекта НПВС не превышает эффект однократного внутрибрюшинного сочетанного введения этих препаратов в тех же дозах. Введение ЭМГПС в дозе 100 мг/кг в течение 10 дней приводит к усилению выраженности вызванного каррагинаном экссудативного воспаления у крыс и в сочетании с диклофенаком натрия в дозе 5 мг/кг – к снижению прироста массы тела животных. Это явилось основанием для использования ЭМГПС в меньшей дозе при комбинированном применении с НПВС.

3.2.2 Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при курсовом пероральном введении на модели коллагенового артрита у мышей

Коллагеновый артрит моделировали у мышей BALB/c по протоколу, описанному у Augello A. и соавторов [9]. У животных с этой моделью развивается аутоиммунный процесс с

нарастающим экссудативным воспалением на начальных этапах его формирования, на которое воздействуют НПВС. Первую иммунизацию мышей проводили, вводя мышам BALB/c внутрикожно в основание хвоста 100 мкг бычьего коллагена II типа, эмульгированного с ПАФ в объеме 50 мкл. Повторную иммунизацию осуществляли на 21 сутки после проведения первой таким же способом. Перед повторной иммунизацией животных с интрадермально введенным бычьим коллагеном II типа с ПАФ рандомизировали на группы по наличию симптома развивающейся отечности лап и массе тела. Были сформированы следующие группы: 1. Контроль – мыши, которым в дни иммунизации внутрикожно в основание хвоста вводили физиологический раствор в объеме 50 мкл и которым ежедневно перорально вводили физиологический раствор с 21 суток опыта, n=10. 2. Коллагеновый артрит – мыши, которым интрадермально вводили коллаген и с 21 суток – ежедневно перорально физиологический раствор, n=7. 3. ЭМГПС 25 мг/кг – мыши, которым интрадермально вводили коллаген и с 21 суток – ежедневно перорально ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, n=7. 4. Диклофенак 1 мг/кг – мыши, которым интрадермально вводили коллаген и с 21 суток – ежедневно перорально диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг, n=7. 5. Эторикоксиб 1 мг/кг – мыши, которым интрадермально вводили коллаген и с 21 суток – ежедневно перорально эторикоксиб в дозе 1 мг/кг, n=7. 6. Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг – мыши, которым интрадермально вводили коллаген и с 21 суток – ежедневно перорально диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг и ЭМГПС 25 мг/кг, n=8. 7. Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг – мыши, которым интрадермально вводили коллаген и с 21 суток – ежедневно эторикоксиб в дозе 1 мг/кг и ЭМГПС 25 мг/кг, n=7.

На 42 сутки после 1 инъекции бычьего коллагена II типа мыши BALB/c с коллагеновым артритом были подвергнуты эвтаназии, и была получена их сыворотка крови для проведения ее биохимического исследования. Биохимическое исследование сыворотки крови мышей выполнено совместно с сотрудником отдела нейрпсихофармакологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» д.б.н., проф. Золотовым Н.Н. и включало оценку следующих показателей: концентрации МДА как маркера ПОЛ и активности ферментов антиоксидантной защиты каталазы и глутатионпероксидазы. Кроме того, было оценено влияние диклофенака натрия, эторикоксиба, ЭМГПС, НПВС с ЭМГПС при их ежедневном пероральном введении в течение 21 суток на эти параметры в сыворотке крови мышей BALB/c без коллагенового артрита, а также измерен уровень маркера распада коллагена оксипролина в сыворотке крови животных с коллагеновым артритом.

Установлено, что на 21 сутки после первой инъекции бычьего коллагена II типа, эмульгированного с ПАФ, только у отдельных мышей BALB/c наблюдали покраснение и отек одного сустава пальца на одной из задних конечностей. Эти мыши были равномерно

распределены по группам перед второй инъекцией бычьего коллагена II типа. Спустя 3 суток после второй инъекции бычьего коллагена II типа в группе мышей «Коллагеновый артрит» зарегистрировано нарастание клинических проявлений: за исключением одного животного, у остальных были как минимум покраснение и отек 2 суставов на одной из задних лап. Отечность конечностей животных в группе «Коллагеновый артрит» продолжала увеличиваться до 14 суток после второй инъекции бычьего коллагена II типа. Тяжесть артрита в этой группе на 14 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа соответствовала 10 баллам и сохранялась на этом уровне до 17 суток, после чего отек лап спадал, и усиливалась деформация суставов. Так, на 21 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа (42 сутки опыта) в группе «Коллагеновый артрит» у 5 животных зарегистрирована выраженная деформация суставов задних лап. В качестве иллюстрации приведена фотография задней лапы мыши BALB/c с деформированным суставом (в соответствии с рисунком 13а), фотография задней лапы мыши BALB/c животного без патологии (в соответствии с рисунком 13б).

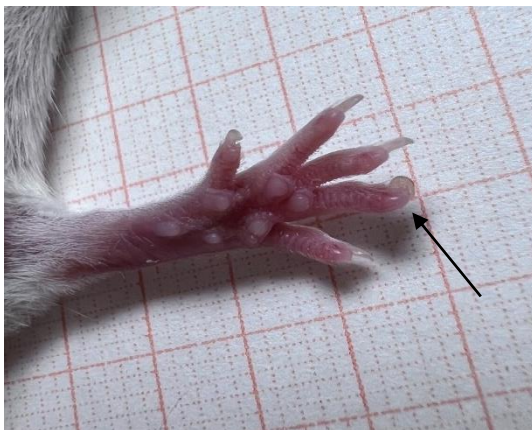


Рисунок 13а – Фотография задней лапы мыши BALB/c с деформацией сустава пальца



Рисунок 13б – Фотография задней лапы мыши BALB/c группы без патологии

Введение мышам BALB/c эторикоксиба в дозе 1 мг/кг или ЭМГПС в дозе 25 мг/кг в течение 3 суток после второй инъекции бычьего коллагена II типа задерживало манифестацию симптомов артрита, о чем свидетельствовало значимое снижение их выраженности (до 0 баллов) по сравнению с группой «Коллагеновый артрит». При последующей регистрации симптомов тяжести артрита у мышей BALB/c, которым вводили эторикоксиб или ЭМГПС, их значимого уменьшения по сравнению с группой «Коллагеновый артрит» зафиксировано не было. Клиническая оценка тяжести артрита не выявила ее значимого снижения у животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг, на протяжении всего периода регистрации. При комбинированном применении диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг и ЭМГПС в дозе 25

мг/кг у мышей BALB/c было зафиксировано значимое снижение тяжести симптомов артрита на 3 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа. Эффективность комбинированного применения эторикоксиба и ЭМГПС была более выраженной: эторикоксиб с ЭМГПС значимо снижал тяжесть коллагенового артрита у мышей BALB/c с 3 по 17 сутки после 2 инъекции бычьего коллагена II типа (таблица 16).

При измерении отека задних лап мышей в области плюсны установлено, что на 21 сутки опыта (перед второй инъекцией бычьего коллагена II типа) не выявлено разницы между группами животных с интрадермально введенным бычьим коллагеном II типа и группой мышей без экспериментальной патологии. Через 7 суток после второй инъекции бычьего коллагена II типа в группе мышей «Коллагеновый артрит» зарегистрировано значимое увеличение толщины задних лап в области плюсны: отек плюсны левой задней лапы соответствовал увеличению ее толщины на 20,9%, правой – на 26,0% по сравнению с соответствующими значениями в контрольной группе животных. С 14 суток после второй инъекции бычьего коллагена II типа отек задних лап в области плюсны спадал. Так, в группе мышей «Коллагеновый артрит» значимые различия по сравнению с группой животных без патологии зарегистрированы на 14 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа и соответствовали снижению отека левой плюсны на 15,8%, правой плюсны – на 11,9%. На 21 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа значимых различий в толщине задних лап в области плюсны между группами «Коллагеновый артрит» и «Контроль, мыши без патологии» не выявлено (таблица 17).

На 7 сутки введения препаратов значимой разницы в диаметре плюсны между группами мышей с коллагеновым артритом, которым вводили только НПВС или ЭМГПС, и группой мышей без коллагенового артрита, выявлено не было. Однако значимое снижение отека плюсны мышей с коллагеновым артритом зарегистрировано при введении животным только диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг: препарат снижал отек правой плюсны мышей на 18,7% по сравнению с группой «Коллагеновый артрит» (таблица 17). Диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при ежедневном пероральном введении в течение 7 суток значимо подавлял экссудативное воспаление у мышей BALB/c с коллагеновым артритом. В группе мышей, которым вводили диклофенак натрия и ЭМГПС, отек левой плюсны снизился на 12,4%, правой – на 15,3%; в группе животных, которым вводили эторикоксиб с ЭМГПС, отек левой плюсны уменьшился на 12,0%, правой – на 14,1% (таблица 17). На 14 и 21 сутки ежедневного перорального введения препаратов их значимого влияния на диаметр плюсны животных выявлено не было (таблица 17).

Таблица 16 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на тяжесть артрита у мышей BALB/c с коллагеновым артритом, медиана (Q1; Q3)

Группа	Число мышей	Сутки после 2 инъекции бычьего коллагена II типа				
		3	7	10	14	17
Коллагеновый артрит	7	4,0 (2,0; 6,5)	8,0 (6,0; 10,0)	8,0 (3,0; 12,0)	10,0 (10,0; 12,0)	10,0 (6,0; 10,0)
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,0 (0,0; 0,5)*	6,0 (1,0; 7,0)	4,5 (2,0; 8,0)	10,0 (8,0; 12,0)	8,0 (8,0; 10,0)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг	7	3,0 (0,0; 4,0)	4,0 (4,0; 6,0)	4,0 (2,0; 6,0)	10,0 (6,0; 10,0)	7,0 (4,0; 8,0)
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг	7	0,0 (0,0; 2,0)*	6,0 (6,0; 10,0)	6,0 (4,0; 9,0)	8,0 (8,0; 12,0)	6,0 (4,0; 14,0)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	0,3 (0,0; 1,5)*	6,5 (2,0; 8,0)	4,0 (1,5; 7,5)	10,0 (10,0; 12,0)	7,0 (4,0; 11,0)
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,0 (0,0; 0,0)*	3,0 (2,0; 6,0)*	0,0 (0,0; 2,0)*	8,0 (8,0; 10,0)*	2,0 (2,0; 6,0)*
<p>Примечания</p> <ol style="list-style-type: none"> Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. *-$p \leq 0,05$ по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Манна-Уитни с поправкой Беньямини-Хохберга. Клиническую оценку тяжести артрита проводили визуально по шкале, описанной Yang P. и соавторами [228]: 0 – отсутствие видимых изменений; 0,5 – покраснение и отек одного сустава пальца; 1 – покраснение и легкий отек подушечки стопы, скакательных суставов или 2-5 пальцев; 2 – покраснение и отек 2 суставов; 3 – покраснение и отек лапы полностью; 4 – сниженная отечность и деформации суставов. Для каждого животного подсчитывали сумму баллов, зарегистрированных для всех лап по отдельности. 						

У мышей BALB/c с коллагеновым артритом на протяжении всего периода наблюдения фиксировали гипералгезию в тесте фон Фрея, причем в группе «Коллагеновый артрит» ее выраженность с 7 по 21 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа не снижалась. Диклофенак натрия, эторикоксиб или ЭМГПС не оказывали значимого влияния на болевую чувствительность животных в тесте фон Фрея. Однако применение диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг приводило к значимому повышению порога болевой чувствительности животных на 7 сутки его регистрации, более выраженному при введении неселективного ингибитора ЦОГ с ЭМГПС. На 14 и 21 сутки регистрации гипералгезии ЭМГПС с диклофенаком натрия или эторикоксибом значимого влияния на болевую чувствительность животных в тесте фон Фрея не оказывал (таблица 18).

Кроме того, о нарушении функции суставов у мышей BALB/c с коллагеновым артритом судили, оценивая выраженность моторного дефицита в тесте «Вращающийся стержень» на 7, 14 и 21 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа. Хотя различия между

группами не достигали уровня значимости $p < 0,05$ при статистическом анализе данных методами множественных сравнений, при парном сравнении групп с помощью критерия Манна-Уитни выявлено значимое уменьшение в 3 раза латентного периода (ЛП) падения животных группы «Коллагеновый артрит» с барабана установки по сравнению с контрольной группой мышей без патологии. В группах мышей, которым вводили НПВС в дозе 1 мг/кг, ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, НПВС в дозе 1 мг/кг ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, ЛП падения мышей с коллагеновым артритом с барабана установки значимо не отличался от этого параметра в группе мышей BALB/c без патологии. При этом значимое увеличение этого параметра по сравнению с группой «Коллагеновый артрит» зарегистрировано только при введении эторикоксиба с ЭМГПС, который восстанавливал координацию движений мышей с коллагеновым артритом практически до уровня животных без патологии (таблица 19).

Таблица 17 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на отек плюсны мышей BALB/c с коллагеновым артритом

Группа	Число мышей в группе	Диаметр задних конечностей, мм							
		Фоновые показатели – через 3 недели после 1 инъекции коллагена		Сутки после 2 инъекции коллагена					
				7 суток		14 суток		21 сутки	
		левая лапа	правая лапа	левая лапа	правая лапа	левая лапа	правая лапа	левая лапа	правая лапа
Контроль, мыши без патологии	10	2,17±0,04 (0,11)	2,13±0,05 (0,15)	2,20±0,04 (0,10)	2,08±0,07 (0,21)	2,09±0,07 (0,23)	2,01±0,08 (0,26)	2,23±0,07 (0,17)	2,11±0,05 (0,16)
Коллагеновый артрит	7	2,27±0,09 (0,23)	2,25±0,09 (0,23)	2,66±0,12 (0,29)*	2,62±0,08 (0,22)*	2,42±0,06 (0,16)*	2,25±0,07 (0,18)*	2,42±0,08 (0,21)	2,21±0,04 (0,09)
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	2,22±0,03 (0,08)	2,12±0,02 (0,06)	2,32±0,06 (0,16)	2,37±0,15 (0,39)	2,37±0,07 (0,18)	2,28±0,07 (0,19)	2,46±0,09 (0,23)	2,16±0,06 (0,15)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг	7	2,16±0,07 (0,17)	2,14±0,09 (0,24)	2,31±0,08 (0,21)	2,13±0,11 (0,28)#	2,41±0,09 (0,24)	2,34±0,14 (0,36)	2,31±0,09 (0,23)	2,22±0,09 (0,24)
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг	7	2,28±0,05 (0,13)	2,22±0,07 (0,19)	2,31±0,12 (0,32)	2,37±0,04 (0,11)	2,32±0,07 (0,18)*	2,40±0,07 (0,19)*	2,38±0,07 (0,19)	2,33±0,08 (0,20)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	2,22±0,03 (0,10)	2,16±0,07 (0,19)	2,33±0,11 (0,30)#	2,22±0,10 (0,27)#	2,48±0,10 (0,28)	2,36±0,07 (0,20)	2,40±0,10 (0,27)	2,24±0,06 (0,17)
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	2,19±0,05 (0,14)	2,15±0,04 (0,12)	2,34±0,09 (0,24)#	2,25±0,07 (0,18)#	2,36±0,09 (0,24)	2,29±0,05 (0,13)	2,28±0,05 (0,14)	2,24±0,05 (0,12)
Примечания									
1. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего (стандартное отклонение).									
2. *-p<0,05 по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», критерий Ньюмана-Кейлса.									
3. #-p<0,05 по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Ньюмана-Кейлса.									

Таблица 18 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на порог болевой реакции мышц BALB/c с коллагеновым артритом в тесте фон Фрея

Группа	Число мышей в группе	Порог болевой чувствительности, г					
		7 суток		14 суток		21 сутки	
		левая лапа	правая лапа	левая лапа	правая лапа	левая лапа	правая лапа
Контроль, мышцы без патологии	10	2,00 (2,00; 6,00)	2,00 (2,00; 6,00)	4,00 (1,40; 4,00)	4,00 (1,40; 4,00)	3,00 (1,00; 5,00)	3,00 (1,00; 5,00)
Коллагеновый артрит	7	0,40 (0,16; 1,00)*	0,40 (0,16; 1,00)*	0,40 (0,16; 0,60)*	0,40 (0,16; 0,60)*	0,16 (0,16; 0,40)*	0,16 (0,16; 1,00)*
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,40 (0,16; 1,00)*	0,40 (0,16; 1,00)*	0,40 (0,16; 1,00)*	0,40 (0,16; 1,00)*	0,40 (0,40; 1,00)*	0,40 (0,40; 1,00)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг	7	0,40 (0,16; 1,00)*	0,40 (0,16; 1,40)*	0,40 (0,16; 0,60)*	0,40 (0,10; 0,40)*	0,16 (0,07; 1,00)*	0,16 (0,07; 1,00)*
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг	7	0,60 (0,40; 1,00)*	0,40 (0,16; 1,00)*	1,00 (0,60; 1,00)*	1,00 (0,40; 1,40)*	0,60 (0,07; 1,40)*	0,60 (0,07; 1,40)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	3,00 (1,20; 6,00)#	3,00 (1,20; 6,00)#	0,80 (0,40; 3,00)*	0,80 (0,50; 1,70)*	1,00 (0,40; 1,40)	1,00 (0,50; 1,40)
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	1,00 (1,00; 1,00)*	1,00 (1,00; 1,00)*#	0,16 (0,16; 0,40)*	0,40 (0,16; 0,40)*	0,16 (0,16; 0,40)*	0,40 (0,16; 0,40)*
Примечания							
1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.							
2. *- $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль, мышцы без патологии», критерий Манна-Уитни с поправкой Беньямини-Хохберга.							
3. #- $p \leq 0,04$ по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Манна-Уитни с поправкой Беньямини-Хохберга.							

Через 14 суток после второй инъекции бычьего коллагена II типа у мышей группы «Коллагеновый артрит» координация движений восстанавливалась до показателя животных без патологии, сохраняясь на этом уровне до 21 суток наблюдения. Введение ЭМГПС и НПВС с ЭМГПС в течение 14 суток не влияло на координацию движений животных: ЛП падения с барабана установки в группах, которым вводили эти препараты, значимо не отличался от группы животных без патологии и группы «Коллагеновый артрит». Диклофенак натрия и эторикокиб в дозе 1 мг/кг при двухнедельном пероральном введении мышам BALB/c с коллагеновым артритом снижали координацию движений, что проявлялось в значимом уменьшении ЛП падения животных с барабана установки соответственно в 2,3 и 2,7 раза по сравнению с группой животных без патологии. На 21 сутки после второй инъекции бычьего коллагена II типа координация животных восстановилась во всех группах мышей с коллагеновым артритом (таблица 19).

Таблица 19 – Латентный период падения мышей BALB/c с коллагеновым артритом с установки «Вращающийся стержень»

Группа	Число мышей в группе	Латентный период, с		
		7 суток	14 суток	21 сутки
Контроль, мыши без патологии	10	180,0 (117,0; 180,0)	180,0 (180,0; 180,0)	180,0 (180,0; 180,0)
Коллагеновый артрит	7	60,0 (53,0; 129,0)*	180,0 (34,0; 180,0)	180,0 (92,0; 180,0)
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	180,0 (70,0; 180,0)	180,0 (49,0; 180,0)	180,0 (75,0; 180,0)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг	7	67,0 (37,0; 180,0)	77,0 (51,0; 180,0)*	180,0 (146,0; 180,0)
Артрит + Эторикокиб 1 мг/кг	7	127,0 (47,0; 180,0)	66,0 (25,0; 180,0)*	180,0 (55,0; 180,0)
Артрит + Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	81,0 (41,0; 180,0)	180,0 (180,0; 180,0)	180,0 (72,0; 180,0)
Артрит + Эторикокиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	177,0 (134,0; 180,0)#	180,0 (180,0; 180,0)	180,0 (89,0; 180,0)
Примечания 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. 2. *-p<0,05 по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», критерий Манна-Уитни. 3. #-p<0,05 по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Манна-Уитни. 4. Режим работы установки «Вращающийся стержень» – скорость вращения – 10 оборотов/мин, без ускорения				

Результаты биохимического исследования сыворотки крови мышей BALB/c свидетельствуют о том, что у животных с коллагеновым артритом по сравнению с группой мышей без патологии значимо на 25,5% снижена концентрация МДА. Зарегистрированное

снижение уровня этого продукта ПОЛ на 42 сутки развития хронического воспалительного процесса может быть обусловлено его участием в реакциях образования оснований Шиффа. Эторикоксиб *per se* и эторикоксиб или диклофенак натрия в сочетании с ЭМГПС при ежедневном пероральном введении мышам BALB/c с моделью артрита, вызванного бычьим коллагеном II типа, значимо повышали концентрацию МДА соответственно на 35,2%, 37,2% и 42,7% по сравнению с группой мышей «Коллагеновый артрит». Диклофенак и ЭМГПС не вызывали изменений концентрации МДА по сравнению с группой мышей «Коллагеновый артрит» (таблица 20).

Таблица 20 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на концентрацию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом

Группа	Число мышей в группе	Концентрация МДА, ммоль/л	Повышение концентрации МДА по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», %
Контроль, мышцы без патологии	10	0,300 (0,271; 0,320)	25,5
Коллагеновый артрит	7	0,239 (0,233; 0,252)*	-
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,289 (0,267; 0,345)	20,9
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг	7	0,281 (0,254; 0,286)	17,6
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг	7	0,323 (0,291; 0,433)#	35,2
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	0,328 (0,300; 0,349)#	37,2
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,341 (0,285; 0,380)#	42,7
Примечания 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. 2. * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль, мышцы без патологии», критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. 3. # - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.			

ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, диклофенак натрия, эторикоксиб в дозе 1 мг/кг и НПВС в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при ежедневном пероральном введении в течение 21 суток не вызывали значимого изменения концентрации МДА в сыворотке крови мышей без патологии. Однако эторикоксиб повышал концентрацию МДА в сыворотке крови мышей на уровне тенденции, составившей 16,7% ($p = 0,056$, критерий Даннета, таблица 21).

Таблица 21 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на концентрацию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови мышей BALB/c

Группа	Число мышей в группе	Концентрация МДА, ммоль/л	Повышение концентрации МДА по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», %
Контроль, мыши без патологии	10	0,293±0,010 (0,033)	-
ЭМГПС 25 мг/кг	9	0,324±0,017 (0,051)	10,6
Диклофенак натрия 1 мг/кг	8	0,315±0,020 (0,056)	7,5
Эторикоксиб 1 мг/кг	9	0,342±0,008 (0,025)*	16,7
Диклофенак натрия 1 мг/кг+ ЭМГПС 25 мг/кг	9	0,316±0,016 (0,049)	7,9
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	9	0,312±0,013 (0,040)	6,5
Примечание – Данные представлены как среднее ± ошибка среднего (стандартное отклонение).			

На 42 сутки развития патологического процесса у мышей BALB/c с коллагеновым артритом зарегистрировано значимое снижение в 1,9 раза активности каталазы по сравнению с группой животных без патологии. Курсовое введение мышам BALB/c с коллагеновым артритом ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, диклофенака натрия, эторикоксиба в дозе 1 мг/кг и НПВС в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг предупреждало изменение активности каталазы в сыворотке крови животных с коллагеновым артритом. Активность каталазы в группах мышей с коллагеновым артритом, которым вводили препараты, не отличалась от активности фермента в группе животных без патологии (таблица 22). При этом ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, НПВС в дозе 1 мг/кг и НПВС с ЭМГПС при ежедневном пероральном введении в течение 21 суток не вызывали значимого изменения активности каталазы в сыворотке крови мышей BALB/c без патологии (таблица 23).

На 42 сутки патологического процесса у мышей BALB/c с коллагеновым артритом значимых различий активности глутатионпероксидазы между группами животных с моделью артрита, которым вводили или не вводили изучаемые средства, а также с группой животных без патологии с помощью статистического анализа методами множественных сравнений выявлено не было. Вместе с тем, при статистическом анализе критерием Манна-Уитни у животных с коллагеновым артритом, которым не вводили изучаемые средства, по сравнению с мышами без патологии выявлено значимое повышение (в 2,1 раза) активности глутатионпероксидазы (таблица 24). ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, диклофенак натрия, эторикоксиб в дозе 1 мг/кг и НПВС с ЭМГПС при ежедневном пероральном введении в течение 21 суток не вызывали значимого изменения активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови мышей BALB/c без патологии (таблица 25).

Таблица 22 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на активность каталазы в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом

Группа	Число мышей в группе	Активность каталазы, ммоль/(мин*мл*см)	Повышение активности каталазы по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», %
Контроль, мыши без патологии	9	0,0554±0,0022 (0,0066)	93,7%
Коллагеновый артрит	7	0,0286±0,0057 (0,0139)*	-
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,0557±0,0030 (0,0084)#	94,8%
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг	7	0,0573±0,0031 (0,0083)#	100,3%
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг	7	0,0530±0,0028 (0,0080)#	85,3%
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	0,0573±0,0034 (0,0096)#	100,3%
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,0502±0,0029 (0,0078)#	75,5%
Примечания 1. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего (стандартное отклонение). 2. *-p<0,0005 по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», критерий Ньюмана-Кейлса. 3. #- p≤0,0005 по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Ньюмана-Кейлса.			

Таблица 23 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на активность каталазы в сыворотке крови мышей BALB/c

Группа	Число мышей в группе	Активность каталазы, ммоль/(мин*мл*см)	Повышение активности каталазы по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», %
Контроль, мыши без патологии	9	0,0554±0,0022 (0,0066)	-
ЭМГПС 25 мг/кг	9	0,0512±0,0034 (0,0102)	-7,6
Диклофенак натрия 1 мг/кг	8	0,0573±0,0051 (0,0146)	3,4
Эторикоксиб 1 мг/кг	8	0,0533±0,0032 (0,0092)	-3,8
Диклофенак натрия 1 мг/кг+ ЭМГПС 25 мг/кг	8	0,0569±0,0040 (0,0112)	2,7
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	9	0,0599±0,0029 (0,0087)	8,1
Примечание – Данные представлены как среднее ± ошибка среднего (стандартное отклонение).			

Таблица 24 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на активность глутатионпероксидазы в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом

Группа	Число мышей в группе	Активность глутатионпероксидазы, ммоль/(мин*мл*см)	Снижение активности фермента по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», %
Контроль, мыши без патологии	8	0,8514 (0,5119; 1,2017)	106,05
Коллагеновый артрит	7	0,4132 (0,3601; 0,7424)*	-
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,6848 (0,5964; 0,8300)	65,7
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг	7	0,3860 (0,0359; 0,6504)	-6,6
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг	7	0,5513 (0,3806; 0,9095)	33,4
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,5441 (0,4396; 1,0811)	31,7
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	0,5347 (0,0786; 0,6120)	29,4
Примечания			
1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.			
2. * - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», критерий Манна-Уитни.			

Таблица 25 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на активность глутатионпероксидазы в сыворотке крови мышей BALB/c

Группа	Число мышей в группе	Активность глутатионпероксидазы, ммоль/(мин*мл*см)	Снижение активности фермента по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», %
Контроль, мыши без патологии	8	0,8514 (0,5119; 1,2017)	-
ЭМГПС 25 мг/кг	8	1,1959 (0,8363; 1,5095)	40,5
Диклофенак натрия 1 мг/кг	8	1,3129 (0,9707; 1,634)	54,2
Эторикоксиб 1 мг/кг	9	1,2749 (0,7451; 1,2964)	49,7
Диклофенак натрия 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	0,9345 (0,7273; 1,3285)	9,8
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	8	1,1704 (0,8568; 1,2236)	37,5
Примечание – Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.			

В сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом значимо повышена концентрация маркера распада коллагена оксипролина на 21,1% (*- $p < 0,05$, критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони). При статистическом анализе выраженности изменений концентрации оксипролина в сыворотке крови мышей с коллагеновым артритом методом множественных сравнений выявлено, что значимое влияние на уровень оксипролина оказывали ЭМГПС в дозе 25 мг/кг и эторикоксиб в дозе 1 мг/кг. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг значимо снижал

повышенную при коллагеновом артрите концентрацию оксипролина на 25,7%, а эторикоксиб в дозе 1 мг/кг, напротив, повышал ее еще на 54,0%. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при комбинированном применении с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг не оказывал статистически значимого влияния на концентрацию оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом. При сравнении групп методом Манна-Уитни выявлено, что концентрация оксипролина в группах мышей BALB/c с коллагеновым артритом была ниже при введении им диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг *per se* или совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг ($p < 0,05$, таблица 26).

Таблица 26 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на концентрацию оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом

Группа	Число мышей в группе	Концентрация оксипролина, мкг/мл	Изменение концентрации оксипролина по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», %
Контроль, мыши без патологии	7	3,29 (2,90; 3,40)	-21,1
Коллагеновый артрит	7	4,17 (4,17; 4,40)*	-
Артрит + ЭМГПС 25 мг/кг	7	3,10 (2,82; 3,30)###	-25,7
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг	7	2,45 (2,20; 4,10)##	-41,2
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг	7	6,42 (4,49; 7,53)*##	54,0
Артрит + Диклофенак натрия 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	3,44 (2,70; 3,92)##	-17,5
Артрит + Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	7	4,95 (3,67; 5,54)	18,7
Примечания			
1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.			
2. *- $p < 0,05$ по сравнению с группой «Контроль, мыши без патологии», критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.			
3. # - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони.			
4. ## - $p < 0,05$ по сравнению с группой «Коллагеновый артрит», критерий Манна-Уитни.			
5.			

Таким образом, установлено, что у мышей BALB/c с моделью артрита, вызванного двукратной интрадермальной инъекцией бычьего коллагена II типа с интервалом в 21 сутки, отек лап нарастает с 3 по 17 сутки после 2 инъекции бычьего коллагена II типа при максимуме на 14-17 сутки, после чего более выраженными становятся деформации суставов. В сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом на 42 сутки патологического процесса зарегистрировано изменение активности ферментов антиоксидантной защиты: снижение активности каталазы при компенсаторном повышении активности глутатионпероксидазы; снижение вторичного продукта ПОЛ МДА и повышение концентрации маркера распада

коллагена оксипролина. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при ежедневном пероральном введении замедляет развитие клинических признаков артрита при введении с 21 по 24 сутки после 1 инъекции коллагена и усиливает эффект эторикоксиба и диклофенака натрия при их ежедневном пероральном введении в дозе 1 мг/кг. Усиление эффекта селективного ингибитора ЦОГ-2 проявляется в увеличении длительности значимого снижения тяжести артрита до 17 суток против 3 суток после 2 инъекции коллагена при применении только эторикоксиба; повышении выраженности его антиэкссудативного и противоболевого действия. Усиление эффекта неселективного ингибитора ЦОГ проявляется в появлении у диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг при совместном применении с ЭМГПС способности снижать тяжесть артрита на протяжении 3 суток после 2 инъекции коллагена, повышении выраженности его антиэкссудативного и противоболевого действия. ЭМГПС, диклофенак натрия, эторикоксиб и НПВС при комбинированном применении с ЭМГПС при ежедневном пероральном введении в течение 21 суток препятствуют снижению активности каталазы в сыворотке крови мышей с коллагеновым артритом. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг и их комбинация снижают повышенный уровень оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом, а эторикоксиб повышает его. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при комбинированном применении с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг не оказывает значимого влияния на уровень оксипролина у мышей BALB/c с коллагеновым артритом.

Таким образом, результаты экспериментов по оценке влияния ЭМГПС на эффективность ингибиторов циклооксигеназы при экссудативном воспалении на мышах и крысах свидетельствуют о том, что ЭМГПС при однократном и курсовом превентивном введении усиливает антиэкссудативное действие ингибиторов ЦОГ. При однократном пероральном введении этот эффект зарегистрирован при совместном введении ЭМГПС в дозе 25 мг/кг и диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг, при курсовом превентивном – при пероральном введении ЭМГПС в дозе 100 мг/кг совместно с диклофенаком натрия в дозе 5 мг/кг в течение 10 дней до моделирования каррагинанового отека у крыс. ЭМГПС при курсовом пероральном введении в дозе 25 мг/кг усиливает эффективность диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг на модели коллагенового артрита у мышей BALB/c: повышение антиэкссудативного и противоболевого эффекта ингибиторов ЦОГ зарегистрировано в течение первых 7 дней совместного применения препаратов. При этом ЭМГПС при однократном и курсовом пероральном введении в дозе 25 мг/кг и курсовом пероральном введении в дозе 100 мг/кг значимого антиэкссудативного действия не оказывает.

3.3 Безопасность комбинированного применения ингибиторов циклооксигеназы с этилметилгидроксипиридина сукцинатом в экспериментах на мышах и крысах

Третий этап работы включал эксперименты по оценке влияния ингибиторов ЦОГ и ЭМГПС при комбинированном применении на слизистую оболочку желудка крыс с моделью гастротоксичности, вызванной пероральным введением ацетилсалициловой кислоты. На этом этапе работы изучали влияние ЭМГПС, диклофенака натрия, эторикоксиба и комбинированного применения ингибиторов ЦОГ с ЭМГПС при курсовом пероральном введении на массу тела животных как параметра, характеризующего их общее состояние, АД и гематологические показатели, на которые НПВС могут оказывать негативное влияние, и на поведение животных.

3.3.1 Безопасность комбинированного применения ингибиторов циклооксигеназы с этилметилгидроксипиридина сукцинатом у крыс с моделью гастротоксичности

Влияние ЭМГПС, ингибиторов ЦОГ и их комбинированного применения оценивали на модели гастротоксичности у белых аутбредных крыс, вызванной трехдневным (один раз в день) пероральным введением ацетилсалициловой кислоты в дозе 150 мг [282]. Исследование проводили в два этапа. На первом этапе работы оценивали влияние ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, НПВС в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг и их комбинированного применения с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при однократном пероральном введении за 1 час до третьего введения ацетилсалициловой кислоты. На втором этапе работы изучали влияние трехкратного перорального (один раз в день) введения НПВС на вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность: препараты вводили за час до каждого введения ацетилсалициловой кислоты. Повреждения слизистой оболочки желудка оценивали визуально в баллах по модифицированной нами шкале [10].

Установлено, что ацетилсалициловая кислота при трехдневном пероральном введении в дозе 150 мг/кг крысам вызывает повреждения слизистой оболочки желудка, характеризующиеся точечными эрозиями и язвами размером менее 3 мм (таблица 27, 28).

На первом этапе работы установлено, что ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, селективный ингибитор ЦОГ-2 эторикоксиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг и эторикоксиб в этих дозах с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при однократном пероральном введении значимо не влияли на вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность у крыс. Диклофенак натрия при однократном пероральном введении в дозе 10 мг/кг, но не в дозе 1 мг/кг значимо усиливал выраженность вызванных ацетилсалициловой кислотой повреждений слизистой оболочки желудка. Однако комбинированное применение диклофенака натрия в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг с ЭМГПС в дозе

25 мг/кг при однократном пероральном введении не вызвало усиления вызванной ацетилсалициловой кислотой гастротоксичности (таблица 27).

Таблица 27 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) при однократном пероральном введении на выраженность вызванной трехкратным введением ацетилсалициловой кислоты (АСК) гастротоксичности у крыс

Группа	Суммарный балл, характеризующий повреждения слизистой оболочки желудка
АСК, 150 мг/кг	5,8 (3,0; 7,5)
ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	0,5 (0,5; 6,0)
Диклофенак 1 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	4,3 (3,5; 5,5)
Диклофенак 10 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	8,5 (7,0; 12,5)*/#
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	5,5 (4,0; 11,0)
Диклофенак 10 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	6,0 (4,8; 6,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	5,0 (0,5; 7,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	7,0 (6,3; 7,3)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	5,5 (3,8; 6,3)
Эторикоксиб 10 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	4,5 (1,5; 4,0)
Примечания	
1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.	
2. *-p<0,05 по сравнению с группой «АСК, 150 мг/кг».	
3. #-p<0,05 по сравнению с группой «Диклофенак 1 мг/кг + АСК, 150 мг/кг», критерий Манна-Уитни.	

На втором этапе работы по оценке влияния трехкратного перорального (один раз в день) введения НПВС на вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность наблюдали дозозависимое язвеногенное действие как неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия, так и селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба. Так, если эти НПВС в дозе 1 мг/кг не оказывали значимого влияния на вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность у крыс, то в дозе 10 мг/кг они значимо усиливали выраженность вызванных ацетилсалициловой кислотой повреждений слизистой оболочки желудка. При этом степень повреждения слизистой оболочки желудка в группах крыс, которым вводили ингибиторы ЦОГ в дозе 10 мг/кг и ацетилсалициловую кислоту, была значимо более выраженной, чем степень повреждения слизистой оболочки желудка у животных при введении им диклофенака натрия или эторикоксиба в дозе 1 мг/кг и ацетилсалициловой кислоты (таблица 28). ЭМГПС в дозе 25 мг/кг не оказывал значимого влияния на вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность. Применение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с диклофенаком натрия или эторикоксибом в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг не оказывало значимого влияния на вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность у крыс. При этом диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг на уровне тенденции ($p=0,07$, критерий Манна-

Уитни) снижал выраженность гастротоксичности у крыс по сравнению с группой животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг и ацетилсалициловую кислоту в дозе 150 мг/кг (таблица 28).

Таблица 28 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с ЭМГПС при трехкратном пероральном введении на выраженность вызванной трехкратным введением ацетилсалициловой кислоты (АСК) гастротоксичности у крыс

Группа	Суммарный балл, характеризующий повреждения слизистой оболочки желудка
АСК, 150 мг/кг	6,8 (2,0; 8,0)
ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	6,5 (4,0; 11,5)
Диклофенак 1 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	6,0 (5,0; 6,0)
Диклофенак 10 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	12,0 (10,3; 13,0)*#@
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	8,0 (5,5; 10,5)
Диклофенак 10 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	6,3 (6,0; 8,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	7,5 (6,8; 8,3)
Эторикоксиб 10 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	10,5 (9,8; 12,5)*#@
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	8,0 (5,0; 10,5)
Эторикоксиб 10 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг + АСК, 150 мг/кг	10,5 (7,3; 10,8)
Примечания 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. 2. *- $p < 0,05$ по сравнению с группой «АСК, 150 мг/кг». 3. #- $p < 0,05$ по сравнению с группой соответствующего НПВС в дозе 1 мг/кг, критерий Манна-Уитни. 4. @- $p < 0,05$ по сравнению с группой «Диклофенак 1 мг/кг + АСК, 150 мг/кг», критерий Краскела-Уоллиса с последующим сравнением с помощью критерия Данна.	

Таким образом, ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при комбинированном применении с диклофенаком натрия или эторикоксибом в дозах 1 и 10 мг/кг не влияет на слизистую оболочку желудка крыс с моделью гастротоксичности, вызванной трехкратным введением ацетилсалициловой кислоты, в отличие от НПВС в дозе 10 мг/кг, усиливающих выраженность вызываемых ацетилсалициловой кислотой повреждений слизистой оболочки желудка.

3.3.2 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом на артериальное давление и гематологические показатели у крыс

Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба, ЭМГПС и комбинированного применения ингибиторов ЦОГ с ЭМГПС на АД и гематологические показатели у крыс оценивали при их курсовом ежедневном пероральном введении.

Показатели АД у крыс, зарегистрированные до начала курсового введения препаратов, находились в пределах 126-134 мм рт. ст. для систолического давления и 86-104 мм рт. ст. для диастолического давления. Через 2 недели показатели АД в контрольной группе (курсовое введение физиологического раствора) сохранились в пределах тех же величин и составили 132,7 мм рт. ст. для систолического АД и 94,67 мм рт. ст. – для диастолического АД (таблица 29).

Диклофенак натрия в дозах 1 мг/кг и 5 мг/кг (перорально) после двухнедельного введения не изменял, по сравнению с контролем, уровни АД. Вместе с тем, при трехнедельном введении в дозе 5 мг/кг диклофенак натрия значительно увеличивал диастолическое давление на 25,2% по сравнению с показателем контрольной группы (таблица 29).

Эторикоксиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг (перорально) через 2 недели введения вызывал у животных некоторое повышение АД по сравнению с контролем, но эти изменения были статистически незначимыми (таблица 29). Через 3 недели введения эторикоксиба в дозах 1 и 10 мг/кг (перорально) у крыс отмечалось независимое от дозы статистически значимое повышение АД. Так, эторикоксиб в дозе 1 мг/кг по сравнению с контролем повышал диастолическое давление на 21,5%, а систолическое – на 19,2%, а в дозе 10 мг/кг соответственно на 28,2% и 18,2% (таблица 29).

ЭМГПС в дозе 25 мг/кг (перорально, ежедневно, 2 и 3 недели) значимого влияния на АД у крыс не оказывал (таблица 29). Однако его применение совместно с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг в течение 3 недель предупреждало повышение АД у крыс, зарегистрированное при курсовом введении только одного селективного ингибитора ЦОГ-2, и введение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с диклофенаком натрия в дозе 1 мг/кг не вызывало изменения АД по сравнению с контрольной группой животных (таблица 29).

Таблица 29 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) (курсовое введение) на артериальное давление (мм рт. ст.) крыс

Группа	14 сутки введения препаратов		21 сутки введения препаратов	
	Систолическое давление	Диастолическое давление	Систолическое давление	Диастолическое давление
Контроль, физ. р-р	132,7 (125,3; 141,8)	94,67 (82,50; 110,25)	130,3 (126,3; 135,5)	90,5 (81,42; 96,83)
ЭМГПС 25мг/кг	135,2 (129,2; 138,6)	97,58 (88,08; 99,75)	133,0 (125,0; 140,0)	94,33 (79,50; 105,00)
Диклофенак 1 мг/кг	139,3 (126,0; 144,0)	99,00 (97,00; 106,58)	151,0 (133,0; 164,3)	111,33 (99,50; 117,42)
Диклофенак 5 мг/кг	134,0 (123,5; 143,5)	88,17 (85,00; 96,08)	141,9 (134,8; 154,1)	113,3 (106,7; 130,7)*
Диклофенак 1мг/кг+ ЭМГПС 25 мг/кг	138,8 (120,1; 144,7)	94,67 (86,00; 103,88)	126,7 (125,3; 141,5)	101,00 (89,33; 105,67)
Эторикоксиб 1 мг/кг	153,5 (131,9; 169,9)	109,0 (95,58; 124,88)	155,3 (143,2; 165,5)*#	110,00 (107,8; 114,7)*#
Эторикоксиб 10 мг/кг	146,7 (135,7; 150,0)	102,33 (89,33; 109,17)	154,0 (148,1; 166,8)*#	116 (99,67; 130,67)*#
Эторикоксиб 1мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	131,3 (129,0; 146,0)	99,67 (90,58; 104,92)	133,3 (119,7; 140,3)	93,83 (89,17; 96,42)
Примечания 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. 2. Каждая группа животных на начало исследования включала 10 крыс, физ. р-р – физиологический раствор 3. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Данна. 4. # – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей комбинацией НПВС и ЭМГПС, критерий Данна.				

Значения гематологических показателей, зарегистрированные до начала введения препаратов, статистически не различались между собой и были в пределах референсных значений. Двухнедельный курс введения как неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг, так и селективного ингибитора ЦОГ-2 эторикоксиба в дозе 10 мг/кг приводил к изменению показателей общего анализа крови. Диклофенак натрия вызывал значимое увеличение содержания лейкоцитов на 73,7% за счет моноцитов (повышались на 50%) и гранулоцитов (повышались на 159,4%). Эторикоксиб повышал уровень наименее чувствительных к цитотоксическим воздействиям лейкоцитов [111] – гранулоцитов на 85,3%. Повышение уровня гранулоцитов при введении изучаемых НПВС в дозе 10 мг/кг, более выраженное при применении диклофенака натрия, вероятно, является следствием вызываемых НПВС повреждений ЖКТ. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, ингибиторы ЦОГ в дозе 1 мг/кг при двухнедельном ежедневном пероральном введении не вызывали значимых изменений гематологических показателей у крыс. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг в сочетании с диклофенаком натрия и эторикоксибом в дозе 1 мг/кг не усиливал негативных эффектов НПВС на гематологические показатели (таблица 30).

Двухнедельное введение диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг приводило к развитию анемии у крыс – значимо снижалось содержание эритроцитов (на 27,2%) и гемоглобина (на 26,4%), – и повышению содержания тромбоцитов (на 69%) (таблица 30), что является проявлением НПВС-ассоциированной энтеропатии. В подтверждение этого свидетельствует зарегистрированная в эксперименте гибель 4 из 10 крыс только в группе животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг. Вскрытие выведенных из эксперимента по его завершении и погибших крыс выявило видимые язвенные дефекты ЖКТ только у 2 животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг. Однако у всех крыс, которым вводили неселективный ингибитор ЦОГ в дозе 5 мг/кг, наблюдались истончение стенок желудка и кишечника, их вздутие, заброс желчи в желудок, и остатки пищи в ЖКТ практически отсутствовали, что является симптомами развившегося при введении НПВС воспаления ЖКТ.

У крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг, на протяжении 3 недель введения был зарегистрирован наименьший прирост массы тела. При этом в течение первых 19 суток введения препарата разница массы тел крыс относительно значений массы тела перед началом терапии была ниже нуля. При введении диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг прирост массы тела был значимо ниже, чем в контрольной группе, на протяжении первых 6 суток введения (таблица 31). ЭМГПС при курсовом применении в дозе 25 мг/кг значимого влияния на массу тела крыс не оказывал, при комбинированном применении диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг сниженная динамика прироста массы тела наблюдалась в течение первых 6 суток (таблица 31).

Таблица 30 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) (курсовое введение) на гематологические показатели (14 сутки введения препаратов)

Группа	Лейкоциты $\times 10^9/\text{л}$	Лимфоциты $\times 10^9/\text{л}$	Моноциты $\times 10^9/\text{л}$	Гранулоциты $\times 10^9/\text{л}$	Эритроциты $\times 10^{12}/\text{л}$	Гемоглобин, г/л	Тромбоциты $\times 10^9/\text{л}$
Контроль, физ. р-р	12,15 (11,10; 13,40)	8,30 (7,55; 9,28)	0,3 (0,23; 0,4)	3,4 (2,95; 3,8)	6,96 (6,6; 7,29)	130,5 (124,5; 136,5)	535,5 (499; 753)
ЭМГПС 25мг/кг	13,0 (9,4; 15,35)	7,60 (6,53; 8,575)	0,35 (0,2; 0,48)	4,9 (2,5; 5,1)	6,62 (6,28; 6,803)	124,5 (118,8; 128,2)	606 (595; 670)
Диклофенак 1 мг/кг	11,7 (10,72; 13,5)	7,4 (6,43; 8,78)	0,3 (0,3; 0,4)	4,0 (3,63; 4,5)	6,64 (6,54; 6,88)	120 (118,0; 127,8)	674,5 (580,2; 746,8)
Диклофенак 5 мг/кг	21,10 (16,48; 22,95)*	10,4 (8,15; 11,11)	0,6 (0,45; 0,7)*	8,82 (6,9; 12,15)*#	5,07 (4,47; 6,2)*#	96 (80,5; 109,0)*#	905 (801; 994)*#
Диклофенак 1мг/кг+ ЭМГПС 25 мг/кг	14,45 (12,45; 15,78)	8,65 (7,18; 10,9)	0,45 (0,3; 0,53)	4,55 (4,3; 5,28)	6,65 (6,47; 7,4)	122,5 (117,5; 132,8)	661 (644; 713,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг	15,05 (11,57; 16,85)	8,9 (6,63; 10,45)	0,4 (0,3; 0,5)	4,9 (4,08; 6,0)	6,66 (6,2; 6,87)	120,0 (118; 125,8)	661 (602,2; 686)
Эторикоксиб 10 мг/кг	16,1 (13,0; 20,3)	8,2 (7,05; 9,6)	0,5 (0,4; 0,7)	6,3 (5,9; 9,5)*	6,59 (6,46; 7,1)	121 (119; 123,5)	684 (657; 744)
Эторикоксиб 1мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	15,35 (11,35; 17,35)	8,25 (6,98; 9,55)	0,4 (0,3; 0,5)	4,75 (3,625; 7,425)	6,87 (6,68; 7,05)	121,5 (120,2; 129,5)	679,5 (661,2; 755)

Примечания

- * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Данна.
- # – $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей комбинацией НПВС и ЭМГПС, критерий Данна.
- Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.
- Каждая группа животных на начало исследования включала 10 крыс, физ. р-р – физиологический раствор.

Таблица 31– Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) на прирост массы тела животных

Группа	Изменение массы тела крыс относительно их массы в 1 сутки перед введением препаратов, г:				
	6 сутки	10 сутки	15 сутки	19 сутки	22 сутки
Контроль	41,0 (37,0; 49,5)	69,0 (51,5; 78,0)	72,0 (66,0; 92,0)	78,5 (67,5; 94,3)	90,5 (83,0; 102,5)
ЭМГПС 25мг/кг	37,5 (32,3; 42,5)	59,0 (51,5; 64,8)	89,5 (86,8; 94,0)	91,5 (89,0; 95,5)	100,5 (77,0; 109,8)
Диклофенак 1 мг/кг	24,0 (20,0; 38,0)*	44,0 (36,8; 58,8)	73,5 (67,3; 94,0)	77,0 (71,0; 95,0)	82,0 (66,5; 96,8)
Диклофенак 5 мг/кг	-5,0 (-23,0; 5,0)*	-2,5 (-44,3; 11,0)*	-0,5 (-42,3; 30,0)*	-10,0 (58,5; 38,5)*	8,0 (-57,0; 46,0)*
Диклофенак 1мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	28,5 (25,0; 36,8)*	43,00 (34,3; 61,5)	73,5 (61,5; 82,8)	82,50 (64,3; 91,5)	95,0 (72,3; 109,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг	24,5 (23,0; 32,3)*	44,50 (34,0; 56,3)*	70,5 (62,5; 93,3)	79,0 (66,3; 100,3)	96,5 (85,8; 125,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг	32,0 (18,5; 35,0)*	45,0 (35,0; 47,5)*	60,0 (42,0; 67,5)*	66,0 (58,0; 70,0)	71,0 (62,0; 82,0)
Эторикоксиб 1мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	30,0 (23,0; 34,0)	48,0 (40,0; 52,0)	63,0 (57,0; 67,0)	68,0 (64,5; 75,3)	77,0 (66,0; 83,0)
Примечания 1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей. 2. Каждая группа животных на начало исследования включала 10 крыс, физ. р-р – физиологический раствор. 3. * – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Данна.					

Сниженная динамика набора массы тела была зафиксирована и при курсовом введении эторикоксиба: в дозе 10 мг/кг препарат значимо влиял на набор массы тела в течение 15 суток применения, а в дозе 1 мг/кг – в течение 10 дней. Эторикоксиб в дозе 1 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг значимого влияния на набор массы тела не оказывал (таблица 31).

Таким образом, курсовое (трехнедельное, ежедневное, пероральное) введение крысам как неселективного ингибитора ЦОГ диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг, так и селективного ингибитора ЦОГ эторикоксиба в дозе 1 и 10 мг/кг приводит к повышению АД, более выраженному при введении эторикоксиба. Курсовое пероральное введение ингибиторов ЦОГ негативно влияет на прирост массы тела крыс. Курсовое двухнедельное введение диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг и эторикоксиба в дозе 10 мг/кг приводит к изменениям гематологических показателей у крыс: в крови животных увеличивается содержание отдельных групп лейкоцитов. Наряду с этим, диклофенак натрия при двухнедельном введении в дозе 5 мг/кг вызывает анемию. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг значимо не влияет на АД, гематологические показатели и прирост массы тела крыс. Применение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг предупреждает повышение АД. Применение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с ингибиторами ЦОГ в дозе 1 мг/кг не усиливает негативного действия НПВС на гематологические показатели и благоприятно влияет на набор массы тела крыс.

3.3.3 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом на поведение крыс

Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба, ЭМГПС и комбинированного применения ингибиторов ЦОГ с ЭМГПС на поведение крыс оценивали при их однократном и курсовом ежедневном пероральном введении.

3.3.3.1 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом при однократном пероральном введении на поведение крыс

Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба, ЭМГПС и комбинированного применения ингибиторов ЦОГ с ЭМГПС при однократном пероральном введении на поведение крыс оценивали в методиках «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Диклофенак натрия и эторикоксиб применяли в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг; ЭМГПС – в дозе 25 мг/кг; использовали НПВС в дозе 1 мг/кг при их комбинированном введении с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг. Животным контрольной группы вводили растворитель – физиологический раствор. Введение изучаемых средств и растворителя осуществляли за 1 час до последовательной

регистрации поведения животных в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Результаты изучения влияния НПВС и их комбинированного применения с ЭМГПС на ориентировочно-исследовательское поведение и двигательную активность крыс в тесте «Открытое поле» свидетельствуют о том, что значимых отличий поведения крыс, которым вводили НПВС в дозе 1 мг/кг или ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, от поведения контрольных животных не наблюдалось. Однако повышение дозы как селективного ингибитора ЦОГ-2, так и неселективного ингибитора ЦОГ, до 10 мг/кг приводило к двукратному снижению горизонтальной двигательной активности крыс на периферии установки по сравнению с показателем контрольных животных. НПВС в дозе 1 мг/кг в сочетании с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, при однократном введении в которой ЭМГПС не проявляет активности, но усиливает противовоспалительное действие диклофенака натрия и эторикоксиба, повышали двигательную активность крыс. Так, сумма пересеченных границ секторов пола установки крысами, которым вводили диклофенак натрия или эторикоксиб с ЭМГПС, соответственно на 31,8% и 22,7% больше, чем значение этого показателя в контрольной группе. При этом горизонтальная двигательная активность групп крыс, которым вводили НПВС с ЭМГПС, была выше, чем в группах животных, которым вводили только НПВС. Так, при введении крысам диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС по сравнению с введением только диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг горизонтальная активность на периферии установки повысилась на 29,4%, суммарная горизонтальная активность – на 38%. Различия этих показателей при введении неселективного ингибитора ЦОГ в дозе 10 мг/кг и диклофенака натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС были более выражены: при введении диклофенака натрия с ЭМГПС горизонтальная активность крыс на периферии установки была в 2,2 раза выше, суммарная горизонтальная активность – в 2,4 раза выше. В группе животных, которым вводили комбинацию эторикоксиба в дозе 1 мг/кг и ЭМГПС, горизонтальная двигательная активность на периферии установки была на 22,2% выше, чем в группе крыс, которым вводили только эторикоксиб в дозе 1 мг/кг, и в 2,5 раза – по сравнению с группой животных, получавших эторикоксиб в дозе 10 мг/кг. Кроме того, суммарная горизонтальная двигательная активность животных, получавших комбинацию эторикоксиба и ЭМГПС, была в 2,7 раза выше, чем в группе крыс, которым вводили эторикоксиб в дозе 10 мг/кг (таблица 32).

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», в котором уровень испытываемого животными стресса выше по сравнению с тестом «Открытое поле», животные контрольной группы практически весь период наблюдения демонстрировали характерное для крыс рефлекторное избегание освещенных открытых рукавов установки и предпочтение затемненных стенками закрытых рукавов (норковый рефлекс). Время, проведенное в закрытых

рукавах установки, в группах крыс, которым вводили изучаемые НПВС, ЭМГПС в дозе 25 мг/кг и НПВС в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС, практически не отличалось от показателя контрольной группы, что свидетельствует об отсутствии их влияния на тревожность животных. По показателям числа заходов в открытые и закрытые рукава установки, времени нахождения на центральной площадке статистически значимых различий между группами не зафиксировано (таблица 33).

Таблица 32 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) при однократном пероральном введении на поведение крыс в тесте «Открытое поле»

Группа	Число крыс в группе	Горизонтальная активность, пересечения границ секторов, ед.			Вертикальная активность, ед.	Число эпизодов груминга, ед.	Число обследованных норок, ед.	Число болюсов, ед.
		На периферии	В центральной части арены	Сумма пересечений				
Контроль	12	22,5 (19,5; 24,8)	0,0 (0,0; 0,5)	22,0 (7,5; 24,0)	5,0 (3,5; 9,0)	1,0 (0,5; 3,0)	5,0 (4,0; 9,0)	3,0 (1,0; 4,0)
ЭМГПС 25 мг/кг	12	19,0 (17,0; 24,0)	0,0 (0,0; 1,0)	20,0 (17,0; 26,0)	8,0 (7,0; 12,0)	1,0 (1,0; 3,0)	5,0 (3,0; 9,0)	3,0 (2,0; 4,0)
Диклофенак 1 мг/кг	11	18,0 (9,0; 21,8)#	0,0 (0,0; 1,0)	18,0 (9,8; 23,5)#	5,0 (4,8; 8,5)	1,5 (0,8; 2,3)	4,5 (2,0; 6,3)	3,5 (0,0; 4,0)
Диклофенак 10 мг/кг	11	11,5 (8,5; 14,0)*#	0,0 (0,0; 1,0)	12,0 (9,5; 15,5)#	5,5 (3,8; 8,3)	1,0 (0,8; 1,3)	3,5 (2,5; 5,0)	3,5 (0,0; 4,0)
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	11	25,5 (22,0; 31,0)	1,0 (0,0; 2,3)	29,0 (22,8; 31,0)*	6,5 (3,5; 9,3)	0,5 (0,0; 1,3)	5,0 (3,0; 7,3)	2,5 (0,0; 3,3)
Эторикоксиб 1 мг/кг	11	21,0 (12,3; 24,3)#	0,0 (0,0; 1,3)	21,5 (12,8; 25,5)	7,5 (6,0; 11,0)	1,5 (1,0; 2,3)	8,0 (3,8; 11,0)	1,5 (0,0; 3,3)
Эторикоксиб 10 мг/кг	12	11,0 (9,5; 16,5)*#	0,0 (0,0; 0,0)	10,0 (7,0; 16,0)#	8,0 (5,0; 9,0)	1,0 (0,0; 3,0)	5,0 (3,0; 7,0)	1,0 (0,0; 2,3)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	12	27,0 (22,0; 31,0)	0,0 (0,0; 1,0)	27,0 (22,0; 31,0)*	7,0 (5,0; 11,0)	1,0 (0,0; 2,0)	6,0 (5,0; 11,0)	1,0 (0,0; 3,0)
Примечания								
1. Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.								
2. *- $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Данна.								
3. #- $p < 0,05$ по сравнению с соответствующей комбинацией НПВС и ЭМГПС, критерий Данна.								

Таблица 33 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) при однократном пероральном введении на поведение крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Группа	Число крыс в группе	Время нахождения, с			Кол-во заходов, ед.		Общее число заходов в рукава, ед.
		на центральной площадке	в открытых рукавах	в закрытых рукавах	в открытые рукава	в закрытые рукава	
Контроль	12	12,0 (5,0; 23,0)	0,0 (0,0; 16,5)	287,0 (272,0; 293,0)	0,0 (0,0; 1,0)	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 3,0)
ЭМГПС 25 мг/кг	12	19,0 (9,0; 29,0)	0,0 (0,0; 0,0)	281,0 (271,0; 291,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,5 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 3,0)
Диклофенак 1 мг/кг	11	9,5 (6,0; 23,5)	0,0 (0,0; 0,0)	282,5 (271,0; 292,5)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 1,8)	1,0 (1,0; 3,5)
Диклофенак 10 мг/кг	11	11,0 (2,8; 30,5)	0,0 (0,0; 0,0)	289,0 (269,5; 297,20)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 2,5)	1,0 (1,0; 3,5)
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	11	9,5 (4,8; 25,5)	0,0 (0,0; 3,0)	283,0 (255,8; 291,5)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 2,0)	2,0 (1,0; 3,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг	11	18,0 (11,5; 30,5)	0,0 (0,0; 0,0)	282,0 (269,5; 288,5)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 1,0)	2,0 (1,0; 3,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг	12	8,0 (5,0; 27,0)	0,0 (0,0; 0,0)	289,0 (273,0; 295,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,5 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 3,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	12	9,0 (6,0; 22,0)	0,0 (0,0; 0,0)	288,0 (278,0; 294,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0 (1,0; 2,0)	1,0 (1,0; 3,0)
Примечание – Данные представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей.							

Таким образом, установлено, что селективный ингибитор ЦОГ-2 эторикоксиб и неселективный ингибитор ЦОГ диклофенак натрия при однократном пероральном введении в дозе 10 мг/кг снижают двигательную активность животных в тесте «Открытое поле». Диклофенак натрия и эторикоксиб в дозах 1 и 10 мг/кг (однократно, перорально) не влияют на поведение крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Использование НПВС в малой дозе (1 мг/кг) совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, в которой препарат усиливает противовоспалительный и противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг, не приводит к развитию отклонений поведения, подобных зарегистрированным при введении этих НПВС в дозе 10 мг/кг.

3.3.3.2 Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом при курсовом пероральном введении на поведение крыс

Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба, ЭМГПС и комбинированного применения ингибиторов ЦОГ с ЭМГПС при ежедневном пероральном введении в течение 15 суток (один раз в сутки) на поведение крыс оценивали в методиках «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и в тесте «Вращающийся стержень». Диклофенак натрия применяли в дозах 1 мг/кг и 5 мг/кг, эторикоксиб – в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг; ЭМГПС – в дозе 25 мг/кг; использовали НПВС в дозе 1 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг. Животным контрольной группы вводили растворитель – физиологический раствор. Последнее введение изучаемых средств и растворителя осуществляли за 1 час до последовательной регистрации поведения животных в тестах «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Вращающийся стержень».

Установлено, что в тесте «Открытое поле» диклофенак натрия при пероральном введении в дозе 5 мг/кг в течение 15 дней ослаблял ориентировочно-исследовательскую реакцию (ОИР) крыс. Коэффициент ОИР ($K_{ОИР}$) в группе животных, которым его вводили в дозе 5 мг/кг, был значимо в 2,0 раза ниже, чем в контрольной группе. Снижение ОИР крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг, происходило за счет уменьшения двигательной и исследовательской активности. Так, по сравнению с контрольной группой животных диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг значимо снижал горизонтальную двигательную активность крыс на периферии установки «Открытое поле» в 2,8 раза, вертикальную активность – в 4,0 раза, число обследованных отверстий – в 12,0 раз. ЛП начала движения животных, которым вводили диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг, соответствовал 7,5 секундам, что значимо не отличалось от показателя контрольной группы, равного 4,0 секундам. Диклофенак натрия при пероральном введении в дозе 1 мг/кг в течение 15 суток не оказывал

значимого влияния на ОИР крыс. При этом показатели горизонтальной двигательной активности крыс, которым препарат вводили в дозе 1 мг/кг, на периферии установки и вертикальной двигательной активности были значимо выше, чем при его введении в дозе 5 мг/кг соответственно в 3,1 и 3,4 раза. Диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС дозе 25 мг/кг значимо не влиял на K_{OIR} . Вместе с тем отмечена тенденция к повышению двигательной активности крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, в центральной части установки «Открытое поле»: число пересечений границ секторов в этой зоне крысами было в 7 раз выше ($p=0,09$, критерий Манна-Уитни) по сравнению с контрольной группой (таблица 34).

ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, эторикокиб в дозах 1 и 10 мг/кг, эторикокиб в дозе 1 мг/кг и ЭМГПС в дозе 25 мг/кг при ежедневном пероральном введении в течение 15 суток значимого влияния на K_{OIR} не оказывала (таблица 34). Однако эторикокиб в дозе 10 мг/кг в 4 раза сокращал ЛП начала движения при помещении крыс в установку, который рассматривают в качестве показателя стрессового поведения животных, по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$, таблица 34).

В тесте «Вращающийся стержень» установлено, что диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг при введении в течение 15 дней вызывал моторный дефицит у крыс: ЛП падения крыс, которым вводили этот НПВС, с барабана установки «Вращающийся стержень» был в 1,9 раза меньше, чем в контрольной группе ($p<0,05$). Диклофенак натрия в меньшей дозе 1 мг/кг, ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, эторикокиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг значимого влияния на локомоторную активность в тесте «Вращающийся стержень» не оказывали. Однако зарегистрирована тенденция к снижению ЛП падения крыс, которым вводили эторикокиб в дозе 10 мг/кг, с барабана установки по сравнению с контрольной группой (в 1,5 раза, $p=0,067$, критерий Манна-Уитни). Эторикокиб в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг вызывал у крыс моторный дефицит, о чем свидетельствовало значимое снижение ЛП падения с установки животных в 1,7 раза по сравнению с контрольной группой (таблица 34).

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» крысы контрольной группы продемонстрировали предпочтение затемненных стенками закрытых рукавов установки, в которых они провели 279,5 из 300 с наблюдения. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, диклофенак натрия и эторикокиб во всех изучаемых дозах, НПВС в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС не оказывали значимого влияния на время нахождения животных в открытых и закрытых рукавах установки и на количество заходов в них по сравнению с контрольной группой. Вместе с тем в группе крыс, которым вводили эторикокиб в дозе 1 мг/кг, зарегистрирована тенденция к увеличению числа заходов в закрытые рукава установки по сравнению с контрольной группой ($p=0,09$, критерий

Манна-Уитни). Их число было значимо в 2 раза выше, чем при введении селективного ингибитора ЦОГ-2 в дозе 10 мг/кг. Хотя изучаемые препараты не оказывали значимого влияния на время нахождения крыс в открытых и закрытых рукавах установки, время нахождения животных на центральной площадке значимо увеличивали эторикокиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, ЭМГПС и диклофенак натрия при его применении с ЭМГПС соответственно в 9; 8,1; 5,7 и 2,2 раза. Кроме того, в группе крыс, которым вводили диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг, отмечена тенденция к его повышению относительно показателя контрольной группы (в 3,9 раза, $p=0,057$, критерий Манна-Уитни) (таблица 35).

Таблица 34 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) при курсовом пероральном введении на поведение крыс в тестах «Открытое поле» и «Вращающийся стержень»

Группа, количество животных в группе	«Открытое поле»					ЛП падения с установки «Вращающийся стержень», с	
	ЛП начала движения, с	Горизонтальная активность, пересечения границ секторов, ед.		Вертикальная активность, ед.	Число обследованных отверстий, ед.		КоИР
		В центральной части	На периферии				
Контроль, n=10	4,0 (2,0; 4,0)	1,0 (0,0; 5,0)	25,5 (5,0; 29,0)	10,0 (5,0; 13,0)	6,0 (3,0; 9,0)	39,56±6,15 (18,45)	80,0 (60,0; 91,0)
ЭМГПС 25 мг/кг, n=10	3,0 (2,0; 3,0)	0,0 (0,0; 0,0)	18,0 (10,0; 36,0)	5,5 (3,0; 7,0)	4,5 (1,0; 10,0)	37,22±7,64 (22,93)	59,5 (50,5; 73,0)
Диклофенак 1 мг/кг, n=10	4,0 (2,0; 5,0)	3,0 (1,0; 5,0)	28,0 (19,0; 30,0)	8,5 (5,0; 10,0)	2,5 (1,0; 7,0)	41,89±5,69 (17,08)	53,5 (20,0; 82,0)
Диклофенак 5 мг/кг, n=8	7,5 (2,0; 10,5)	2,0 (0,0; 7,0)	9,0 (3,0; 15,0)*#	2,5 (1,5; 6,0)*#	0,5 (0,0; 5,5)*	19,38±6,09 (17,23)*#	43,0 (26,0; 60,0)*
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг, n=10	1,5 (1,0; 2,0)	8,0 (1,0; 10,0)	16,5 (15,0; 26,0)	6,5 (5,0; 9,0)	3,5 (2,0; 4,0)	37,33±4,53 (13,58)	72,0 (40,5; 93,5)
Эторикоксиб 1 мг/кг, n=10	3,5 (1,0; 6,0)	2,0 (1,0; 6,0)	27,0 (14,0; 32,0)	7,0 (4,0; 9,0)	6,5 (3,0; 9,0)	45,67±5,15 (15,45)	52,5 (44,0; 117,5)
Эторикоксиб 10 мг/кг, n=11	1,0 (1,0; 3,0)*	3,0 (1,0; 5,0)	15,0 (8,0; 24,0)	7,0 (2,0; 9,0)	2,0 (1,0; 7,0)	33,50±5,66 (17,89)	54,0 (31,0; 72,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг, n=10	1,5 (1,0; 2,0)	0,0 (0,0; 3,0)	17,0 (10,0; 28,0)	6,5 (3,0; 14,0)	6,0 (2,0; 7,0)	35,44±5,65 (16,96)	48,0 (46,0; 51,0)*

Примечания

1. Данные представлены в зависимости от отсутствия или наличия нормального распределения в группах соответственно как медиана (Q1; Q3) или среднее значение ± стандартная ошибка среднего значения (стандартное отклонение).
2. *- p<0,05 по сравнению с контрольной группой, критерий Манна-Уитни/t-критерий Стьюдента.
3. #- p<0,05 по сравнению с группой «Диклофенак 1 мг/кг», критерий Манна-Уитни/t-критерий Стьюдента.
4. Коэффициент ориентировочно-исследовательской реакции (КОИР) – сумма показателей горизонтальной, вертикальной двигательной активности и числа обследованных отверстий [259].

Таблица 35 – Влияние диклофенака натрия, эторикоксиба и их комбинированного применения с этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) при курсовом пероральном введении на поведение крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт»

Группа	Число крыс в группе	Время нахождения, с			Кол-во заходов, ед.		Общее число заходов в рукава, ед.
		на центральной площадке	в открытых рукавах	в закрытых рукавах	в открытые рукава	в закрытые рукава	
Контроль	10	7,0 (3,0; 32,0)	0,0 (0,0; 17,0)	279,5 (214,0; 294,5)	0,0 (0,0; 1,5)	2,0 (1,0; 3,5)	2,0 (1,0; 5,0)
ЭМГПС 25 мг/кг	10	40,0 (30,0; 53,0)*	9,0 (3,0; 27,0)	243,0 (211,0; 259,0)	1,0 (1,0; 1,0)	4,0 (2,0; 5,0)	5,0 (3,0; 6,0)
Диклофенак 1 мг/кг	10	27,0 (21,0; 37,0)	0,0 (0,0; 6,0)	263,0 (134,0; 279,0)	0,0 (0,0; 1,0)	2,0 (2,0; 4,0)	3,0 (2,0; 4,0)
Диклофенак 5 мг/кг	8	18,0 (7,0; 54,0)	0,0 (0,0; 123,0)	222,0 (159,0; 293,0)	0,0 (0,0; 3,0)	2,0 (1,0; 3,0)	2,0 (1,0; 7,0)
Диклофенак 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	15,5 (12,5; 96,0)*	10,0 (0,0; 47,5)	255,0 (98,5; 286,0)	0,5 (0,0; 1,5)	2,0 (1,5; 3,0)	2,0 (2,0; 4,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг	10	63,0 (27,0; 70,0)*	0,0 (0,0; 15,0)	230,0 (221,0; 256,0)	0,0 (0,0; 1,0)	4,0 (3,0; 4,0)	4,0 (3,0; 4,0)
Эторикоксиб 10 мг/кг	11	56,5 (29,0; 80,0)*	0,0 (0,0; 0,0)	232,5 (220,0; 271,0)	0,0 (0,0; 0,0)	2,0 (2,0; 3,0)	2,5 (2,0; 3,0)
Эторикоксиб 1 мг/кг + ЭМГПС 25 мг/кг	10	23,0 (17,0; 31,0)	0,0 (0,0; 2,0)	276,0 (248,0; 281,0)	0,0 (0,0; 1,0)	2,0 (2,0; 5,0)	3,0 (2,0; 5,0)
Примечания							
1. Данные представлены как медиана (Q1; Q3).							
2. *- $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, критерий Манна-Уитни.							

Таким образом, результаты проведенного эксперимента свидетельствуют о том, что диклофенак натрия при ежедневном пероральном введении (15 дней) в дозе 5 мг/кг, но не в дозе 1 мг/кг вызывает у крыс снижение ориентировочно-исследовательской активности в тесте «Открытое поле» и моторный дефицит в тесте «Вращающийся стержень». Эторикоксиб при ежедневном пероральном введении (15 дней) в дозах 1 и 10 мг/кг не влияет на ориентировочно-исследовательскую и локомоторную активность крыс. При этом эторикоксиб в дозе 10 мг/кг значительно снижает ЛП начала движения в тесте «Открытое поле» и в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг увеличивает время нахождения животных на центральной площадке в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». ЭМГПС при ежедневном пероральном введении (15 дней) в дозе 25 мг/кг не влияет на ориентировочно-исследовательскую и локомоторную активность крыс, но увеличивает время их нахождения на центральной площадке в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт». Диклофенак натрия (1 мг/кг) в сочетании с ЭМГПС (25 мг/кг) с при ежедневном пероральном введении (15 дней) не вызывает снижения ориентировочно-исследовательской активности в тесте «Открытое поле» и моторный дефицит в тесте «Вращающийся стержень» у крыс. Эторикоксиб (1 мг/кг) в сочетании с ЭМГПС (25 мг/кг) при ежедневном пероральном введении (15 дней) значительно снижает локомоторную активность крыс в тесте «Вращающийся стержень» в отсутствие значимых отклонений поведения в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Результаты третьего этапа экспериментального исследования по оценке безопасности комбинированного применения диклофенака натрия с ЭМГПС и эторикоксиба с ЭМГПС свидетельствуют о том, что ЭМГПС в дозе 25 мг/кг не усугубляет негативное влияние диклофенака натрия и эторикоксиба на слизистую оболочку желудка, АД, гематологические показатели, массу тела и ориентировочно-исследовательскую реакцию животных.

Полученные результаты опубликованы

в статьях с соавторами:

1. Иванова, Е.А. Усиление противовоспалительного и анальгетического эффекта диклофенака натрия при его применении в комбинации с мексидолом в эксперименте на грызунах / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, А.И. Матюшкин, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83. – № 7. – С. 22-26.
2. Иванова, Е.А. Способность мексидола усиливать антиэкссудативное действие диклофенака натрия и эторикоксиба на модели каррагенанового отека у крыс и мышей / Е.А. Иванова, А.И. Матюшкин, **А.Г. Васильчук**, Т.А. Воронина // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. – 2021. – Т. 76. – № 2. – С. 61-66.

3. Иванова, Е.А. Влияние ингибиторов циклооксигеназы эторикоксиба и диклофенака натрия, а также их комбинаций с мексидолом на поведение крыс / Е.А. Иванова, А.И. Матюшкин, **А.Г. Васильчук**, Т.А. Воронина // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. – 2021. – Т. 76. – № 3. – С. 148-154.

4. **Васильчук, А.Г.** Влияние ингибиторов циклооксигеназы эторикоксиба и диклофенака натрия, а также их комбинаций с мексидолом на артериальное давление и гематологические показатели у крыс / **А.Г. Васильчук**, Е.А. Иванова, А.И. Матюшкин, С.В. Алексеева, К.С. Качалов, Т.А. Воронина // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. – 2022. – Т. 77. – № 1. – С. 22-28.

5. Иванова, Е.А. Влияние ингибиторов циклооксигеназы и их комбинаций с мексидолом при курсовом применении на поведение половозрелых крыс / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, А.И. Матюшкин, Т.А. Воронина // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2023. – №1. – С. 33-40.

6. Иванова, Е.А. Изучение влияния этилметилгидроксипиридина сукцината на эффективность нестероидных противовоспалительных препаратов при висцеральной и соматической боли в эксперименте на мышах и крысах / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, А.И. Матюшкин, Т.А. Воронина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2023. – Т. 123. – № 12. – С. 1-9.

7. Иванова, Е.А. Этилметилгидроксипиридина сукцинат усиливает противоболевой эффект ингибиторов циклооксигеназы при послеоперационной гипералгезии в эксперименте на крысах / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, Т.А. Воронина // Российский журнал боли. – 2024. – Т. 22. – № 3. – С. 5-11.

8. Иванова, Е.А. Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на вызванные ингибиторами циклооксигеназы повреждения слизистой оболочки желудка у крыс / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2024. – Т. 87. – № 5. – С. 27-31.

9. Иванова, Е.А. Эффективность ингибиторов циклооксигеназы, этилметилгидроксипиридина сукцината и их комбинаций на модели коллаген-индуцированного артрита у мышей BALB/c / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, Н.Н. Золотов, Т.А. Воронина // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2026. – № 1. – С. 38-48.

10. Иванова, Е.А. Влияние комбинированного применения мексидола с диклофенаком натрия на выраженность экссудативного воспаления у крыс при превентивном десятидневном пероральном введении / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, А.И. Матюшкин, Т.А. Воронина // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2022. – № 1. – С. 14-19.

в тезисах с соавторами:

1. **Васильчук, А.Г.** Исследование противовоспалительного действия мексидола при однократном внутрибрюшинном введении на модели уксусного перитонита у мышей / **А.Г. Васильчук**, Е.А. Иванова, Т.А. Воронина // Материалы Всероссийской научной конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки». – 2018. – С. 27-28.
2. **Васильчук, А.Г.** Влияние диклофенака в комбинации с мексидолом на острое экссудативное воспаление у грызунов / **А.Г. Васильчук**, Е.А. Иванова, Т.А. Воронина // В приложении к научно-практическому журналу: II научной конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии». – 2021. – С. 200-201.
3. Иванова, Е.А. Влияние мексидола, диклофенака натрия и их комбинации на выраженность термической гипералгезии у крыс с каррагенановым отёком / Е.А. Иванова, **А.Г. Васильчук**, А.И. Матюшкин, Т.А. Воронина // В приложении к научно-практическому журналу: II научной конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии». – 2021. – С. 219-220.
4. **Васильчук, А.Г.** Влияние антиоксидантного препарата мексидола на ulcerогенное действие нестероидных противовоспалительных препаратов / **А.Г. Васильчук**, Е.А. Иванова, Т.А. Воронина // IV Съезд фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций, новые идеи – новые лекарства» – Москва: Издательский дом «Фолиум», 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 26.
5. **Васильчук, А.Г.** Влияние нестероидных противовоспалительных препаратов и их комбинации с мексидолом на артериальное давление у крыс / **А.Г. Васильчук**, Е.А. Иванова // IV Съезд фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций, новые идеи – новые лекарства» – Москва: Издательский дом «Фолиум», 2023. – Т. 86, № 11s. – С. 26а.
6. **Васильчук, А.Г.** Эффект комбинаций ингибиторов циклооксигеназы и этилметилгидроксипиридина сукцината на модели коллагениндуцированного артрита у мышей BALB/c / **А.Г. Васильчук**, Е.А. Иванова // Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Young people and science: results and perspectives». – 2026. – С. 159-161.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

НПВС применяют для терапии острой и хронической боли. Как эффективность, так и побочное действие НПВС носят дозозависимый характер и обусловлены, прежде всего, ингибированием ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [260]. В отличие от побочного действия, эффективность этих препаратов имеет свой предел (ceiling effect) [98]. Риск гастроинтестинальных НЯ при применении НПВС связывают с ингибированием ЦОГ-1 и вызванным этим снижением образования ПГЕ₂, риск тромбозов – с обусловленным, прежде всего, ингибированием ЦОГ-2 подавлением образования ПГ₂ и, как следствие, повышением образования тромбксана А₂; повышение АД обусловлено ингибированием обеих изоформ ЦОГ и снижением уровня ПГЕ₂ и ПГ₂ в почках [98]. Большинство пациентов, принимающих НПВС, – люди пожилого возраста (старше 65 лет), имеющие несколько заболеваний; пожилой возраст является фактором риска ЖКТ-осложнений [260], в некоторых случаях для лучшего контроля симптомов (остеоартрит) и замедления прогрессирования заболевания (болезнь Бехтерева) НПВС назначают непрерывно [260]. Однако, снижая хроническую ноцицептивную боль при остеоартрите, НПВС могут негативно влиять на его патогенез, так как способны ускорить дегенерацию хряща [175]. Таким образом, высокий риск НПВС-ассоциированных побочных эффектов ограничивает их долгосрочное использование [155]. Эффективность и значимость НПВС в современной лечебной практике обуславливают актуальность разработки новых подходов к повышению безопасности их применения.

Диссертационное исследование посвящено изучению эффективности и безопасности применения НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба совместно с препаратом с антиоксидантным действием этилметилгидроксипиридина сукцинатом (ЭМГПС) с целью снижения доз НПВС с сохранением выраженности их противоболевого и противовоспалительного эффекта.

В проведенном исследовании установлено, что ЭМГПС способен усиливать противоболевое действие диклофенака натрия и эторикоксиба при однократном и курсовом применении, что позволяет снизить дозы НПВС. Так, на модели острой висцеральной боли у мышей (тест «Укусные корчи») ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозах 25 мг/кг – 100 мг/кг не оказывает значимого влияния на ее выраженность, но усиливает противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба при их однократном пероральном введении в дозах 0,5 мг/кг и 1 мг/кг, соответственно. Применение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с диклофенаком натрия и эторикоксибом в дозе 1 мг/кг приводит к повышению выраженности противоболевого эффекта НПВС в формалиновом тесте, причем это обусловлено, прежде всего, появлением значимого противоболевого эффекта в первую

(острую) фазу формалиновой боли при его отсутствии в случае использования только НПВС в дозе 1 мг/кг. Первая фаза формалиновой боли длится в течение первых 5 мин после введения раствора формалина в лапу животных и обусловлена действием формалина на ионный канал TRPA1 афферентных нейронов. Вторая фаза начинается с 20 мин наблюдения, и ее механизм связывают с развивающейся воспалительной реакцией и центральной сенситизацией [58]. Диклофенак натрия, в отличие от эторикоксиба, при однократном пероральном введении в дозе 10 мг/кг, но не 1 мг/кг подавляет формалиновую боль у крыс в острую фазу формалиновой боли за счет влияния на ионный канал TRPV1, так как известно, что этот НПВС снижает выраженность механической и тепловой гипералгезии, вызванной активацией этого канала [154]. В свою очередь, ионный канал TRPV1 соэкспрессирован с ионным каналом TRPA1 [72], и антагонисты ионного канала TRPV1 способны снижать выраженность болевого поведения крыс в острую фазу формалиновой боли [91]. Усиление противоболевого эффекта диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг при совместном применении с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг в тесте формалиновой боли за счет появления эффекта в первую фазу боли, по всей вероятности, обусловлено мембранотропными свойствами ЭМГПС. Модификация мембран под действием соединений с мембранотропными свойствами может привести к снижению функциональной активности мембранных ионных каналов.

В тесте механической гипералгезии при остром экссудативном воспалении у крыс возникновение боли, как и на модели острой висцеральной боли (тест «Укусные корчи») у мышей и во вторую фазу формалиновой боли у крыс, обусловлено образованием сенсibiliзирующих ноцицепторы медиаторов воспаления [30, 55, 96]. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг значимо не влияет на порог чувствительности поврежденной лапы крыс с каррагинановым отеком. Но его введение совместно с диклофенаком натрия в дозе 1 мг/кг приводит к повышению порога чувствительности животных по сравнению с введением только этого НПВС в дозе 1 мг/кг, который не оказывает на него значимого влияния. На эффект эторикоксиба ЭМГПС в дозе 25 мг/кг оказывает меньшее влияние. Эторикоксиб в дозе 1 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг незначимо повышает порог чувствительности крыс по сравнению с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг.

Одним из показаний к применению НПВС является их назначение в периоперационном периоде в рамках мультимодальной анальгезии, позволяющей за счет использования препаратов с разным механизмом действия добиться максимального анальгетического эффекта при меньших дозах лекарственных препаратов и, следовательно, снижения дозозависимой частоты и выраженности их побочных эффектов [127, 260, 295]. При этом учитывают, что применение НПВС в периоперационном периоде сопровождается повышением риска кровотечений из операционной раны [295].

Влияние ЭМГПС на выраженность противоболевого действия диклофенака натрия и эторикоксиба при курсовом введении оценивали на модели послеоперационной гипералгезии у крыс [19]. Диклофенак натрия в дозах 1 мг/кг, 10 мг/кг с последующим снижением дозы до 5 мг/кг вследствие его токсического действия, эторикоксиб в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг; ЭМГПС в дозе 25 мг/кг; ингибиторы ЦОГ в дозе 1 мг/кг с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг вводили перорально дважды в сутки, начиная со дня операции и в течение 3 дней после нее. На модели послеоперационной гипералгезии у крыс эторикоксиб при курсовом пероральном введении в дозе 10 мг/кг проявил противоболевой эффект, обусловленный ингибированием ЦОГ-2 [32] с последующим снижением образования провоспалительных ПГ, сенсibiliзирующих ноцицепторы. Для диклофенака натрия, наряду с действием на ЦОГ, описана способность влиять на участвующий в трансдукции ионный канал TRPV1 [154], снижать повышенные при воспалении активность и экспрессию кислоточувствительного ионного канала ASIC на периферических ноцицептивных нейронах [214], блокировать натриевый канал в ганглионарных нейронах дорсальных корешков [116] и модулировать кинетику инактивации тетродоксин-нечувствительного натриевого канала в ноцицептивных нейронах [148], активировать калиевый канал KCNQ2/Q3 в культуре кортикальных нейронов [163]. На модели послеоперационной гипералгезии у крыс не наблюдали дозозависимого усиления противоболевого действия диклофенака натрия, что можно связать с дозозависимым повышением выраженности побочного действия, в результате которого при пероральном введении диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг с переходом на 5 мг/кг погибло 5 из 10 крыс в группе. Пероральное введение диклофенака натрия, как и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг крысам с моделью послеоперационной гипералгезии усиливает выраженность противоболевого действия НПВС, при этом побочного действия препаратов не выявлено. Усиление противоболевого эффекта НПВС при их применении в малой дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг у крыс с моделью послеоперационной гипералгезии может быть обусловлено антиоксидантными [242, 253] и мембранотропными свойствами [253], влиянием на активность фосфолипазы A₂ [239] и ГАМК-бензодиазепиновый комплекс [215]. Полученные в экспериментах данные о способности ЭМГПС усиливать противоболевой эффект НПВС согласуются с результатами клинических исследований. Так, ЭМГПС при применении в комбинированной терапии совместно с НПВС, вазоактивными препаратами, миорелаксантами, витаминами группы В ускоряет темп снижения боли при радикулопатиях [234, 272, 273, 293, 303] и остеохондрозе разных отделов позвоночника [301].

Увеличение противоболевого эффекта НПВС при применении совместно с ЭМГПС обусловлено и усилением ЭМГПС выраженности противовоспалительного действия ингибиторов ЦОГ. Так, на модели каррагинанового отека у крыс и мышей установлено, что при

однократном пероральном введении ЭМГПС в дозе 25 мг/кг усиливает эффект диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг до уровня, регистрируемого при введении этих НПВС в дозе 10 мг/кг. Диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг при однократном внутривнутрибрюшинном введении совместно с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг на модели каррагинанового отека у крыс оказывает такой же антиэкссудативный эффект, как и диклофенак натрия в дозе 10 мг/кг. Полученные данные согласуются с результатами, опубликованными другими исследователями. Известно, что совместное использование антиоксидантных средств янтарной или липоевой кислоты, витаминов С и Е с рядом НПВС (ацетилсалициловой кислотой, индометацином, напроксеном, диклофенаком, нифлумовой кислотой, бутадионом, пироксикамом) при пятидневной схеме применения (перорально) приводит к повышению антиэкссудативной эффективности НПВС на модели каррагинанового отека у мышей [299]; при однократном внутрижелудочном применении ацетилсалициловой кислоты (100 мг/кг) с антигипоксантом/антиоксидантом гипоксеном (50 мг/кг) наблюдают снижение лейкоцитоза и СОЭ в крови крыс с каррагинановым отеком лапы [283].

ЭМГПС при курсовом применении оказывает нейропротекторное действие [263, 296] и вызывает дозозависимое повышение экспрессии сукцинатного рецептора SUCNR1 в коре головного мозга крыс [262]. Известно, что экзогенный сукцинат проявляет противовоспалительное действие [269], механизм которого обусловлен влиянием на сукцинат/SUCNR1 сигналинг [83, 206]. Следовательно, усиление ЭМГПС противовоспалительной эффективности НПВС, зарегистрированное в проведенном исследовании, может быть связано с его цитопротекторной активностью, реализующейся посредством действия ЭМГПС на сукцинат/SUCNR1 сигналинг.

Влияние ЭМГПС (25 мг/кг) на эффективность ингибиторов ЦОГ (1 мг/кг) и длительность их действия оценены на модели коллагенового артрита у мышей BALB/c при ежедневном пероральном введении препаратов на протяжении 21 дня. Установлено более длительное (до 17 дней) усиление эффекта эторикоксиба (противовоспалительного, противоболевого действия, снижения тяжести артрита) при его введении с ЭМГПС по сравнению с комбинированием диклофенака натрия и ЭМГПС (до 7 дней). При воспалении липолиз преобладает над реакциями синтеза липидов вследствие активации ферментативной и неферментативной деструкции мембранных фосфолипидов, липопротеидов, гликолипидов с высвобождением из них высших жирных кислот и свободных липидов. Основным механизмом липолиза в очаге воспаления является гидролиз липидов липазами и фосфолипазами, высвобождаемыми поврежденными клетками [233]. Под действием фосфолипазы A₂ из фосфолипидов образуются жирные кислоты, арахидоновая в частности, и лизофосфолипиды [121], которые повышают проницаемость мембран клеток. Арахидоновая кислота

метаболизируется до участвующих в воспалительных реакциях ПГ (ЦОГ) и лейкотриенов (5-липооксигеназой). ЦОГ широко представлена в клетках млекопитающих, 5-липооксигеназа ограничена преимущественно нейтрофилами, эозинофилами, моноцитами, макрофагами и тучными клетками [250]. В очаге воспаления лейкотриены вызывают спазм сосудов, особенно артериол, что приводит к ишемии тканей; за счет стимуляции хемотаксиса усиливают инфильтрацию зоны воспаления фагоцитами; повышают проницаемость мембран стенок микрососудов [233]. Согласно данным литературы, ЭМГПС снижает активность фосфолипазы A_2 при панкреатите у собак [239], поэтому можно полагать, что зарегистрированное на модели коллагенового артрита у мышей BALB/c усиление эффекта НПВС диклофенака натрия и эторикоксиба при применении совместно с ЭМГПС обусловлено влиянием ЭМГПС на фосфолипазу A_2 . Другим важным механизмом деструкции липидов в очаге воспаления является интенсификация ПОЛ, которая сопровождается образованием цитотоксических продуктов – гидроперекисей липидов и связана со снижением активности антиоксидантных ферментов [233]. Нами установлено, что в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом на 42 день развития патологического процесса в 1,9 раза снижена активность каталазы. Каталаза – высокоактивный внутриклеточный фермент первой линии антиоксидантной защиты, предотвращающий накопление в клетке перекиси водорода за счет ее окисления до воды и молекулярного кислорода [271], локализована преимущественно в пероксисомах клетки и цитоплазме [289]. Активность другого внутриклеточного фермента антиоксидантной защиты глутатионпероксидазы в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом на 42 день развития патологического процесса, в отличие от активности каталазы, повышена. Глутатионпероксидаза обладает широкой субстратной специфичностью по отношению к гидроперекисям [287], она обезвреживает их и предупреждает образование гидроперекисей жирных кислот за счет окисления перекиси водорода до воды и молекулярного кислорода [276]. ЭМГПС, диклофенак натрия, эторикоксиб и НПВС с ЭМГПС при ежедневном пероральном введении в течение 21 дня препятствуют снижению активности каталазы и значимо не влияют на активность глутатионпероксидазы в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом.

В сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом на 42 день после первой инъекции коллагена с ПАФ зарегистрировано значимое снижение (на 26%) концентрации малонового диальдегида (МДА). МДА – вторичный продукт ПОЛ, уровень которого повышается при остром экссудативном воспалении [258], а при хроническом воспалении может снижаться. Так, снижение концентрации МДА зарегистрировано у пациентов с псориазом [190]. МДА высоко реакционноспособен, причем его реакционная способность возрастает при уменьшении pH. МДА вступает в реакции с образованием оснований Шиффа [50], вследствие

чего формируются сшивки между белками, белками и фосфолипидами. Функции белков нарушаются, мембраны клеток деформируются, в мембранах образуются сквозные каналы, что приводит к цитолизу. В совокупности из-за интенсификации реакций ПОЛ при воспалении происходит существенное повреждение и гибель клеток [233]. МДА может метаболизироваться до ацетальдегида; аддукты, образованные этими альдегидами с белками и липопротеинами, высокоиммуногенны и повышают экспрессию молекул адгезии, интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли альфа в эндотелиальных клетках и макрофагах [45]. Мы полагаем, что снижение уровня МДА в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом на 42 день после первой инъекции коллагена с ПАФ происходит за счет участия этого вторичного продукта ПОЛ в реакциях образования оснований Шиффа. Диклофенак натрия и эторикокиб при комбинированном применении с ЭМГПС, эторикокиб *per se* значительно повышают уровень МДА по сравнению с группой мышей BALB/c с коллагеновым артритом, которым не вводили препараты, что мы связываем с наблюдаемой в эксперименте способностью препаратов замедлять манифестацию клинических признаков артрита у животных.

В сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом, которым не вводили препараты, на 42 день после первой инъекции коллагена с ПАФ регистрировали значимое повышение концентрации оксипролина. Оксипролин – аминокислота, которая входит в состав коллагена и является одним из самых изученных и доступных для исследования маркеров деградации коллагена [298]. Диклофенак натрия, ЭМГПС и их комбинация значительно снижали повышенную концентрацию оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом. Известно, что окислительный стресс приводит к повреждению хондроцитов и является одним из звеньев в патогенезе остеоартрита [124], поэтому снижение уровня оксипролина, зарегистрированное при введении ЭМГПС, диклофенака натрия и при их комбинированном применении, возможно, является следствием антиоксидантного действия препаратов. Эторикокиб, напротив, повышает уровень оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом, а его введение совместно с ЭМГПС не оказывает значимого влияния на концентрацию оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом. Известно, что эторикокиб влияет на микроструктуру и биомеханические свойства субхондральной кости и способствует потере ее массы у мышей с моделью ранней стадии остеоартрита [123]. В проведенном нами исследовании установлено, что ежедневное пероральное введение эторикокиба (1 мг/кг) мышам BALB/c без экспериментальной патологии в течение 21 дня приводит к повышению концентрации вторичного продукта ПОЛ МДА в сыворотке крови, который, за счет образования оснований Шиффа, может нарушать целостность мембран клеток, в том числе хондроцитов.

Усиливающее действие ЭМГПС на противовоспалительный эффект НПВС зависит от доз препаратов и длительности их применения – на описанных выше моделях каррагинанового отека и коллагенового артрита оно проявляется при однократном и курсовом введении НПВС в дозе 1 мг/кг совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг. ЭМГПС при превентивном десятидневном пероральном введении в более высокой дозе 100 мг/кг в сочетании с диклофенаком натрия в дозе 5 мг/кг хотя и усиливает антиэкссудативное действие диклофенака натрия, но не повышает антиэкссудативный эффект по сравнению с эффектом комбинированного применения этих препаратов при однократном внутривнутрибрюшинном введении. При этом десятидневное пероральное введение диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг при комбинированном применении с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг с приводит к значимому снижению массы тела животных, а превентивное десятидневное пероральное введение только ЭМГПС в дозе 100 мг/кг усиливает выраженность каррагинанового отека у крыс. В исследованиях *in vitro* установлено, что диклофенак натрия оказывает дозозависимый прооксидантный эффект в реакции Фентона, зарегистрированный хемилюминисцентным методом, а ЭМГПС в концентрации 250 мкМ или 25 мкМ совместно с диклофенаком натрия в концентрациях соответственно 50 мкМ, 100 мкМ или 10 мкМ уменьшает пик хемилюминесценции, который пропорционален скорости свободнорадикальных реакций, по сравнению с использованием только НПВС, но при этом увеличивает длительность и квантовый выход хемилюминесценции. Значимых изменений кинетики хемилюминесценции не происходит при применении ЭМГПС в концентрации 25 мкМ с диклофенаком натрия в концентрации 1 мкМ, что подтверждает целесообразность применения препаратов в малых дозах [257].

Зарегистрированное в проведенном исследовании усиление противоболевого и противовоспалительного эффекта диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг при введении их совместно с ЭМГПС в дозе 25 мг/кг не сопровождается усилением побочного действия НПВС. Влияние ЭМГПС на выраженность ulcerогенного действия НПВС оценено на модели гастротоксичности у крыс, вызванной трехдневным пероральным введением ацетилсалициловой кислоты в дозе 150 мг/кг [282]. Этот вариант модели вызванной ацетилсалициловой кислотой гастротоксичности характеризуется меньшей степенью повреждения слизистой оболочки желудка, чем модель ulcerогенеза, вызванная пятидневным введением ацетилсалициловой кислоты в дозе 150 мг/кг [247], что позволяет зарегистрировать усугубление гастротоксичности. Установлено, что вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность дозозависимо усиливают и неселективный ингибитор ЦОГ диклофенак натрия, и селективный ингибитор ЦОГ-2 эторикоксиб. Так, одно- или трехдневное введение этих НПВС в дозе 1 мг/кг не усугубляет вызванную ацетилсалициловой кислотой гастротоксичность у крыс. А трехдневное введение эторикоксиба в дозе 10 мг/кг или одно- или

трехдневное введение диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг значительно усиливает выраженность повреждений слизистой оболочки животных. Состояние слизистой оболочки желудка крыс при введении им ацетилсалициловой кислоты и ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с диклофенаком натрия или эторикооксибом в дозах 1 и 10 мг/кг (однократно и в течение трех дней) значительно не отличается от состояния слизистой оболочки желудка крыс, которым вводят только ацетилсалициловую кислоту. Эти результаты согласуются с данными [282] о том, что ЭМГПС при превентивном пероральном введении в дозе 50 мг/кг в течение 5 дней до индукции ульцерогенеза оказывает гастропротективный эффект у крыс с вызванной трехдневным введением ацетилсалициловой кислоты гастротоксичностью. Этот эффект ЭМГПС, вероятно всего, обусловлен его антиоксидантным действием, так как вызываемая ингибиторами ЦОГ митохондриальная дисфункция, сопровождающаяся гиперпродукцией АФК, наряду со снижением образования гастропротекторных ПГ, рассматривается механизмом возникновения повреждений ЖКТ [138, 192]. ЭМГПС при курсовом введении стимулирует сукцинат/SUCNR1-опосредованный церебральный митохондриогенез в коре головного мозга крыс [262], поэтому возможно, что влияние ЭМГПС на митохондриогенез также является одним из компонентов механизма снижения выраженности НПВС-индуцированной гастротоксичности при его введении в сочетании с НПВС.

В проведенном исследовании установлено, что диклофенак натрия и эторикоксиб при курсовом пероральном введении в течение трех недель повышают АД у крыс: диклофенак натрия в дозе 5 мг/кг – только диастолическое, эторикоксиб в дозе 1 мг/кг и 10 мг/кг – и систолическое, и диастолическое АД. В программе клинических исследований MEDAL (многонациональная программа оценки долгосрочного назначения эторикоксиба и диклофенака при артрите) установлено, что частота возникновения вазоренальных побочных эффектов, в том числе и повышение АД, выше при назначении пациентам эторикоксиба, чем при применении диклофенака натрия [22]. В клиническом исследовании показано, что у пациентов с острой неспецифической болью в спине, ассоциированной с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений, которым на фоне гипотензивной терапии назначали диклофенак натрия или эторикоксиб, отмечено повышение среднесуточных уровней систолического и диастолического АД [256]. ЭМГПС при курсовом пероральном введении в дозе 25 мг/кг в течение трех недель значимого влияния на АД не оказывает. Его введение в дозе 25 мг/кг в течение трех недель совместно с диклофенаком натрия в дозе 1 мг/кг не приводит к повышению АД, а совместно с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг – предупреждает повышение АД у крыс. Этот эффект ЭМГПС объясняется способностью препарата улучшать микроциркуляцию, реологические свойства крови, а также его метаболитным действием. Известно, что

назначение ЭМГПС совместно с бисопрололом способствует более эффективной коррекции АД у пациентов, что приводит к уменьшению дозы бисопролола [281].

Курсовое применение диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг и эторикоксиба в дозе 10 мг/кг приводит к изменению гематологических показателей и снижению массы тела крыс. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг в сочетании с диклофенаком натрия и эторикоксибом в дозе 1 мг/кг не усиливает негативных эффектов НПВС на эти показатели.

НЯ при приеме НПВС обусловлены, прежде всего, их периферическим действием. Вместе с тем, ЦОГ-1 и ЦОГ-2 экспрессируются в головном мозге [93, 164], и в клинических исследованиях выявлена способность селективного ингибитора ЦОГ-2 целекоксиба повышать эффективность ингибиторов обратного захвата серотонина: флуоксетина [182], сертралина [1], флувоксамина [188]. Однако результаты других исследований свидетельствуют о повышении риска возникновения депрессий при применении пациентами ингибиторов ЦОГ, за исключением ацетилсалициловой кислоты [82, 95]. Известно, что индометацин при однократном введении в дозе 10 мг/кг может повышать уровень тревожности мышей BALB/c, что связывают с его способностью ингибировать синтез позитивного модулятора ГАМК_A-рецептора аллопрегнанола (5 α -прегнан-3 α -ол-20-она) [305].

В диссертационном исследовании оценено влияние НПВС *per se* и при комбинированном применении с ЭМГПС при их однократном и курсовом (15 дней) пероральном введении на поведение животных в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт». Установлено, что диклофенак натрия и эторикоксиб при однократном пероральном введении в дозе 10 мг/кг, но не в дозе 1 мг/кг, снижают двигательную активность, но не влияют на тревожность крыс. ЭМГПС при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг *per se* и совместно с НПВС в дозе 1 мг/кг не влияет на поведение крыс в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

В головном мозге ПГЕ₂ при связывании с рецепторами ПГ EP2 и EP4 активирует протеинкиназу А (РКА) [225], которая фосфорилирует GluR1 субъединицу AMPA рецептора, что приводит к усилению транспорта рецептора на мембраны нейронов и глии [120]. В свою очередь, введение AMPA в вентральную область покрышки вызывает увеличение уровня дофамина и глутамата, сопровождающееся повышением двигательной активности крыс [108]. Поэтому мы предполагали, что снижение двигательной активности крыс при однократном введении ингибиторов ЦОГ диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 10 мг/кг в тесте «Открытое поле» может быть обусловлено уменьшением уровня ПГЕ₂, и при курсовом введении этот эффект усилится, но этого не произошло. Результаты оценки влияния диклофенака натрия (1 мг/кг и 5 мг/кг) и эторикоксиба (1 мг/кг и 10 мг/кг) при курсовом введении на поведение животных свидетельствуют о том, что только диклофенак натрия в дозе

5 мг/кг значительно снижает ориентировочно-исследовательскую активность в тесте «Открытое поле» и вызывает моторный дефицит в тесте «Вращающийся стержень» у крыс. ЭМГПС в дозе 25 мг/кг, диклофенак натрия в дозе 1 мг/кг при курсовом введении *per se* и при комбинированном применении не вызывают значимого снижения ориентировочно-исследовательской активности и моторный дефицит у животных. Однако ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с эторикоксибом в дозе 1 мг/кг снижает локомоторную активность крыс в тесте «Вращающийся стержень» в отсутствие значимых отклонений ориентировочно-исследовательского поведения и тревожности животных. Учитывая, что при введении эторикоксиба в дозе 10 мг/кг зарегистрировано незначимое снижение ЛП падения крыс с установки «Вращающийся стержень» и числа заходов в закрытые рукава установки «Приподнятый крестообразный лабиринт», возможно, ЭМГПС за счет модулирующего действия на мембраносвязанные рецепторы усиливает влияние эторикоксиба на поведение крыс, что требует дальнейшей экспериментальной оценки.

Таким образом, результаты диссертационного исследования (таблица 36) свидетельствуют о том, что ЭМГПС при однократном и курсовом пероральном применении в дозе 25 мг/кг, в которой не проявляет антиэкссудативной и противоболевой активности, усиливает противовоспалительный и противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба (1 мг/кг), что позволяет существенно уменьшить их дозу (до 10 раз). Повышение противоболевого эффекта НПВС (1 мг/кг) при их применении совместно с ЭМГПС (25 мг/кг) проявляется как усилением снижения обусловленной воспалением соматической и висцеральной боли, так и расширением спектра действия, так как у НПВС при комбинированном применении с ЭМГПС, в отличие от НПВС *per se*, появилась способность непосредственно (не за счет противовоспалительного действия) влиять на афферентные ноцицептивные нейроны. Это выявлено в формалиновом тесте у крыс: НПВС (1 мг/кг) с ЭМГПС (25 мг/кг) значительно снижают боль в острую фазу формалиновой боли, вызванную действием формалина на ионный канал TRPA1 афферентных нейронов [58]. ЭМГПС (25 мг/кг) при курсовом пероральном введении совместно с НПВС (1 мг/кг) усиливает не только выраженность антиэкссудативного и противоболевого действия НПВС, но и их влияние на развитие клинических признаков артрита у мышей BALB/c с коллагеновым артритом. При этом установлено, что однократное и курсовое применение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг совместно с НПВС в дозе 1 мг/кг не приводит к усилению выраженности побочного действия НПВС: ульцерогенного действия, влияния на АД, гематологические показатели, массу тела и ориентировочно-исследовательское поведение животных. Более того, пероральное введение ЭМГПС в дозе 25 мг/кг в течение 21 дня совместно с эторикоксибом предупреждает повышение АД у крыс. Однако курсовое комбинированное применение диклофенака натрия в

дозе 5 мг/кг с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг не увеличивает выраженность антиэкссудативного эффекта по сравнению с однократным применением, и при курсовом использовании диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг с ЭМГПС в дозе 100 мг/кг зарегистрировано усиление побочного действия неселективного ингибитора ЦОГ. Это свидетельствует в пользу комбинированного применения ЭМГПС с НПВС с целью повышения их эффективности в малых дозах и согласуется с экспериментальными данными, полученными *in vitro* [257].

Результаты, полученные в диссертационном исследовании, обосновывают перспективу дальнейшего изучения эффективности комбинированного применения НПВС и ЭМГПС, в частности при ноцицептивной и периферической нейропатической боли.

Таблица 36 – Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината (ЭМГПС) на эффекты диклофенака натрия и эторикоксиба

Эффект	Модель	Введение (per os)	Статистически значимое действие препаратов*, дозы (мг/кг)						
			ЭМГПС 25	Диклофенак 1	Диклофенак 5 (при курс. введении)/10	Диклофенак 1 + ЭМГПС 25	Эторикоксиб 1	Эторикоксиб 10	Эторикоксиб 1+ ЭМГПС 25
Противоболевой	Укусные корчи	1 раз	-	+	0	+	+	+	++
	Формалиновая боль: острая фаза		-	-	+	+	-	-	+
	тоническая фаза	-	+	+	+	+	+	+	
	Гипералгезия при остром экссудативном воспалении	1/2 раза	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	Послеоперационная гипералгезия	курс	-	-	-	+	-	+	+
Гипералгезия при артрите	-		-	0	+	-	0	+	
Противо- воспалительный	Каррагинановый отек (мышы)	1 раз	-	+	+	++	+	+	++
	Каррагинановый отек (крысы)		-	+	+	++	+	+	+
	Коллагеновый артрит: отек плюсны клинические признаки (длительность эффекта, дни)	курс	- + (3)	+ -	0 0	+ (7) + (3)	- + (3)	0 0	+ (7) + (17)
Побочный	Усиление вызванной ацетилсалициловой кислотой гастротоксичности	1/3 раза	-/-	-/-	+/+	-/-	-/-	-/+	-/-
	Повышение артериального давления	курс	-	-	+	-	+	+	-
	Изменение показателей общего анализа крови		-	-	+	-	-	+	-
	Снижение массы тела		-	-	+	-	-	+	-
	Снижение двигательной активности крыс в тесте «Открытое поле»	1 раз	-	-	+	-	-	+	-
		курс	-	-	+	-	-	-	-
Снижение локомоторной активности крыс в тесте «Вращающийся стержень»	курс	-	-	+	-	-	-	+	

Примечание – * - «+»/«-» - значимый эффект/его отсутствие по сравнению с контролем; «++» - значимый эффект по сравнению с соответствующим НПВС в дозе 1 мг/кг; «0» - не изучено.

ВЫВОДЫ

1. Этилметилгидроксипиридина сукцинат (ЭМГПС) при однократном пероральном введении в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг усиливает противоболевой эффект эторикоксиба (1 мг/кг) и в дозах 12,5 мг/кг и 25 мг/кг – противоболевой эффект диклофенака натрия (0,5 мг/кг) на модели острой висцеральной боли у мышей; при однократном пероральном введении в дозе 25 мг/кг повышает противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба в дозе 1 мг/кг в формалиновом тесте у крыс, обеспечивая появление противоболевого эффекта в острую фазу боли, и усиливает эффект диклофенака натрия (1 мг/кг) в тесте механической гипералгезии при воспалении у крыс.

2. ЭМГПС (25 мг/кг, перорально, ежедневно, 4 дня, 2 раза в день) усиливает противоболевое действие диклофенака натрия и эторикоксиба (1 мг/кг, перорально, ежедневно, 4 дня, 2 раза в день) на модели послеоперационной гипералгезии у крыс.

3. ЭМГПС (25 мг/кг, перорально, однократно) усиливает антиэкссудативный эффект диклофенака натрия и эторикоксиба (1 мг/кг, перорально, однократно) у крыс и мышей. ЭМГПС при однократном и превентивном курсовом (10 дней) внутрибрюшинном введении в дозе 100 мг/кг крысам усиливает антиэкссудативный эффект диклофенака натрия (5 мг/кг) на модели каррагинанового отека.

4. На модели коллагенового артрита у мышей BALB/c ЭМГПС (25 мг/кг, перорально) усиливает антиэкссудативный и противоболевой эффект диклофенака натрия и эторикоксиба (1 мг/кг, перорально) и вызывает снижение клинических признаков артрита. В отличие от эторикоксиба, повышающего уровень оксипролина в сыворотке крови мышей BALB/c с коллагеновым артритом, ЭМГПС, диклофенак натрия *per se* и при комбинированном применении снижают его, ЭМГПС при комбинированном введении с эторикоксибом не влияет на концентрацию оксипролина.

5. ЭМГПС (25 мг/кг) при комбинированном пероральном применении с диклофенаком натрия или эторикоксибом в дозах 1 и 10 мг/кг не влияет на слизистую оболочку желудка крыс с вызванной ацетилсалициловой кислотой гастротоксичностью.

6. ЭМГПС (25 мг/кг) и диклофенак натрия (1 мг/кг) при комбинированном пероральном применении не вызывают изменений гематологических показателей и артериального давления у крыс. ЭМГПС (25 мг/кг) и эторикоксиб (1 мг/кг) при комбинированном пероральном применении не влияют на гематологические показатели и массу тела животных и, в отличие эторикоксиба (1 мг/кг) *per se*, не повышают артериальное давление у крыс.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные в ходе диссертационного исследования данные свидетельствуют о целесообразности клинического исследования комбинированного применения этилметилгидроксипиридина сукцината и НПВС в малых дозах при ноцицептивной висцеральной и соматической боли и воспалении, в частности при артритах, с целью оценки способности этилметилгидроксипиридина сукцината повышать терапевтический эффект и снижать побочные эффекты НПВС.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АД – артериальное давление
- АФК – активные формы кислорода
- ДТНБ – 5,5'-дитиобис (2-нитробензойная кислота)
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ИЛ – интерлейкин
- ИПН – ингибиторы протонного насоса
- ЛП – латентный период
- ЛПС – липополисахарид
- МДА – малоновый диальдегид
- НПВС – нестероидные противовоспалительные средства
- НЯ – нежелательные явления
- ОИР – ориентировочно-исследовательская реакция
- ПАФ – полный адъювант Фрейнда
- ПГ – простагландин
- ПОЛ – перекисное окисление липидов
- СОД – супероксиддисмутазы
- СРО – свободнорадикальное окисление
- ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота
- ФАД – флавиноадениндинуклеотид
- ЦОГ – циклооксигеназа
- ЭМГПС – этилметилгидроксипиридина сукцинат
- DAMP – Damage-associated molecular patterns
- HIF-1 α – фактор, индуцируемого гипоксией, 1 α
- МСТ – монокарбоксилатный транспортер
- NETs – Neutrophil extracellular traps
- NO – оксида азота
- TLR4 – Толл-подобный рецептор
- TNF- α – фактор некроза опухоли альфа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Abbasi, S.H. Effect of celecoxib add-on treatment on symptoms and serum IL-6 concentrations in patients with major depressive disorder: randomized double-blind placebo-controlled study / S.H. Abbasi, F. Hosseini, A. Modabbernia, M. Ashrafi, S. Akhondzadeh // *Journal of Affective Disorders*. – 2012 – Vol. 141, № 2-3. – P. 308-314.
2. Abd-Allah, A.A.M. Mast cells and pro-inflammatory cytokines roles in assessment of grape seeds extract anti-inflammatory activity in rat model of carrageenan-induced paw edema / A.A.M. Abd-Allah, N.A.M.N. El-Deen, W.A.M. Mohamed, F.M. Naguib // *Iranian journal of basic medical sciences*. – 2018. – Vol. 21, № 1. – P. 97-107
3. Altman, R. Advances in NSAID development: evolution of diclofenac products using pharmaceutical technology / R. Altman, B. Bosch, K. Brune, P. Patrignani, C. Young // *Drugs*. – 2015. – Vol. 75, № 8. – P. 859-877.
4. Andrienko, T.N. The role of succinate and ros in reperfusion injury - a critical appraisal / T.N. Andrienko, P. Pasdois, G.C. Pereira, M.J. Ovens, A.P. Halestrap // *Journal of molecular and cellular cardiology*. – 2017. – Vol. 110. – P. 1-14.
5. Angeli, V. Role of the parasite-derived prostaglandin D2 in the inhibition of epidermal Langerhans cell migration during schistosomiasis infection / V. Angeli, C. Faveeuw, O. Roye, J. Fontaine, E. Teissier, A. Capron, I. Wolowczuk, M. Capron, F. Trottein // *The Journal of experimental medicine*. – 2001. – Vol. 193, № 10. – P. 1135-1147.
6. Antman, EM. Evaluating the Cardiovascular Safety of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs / EM. Antman // *Circulation* – 2017. Vol. 135, № 21. – P. 2062-2072.
7. Ariza, A. The succinate receptor as a novel therapeutic target for oxidative and metabolic stress-related conditions / A.C. Ariza, P.M. Deen, J.H. Robben // *Frontiers in endocrinology*. – 2012. – Vol. 3. – P. 22.
8. Atallah, R. Succinate at the crossroad of metabolism and angiogenesis: Roles of SDH, HIF1alpha and SUCNR1 / R. Atallah, A. Olschewski, A. Heinemann // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10, № 12. – P. 3089.
9. Augello, A. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis / A. Augello, R. Tasso, S.M. Negrini, R. Cancedda, G. Pennesi // *Arthritis and rheumatism*. – 2007. - V. 56, № 4. – P. 1175-1186.
10. Bae, D.K. Different antiulcer activities of pantoprazole in stress, alcohol and pylorus ligation-induced ulcer models / D.K. Bae, D. Park, S. H. Lee, G. Yang, Y.H. Yang, T.K. Kim, Y.J. Choi, J.J. Kim, J.H. Jeon, M.J. Jang, E.K. Choi, S.Y. Hwang, Y.B. Kim. // *Laboratory Animal Research*. – 2011. – Vol. 27, № 1. – P. 47-52.

11. Bauer, H. Therapie mit nichtsteroidalen antirheumatika (NSAR) [Therapy with nonsteroidal anti-inflammatory drugs] / H. Bauer, E. Marker -Hermann // *Der Orthopade*. – 2003. – Vol. 32, № 12. – P. 1088-1094.
12. Benjamini, Y. Controlling the false discovery rate: practical and powerful approach to multiple testing / Y. Benjamini, Y. Hochberg // *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*. – 1995. – Vol. 57, № 1. – P. 289-300
13. Berryman, G. K. Amniotic fluid prostaglandin D2 in spontaneous and augmented labor / G.K. Berryman, D.M. Strickland, G.D. Hankins, M.D. Mitchell // *Life sciences*. – 1987. – Vol. 41, № 13. – P. 1611-1614.
14. Biermann, M.H. Oxidative burst-dependent netosis is implicated in the resolution of necrosis-associated sterile inflammation / M.H. Biermann, M.J. Podolska, J. Knopf, C. Reinwald, D. Weidner, C. Maueroeder, J. Hahn, D. Kienhofer, A. Barras, R. Boukherroub, S. Szunerits, R. Bilyy, M. Hoffmann, Y. Zhao, G. Schett, M. Herrmann, L.E. Munoz // *Frontiers in immunology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 557.
15. Bisbach, C.M. Monocarboxylate transporter 1 (MCT1) mediates succinate export in the retina / C.M. Bisbach, D.T. Hass, E.D. Thomas, T.J. Cherry, J.B. Hurley // *Investigative ophthalmology and visual science*. – 2022. – Vol. 63, № 4. – P. 1.
16. Blikslager, A.T. Prostaglandins I2 and E2 have a synergistic role in rescuing epithelial barrier function in porcine ileum / A.T. Blikslager, M.C. Roberts, J.M. Rhoads, R.A. Argenzio // *The Journal of clinical investigation*. – 1997. – Vol. 100, № 8. – P. 1928-1933.
17. Bonnegard, B. Luteotropic effects of prostaglandins I2 and D2 on isolated human corpora luteum / B. Bonnegard, M. Hahlin, L. Hamberger // *Fertility and sterility*. – 1990. – Vol. 54, № 3. – P. 459-464.
18. Brater, D.C. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on renal function: focus on cyclooxygenase-2-selective inhibition / Brater D.C. // *The American journal of medicine*. – 1999. – Vol. 107, № 6A. – P. 65S-71S.
19. Brennan, T.J. Characterization of a rat model of incisional pain / T.J. Brennan, E.P. Vandermeulen, G.F. Gebhart // *Pain*. – 1996. – Vol. 64, № 3. – P. 493-501.
20. Brooks, J. Prevention of upper gastrointestinal haemorrhage: current controversies and clinical guidance / J. Brooks, R. Warburton, IL. Beales // *Therapeutic Advances in Chronic Disease* – 2013. Vol. 4, № 5. – P. 206-222.
21. Cambroner, J.C., Rivas J., Borrell J. et al.- Role of arachidonic acid metabolism on corticotropin-releasing factor (CRF)-release induced by interleukin-1 from superfused rat hypothalamus // *J. Neuroimmunol.* - 1992, Vol. 39, – P. 57-66.

22. Cannon, C.P. Cardiovascular outcomes with etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis in the Multinational Etoricoxib and Diclofenac Arthritis Long-term (MEDAL) programme: a randomised comparison / C.P. Cannon, S.P. Curtis, G.A. FitzGerald, H. Krum, A. Kaur, J.A. Bolognese, A.S. Reicin, C. Bombardier, M.E. Weinblatt, D. van der Heijde, E. Erdmann, L. Laine, MEDAL Steering Committee // *Lancet*. – 2006 – Vol. 368, № 9549. – P. 1771-1781.
23. Castro, L. Aconitase is readily inactivated by peroxy nitrite, but not by its precursor, nitric oxide / L. Castro, M. Rodriguez, R. Radi // *The Journal of biological chemistry*. – 1994. – Vol. 269, № 47. – P. 29409-29415.
24. Cesare, P. A novel heat-activated current in nociceptive neurons and its sensitization by bradykinin / P. Cesare, P. McNaughton // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 1996. – Vol. 93, № 26. – P. 15435-15439.
25. Cheung, K.S. Gastrointestinal bleeding in patients on novel oral anticoagulants: Risk, prevention and management. / K.S. Cheung, W.K. Leung // *World journal of gastroenterology*. – 2017. – Vol. 23, № 11. – P. 1954-1963.
26. Chronic kidney disease: assessment and management (NG203) / National Institute for Health and Care Excellence (NICE) // Режим доступа: <https://www.nice.org.uk/guidance/ng203>.
27. Chuang, H.H. Bradykinin and nerve growth factor release the capsaicin receptor from PtdIns(4,5)P₂-mediated inhibition / H.H. Chuang, E.D. Prescott, H. Kong, S. Shields, S-E. Jordt, A.I. Basbaum, M.V. Chao, D. Julius // *Nature*. – 2001. – Vol. 411, № 6840. – P. 957-962.
28. Clark, D.W. Do some inhibitors of COX-2 increase the risk of thromboembolic events?: Linking pharmacology with pharmacoepidemiology / D.W. Clark, D. Layton, S.A. Shakir // *Drug safety*. – 2004. – Vol. 27, № 7. – P. 427-456
29. Connors, J. The role of succinate in the regulation of intestinal inflammation / J. Connors, N. Dawe, J. Van Limbergen // *Nutrients*. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 25.
30. Coutaux, A. Hyperalgesia and allodynia: peripheral mechanisms / A. Coutaux, F. Adam, J.-C. Willer, D. Le Bars // *Joint Bone Spine*. – 2005. – Vol. 72, № 5. – P. 359-371.
31. Crofford, L.J. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions / L.J. Crofford // *The Journal of rheumatology*. – 1997. – Vol. 49. – P. 15-19.
32. Croom, K.F. Etoricoxib: a review of its use in the symptomatic treatment of osteoarthritis, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis and acute gouty arthritis / K.F. Croom, M.A. Siddiqui // *Drugs*. – 2009. – Vol. 69, № 11. – P. 1513-1532.
33. Crow, J.P. Sensitivity of the essential zinc-thiolate moiety of yeast alcohol dehydrogenase to hypochlorite and peroxy nitrite / J.P. Crow, J.S. Beckman, J.M. McCord // *Biochemistry*. – 1995. – Vol. 34, № 11. – P. 3544-3552.

34. Cruz, C.M. ATP activates a reactive oxygen species- dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages / C.M. Cruz, A. Rinna, H.J. Forman, A.L. Ventura, P.M. Persechini, D.M. Ojcius // *Journal of biological chemistry*. – 2007. – Vol. 282, № 5. – P. 2871-2879.
35. Da Costa B.R. Effectiveness of non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of pain in knee and hip osteoarthritis: a network meta-analysis / B.R. da Costa, S. Reichenbach, N. Keller, L. Nartey, S. Wandel, P. Juni, S. Trelle // *Lancet*. – 2017. – Vol. 390, № 10090. – P. e21-e33
36. Dalla Pozza, E. Regulation of succinate dehydrogenase and role of succinate in cancer / E. Dalla Pozza, I. Dando, R. Pacchiana, E. Liboi, M.T. Scupoli, M. Donadelli, M. Palmieri // *Seminars in cell and developmental biology*. – 2020. – Vol. 98. – P. 4-14.
37. Denko, N. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour / N. Denko // *Nature reviews. Cancer*. – 2008. – Vol. 8, № 9. – P. 705-713.
38. Deray, G. Renal and cardiovascular effects of nonsteroidal anti-inflammatories and selective COX 2 inhibitors / G. Deray // *Presse medicale* – 2004. Vol. 33, № 7. – P. 483-489.
39. Derry, S. Topical NSAIDs for chronic musculoskeletal pain in adults / S. Derry, P. Conaghan, J.A.P. Da Silva, P.J. Wiffen, R.A. Moore // *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2016. – Vol. 4, № 4. – CD007400.
40. Deutsch, D. Direct oral anticoagulants and digestive bleeding: therapeutic management and preventive measures / D. Deutsch, C. Boustière, E. Ferrari, P. Albaladejo, P.E. Morange, R. Benamouzig // *Therapeutic advances in gastroenterology*. – 2017. – Vol. 10, № 6. – P. 495-505.
41. Dias, I.H.K. Inflammation, Lipid (Per)oxidation, and Redox Regulation / I.H.K. Dias, I. Milic, C. Heiss, O.S. Ademowo, M.C. Polidori, A. Devitt, H.R. Griffiths // *Antioxidants and redox signaling*. – 2020. – Vol. 33, № 3. – P. 166-190.
42. Diaz, B.L. Regulation of prostaglandin endoperoxide synthase-2 and IL-6 expression in mouse bone marrow-derived mast cells by exogenous but not endogenous prostanoids / B.L. Diaz, H. Fujishima, Y. Kanaoka, Y. Urade, J.P. Arm // *Journal of immunology* – 2002. – Vol. 168. – P. 1397-1404.
43. Dostert, C. Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica / C. Dostert, V. Pétrilli, R. Van Bruggen, C. Steele, B. T. Mossman, J. Tschopp // *Science*. – 2008. – Vol. 320, № 5876. – P. 674–677.
44. Dunston, C.R. The effect of ageing on macrophage Toll-like receptor- mediated responses in the fight against pathogens / C.R. Dunston, H.R. Griffiths // *Clinical and experimental immunology*. – 2010. – Vol. 161, № 3. – P. 407-416.
45. Duryee, M.J. Malondialdehyde-acetaldehyde modified (MAA) proteins differentially effect the inflammatory response in macrophage, endothelial cells and animal models of

cardiovascular disease / M.J. Duryee, D.L. Clemens, P.J. Opperman, G.M. Thiele, L.M. Duryee, R.P. Garvin, D.R. Anderson // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 23. – P. 12948

46. Edens, W. A. Tyrosine cross-linking of extracellular matrix is catalyzed by Duox, a multidomain oxidase/oxidoreductase with homology to the phagocyte oxidase subunit gp91phox / W.A. Edens, L. Sharling, G. Cheng, R. Shapira, J.M. Kinkade, T. Lee, H.A. Edens, X. Tang, C. Sullards, D.B. Flaherty, G.M. Benian, J.D. Lambeth. // *Journal of cell biology*. – 2001. – Vol. 154, № 4. – P. 879-891.

47. Edmonds, S.E. Putative analgesic activity of repeated oral doses of vitamin E in the treatment of rheumatoid arthritis. Results of a prospective placebo controlled double blind trial / S.E. Edmonds, P.G. Winyard, R. Guo, B. Kidd, P. Merry, A. Langrish-Smith, C. Hansen, S. Ramm, D.R. Blake // *Annals of the rheumatic diseases*. – 1997. – Vol. 56, № 11. – P. 649-655.

48. Ekambaram, P. The thromboxane synthase and receptor signaling pathway in cancer: an emerging paradigm in cancer progression and metastasis / P. Ekambaram, W. Lambiv, R. Cazzolli, A.W. Ashton, K.V. Honn // *Cancer Metastasis Reviews*. – 2011. – Vol. 30, № 3-4. – P. 397-408.

49. Eling, T.E. Xenobiotic metabolism by prostaglandin H synthase / T.E. Eling, J.F. Curtis // *Pharmacology and therapeutics*. – 1992. – Vol. 53, № 2. – P. 261-273.

50. Esterbauer H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes / H. Esterbauer, R.J. Schaur, H. Zollner // *Free radical biology and medicine*. – 2011. – V. 11, № 1. – P. 81–128

51. European Medicines Agency. Scientific evaluation of etoricoxib containing medicinal products. Etoricoxib – Article 31 referral – Annex I, II, III; 2008. / Режим доступа: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/referrals/etoricoxib>

52. Feniouk, B.A. Cellular and molecular mechanisms of action of mitochondria-targeted antioxidants / B.A. Feniouk, V.P. Skulachev // *Current aging science*. – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 41-48.

53. Fernández-Veledo, S. Rethinking succinate: an unexpected hormone-like metabolite in energy homeostasis / S. Fernández-Veledo, V. Ceperuelo-Mallafré, J. Vendrell // *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. – 2021. – Vol. 32, № 9. – P. 680-692.

54. Fernandez-Araque, A. Effects of antioxidants on pain perception in patients with fibromyalgia-a systematic review / A. Fernández-Araque, Z. Verde, C. Torres-Ortega, M. Sainz-Gil, V. Velasco-Gonzalez, J.J. González-Bernal, J. Mielgo-Ayuso // *Journal of clinical medicine*. – 2022. – Vol. 11, № 9. – P. 2462.

55. Ferreira, S.H. The hyperalgesic effects of prostacyclin and prostaglandin E2 / S.H. Ferreira, M. Nakamura, M.S. de Abreu Castro // *Prostaglandins*. – 1978. – Vol. 16, № 1. – P. 31-37.

56. Ferrer, M.D. Cyclooxygenase-2 inhibitors as a therapeutic target in inflammatory diseases / M.D. Ferrer, C. Busquets-Cortes, X. Capo, S. Tejada, J.A. Tur, A. Pons, A. Sureda // *Current medicinal chemistry*. – 2019. – Vol. 26, № 18. – P. 3225-3241.
57. Fiebich, B.L. Mechanisms of prostaglandin E2-induced interleukin-6 release in astrocytes: possible involvement of EP4-like receptors, p38 mitogen-activated protein kinase and protein kinase C / B. L. Fiebich, S. Schleicher, O. Spleiss, M. Czygan, M. Hull // *Journal of neurochemistry*. – 2001. – Vol. 79. – P. 950-958.
58. Fischer, M. The interphase of the formalin test / M. Fischer, G. Carli, P. Raboisson, P. Reeh // *Pain*. – 2014. – Vol. 155, № 3. – P. 511-524.
59. Fitzgerald, G. A. Coxibs and cardiovascular disease / G.A. Fitzgerald // *The New England journal of medicine*. – 2004. – Vol. 351, № 17. – P. 1709–1711.
60. Foran, E. Glutamate transporters and the excitotoxic path to motor neuron degeneration in amyotrophic lateral sclerosis / E. Foran, D. Trotti // *Antioxidants & redox signaling*. – 2009. – Vol. 11, № 7. – P. 1587-1602.
61. Fosslien, E. Adverse effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the gastrointestinal system / E. Fosslien // *Annals of Clinical & Laboratory Science*. – 1998. – Vol. 28, № 2. – P. 67-81.
62. Fosslien, E. Cardiovascular complications of non-steroidal anti-inflammatory drugs / E. Fosslien // *Annals of clinical and laboratory science*. – 2005. – Vol. 35, № 4. – P. 347-385.
63. Fremder, M. A transepithelial pathway delivers succinate to macrophages, thus perpetuating their pro-inflammatory metabolic state / M. Fremder, S.W. Kim, A. Khamaysi, L. Shimshilashvili, H. Eini-Rider, I.S. Park, U. Hadad, J.H. Cheon, E. Ohana // *Cell reports*. – 2021. – Vol. 36, № 6. – P. 109521.
64. Fries, J.F. The rise and decline of nonsteroidal antiinflammatory drug-associated gastropathy in rheumatoid arthritis / J.F. Fries, K.N. Murtagh, M. Bennett, E. Zatarain, B. Lingala, B. Bruce // *Arthritis and rheumatism*. – 2004. – Vol. 50, № 8. – P. 2433-2440.
65. Fuchs, T.A Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps / T.A. Fuchs, U. Abed, C. Goosmann, R. Hurwitz, I. Schulze, V. Wahn, Y. Weinrauch, V. Brinkmann, A. Zychlinsky. // *The Journal of cell biology*. – 2007. – Vol. 176, № 2. – P. 231-241.
66. Gan T.J. Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile / T. J. Gan // *Current medical research and opinion*. – 2010. – Vol. 26, № 7. – P. 1715-1731.
67. Garcia Rodriguez, L.A. Risk of upper gastrointestinal complications among users of traditional NSAIDs and COXIBs in the general population. L.A. Garcia Rodriguez, L. Barreales Tolosa. *Gastroenterology*. – 2007. – Vol. 132, № 2. – P. 498-506.

68. GBD 2019 diseases and injuries collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 / GBD 2019 diseases and injuries collaborators // *Lancet*. – 2020. – Vol. 396, № 10258. – P. 1204-1222.
69. Gilroy, D.W. Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties / D.W. Gilroy, P.R. Colville-Nash, D. Willis, J. Chivers, M.J. Paul-Clark, D.A. Willoughby // *Nature medicine*. – 1999. – Vol. 5, № 6. – P. 698-701.
70. Gislason, G.H. Risk of death or reinfarction associated with the use of selective cyclooxygenase-2 inhibitors and nonselective nonsteroidal antiinflammatory drugs after acute myocardial infarction / G.H. Gislason, S. Jacobsen, J.N. Rasmussen, S. Rasmussen, P. Buch, J. Friberg, T.K. Schramm, S.Z. Abildstrom, L. Kober, M. Madsen, C.T-P // *Circulation* – 2006. Vol. 113, № 25. – P. 2906-2913.
71. Gomi, K. Prostaglandin E2 selectively enhances the IgE-mediated production of IL-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by mast cells through an EP1/EP3-dependent mechanism / K. Gomi, F.G. Zhu, J.S. Marshall // *Journal of immunology*. – 2000. – Vol. 165. – P. 6545-6552.
72. Gouin, O. TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization / O. Gouin, K. L'Herondelle, N. Lebonvallet, C. Le Gall-Ianotto, M. Sakka, V. Buhé, E. Plée-Gautier, J.L. Carré, L. Lefeuvre, L. Misery, R. Le Garrec // *Protein and cell*. – 2017. – Vol. 8, № 9. – P. 664-661
73. Grimolizzi, F. Multiple faces of succinate beyond metabolism in blood / F. Grimolizzi, L. Arranz // *Haematologica*. – 2018. – Vol. 103, № 10. – P. 1586-1592.
74. Gudgeon, N. Succinate uptake by T cells suppresses their effector function via inhibition of mitochondrial glucose oxidation / N. Gudgeon, H. Munford, E.L. Bishop, J. Hill, T. Fulton-Ward, D. Bending, J. Roberts, D.A. Tennant, S. Dimeloe // *Cell reports*. – 2022. – Vol. 40, № 7. – P. 111193.
75. Halliwell, B. *Free radicals in Biology and Medicine*. / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge. – Oxford University Press, 2015. – 905 p.
76. Harber, K.J. Succinate is an inflammation-induced immunoregulatory metabolite in macrophages / K.J. Harber, K.E. de Goede, S.G.S. Verberk, E. Meinster, H.E. de Vries, M. van Weeghel, M.P.J. de Winther, J. van den Bossche // *Metabolites*. – 2020. – Vol. 10, № 9. – P. 372.
77. Harirforoosh, S. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications / S. Harirforoosh, W. Asghar, F. Jamali // *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences: a publication of the Canadian Society for*

Pharmaceutical Sciences, Societe canadienne des sciences pharmaceutiques. – 2013. – Vol. 16, № 5. – P. 821-847.

78. Harris, R.C. Cyclooxygenase-2 and the renal renin-angiotensin system / R.C. Harris, M.Z. Zhang, H.F. Cheng // *Acta physiologica Scandinavica*. – 2004. – Vol. 181, № 4. – P. 543-547.

79. He, L. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species / L. He, T. He, S. Farrar, L. Ji, T. Liu, X. Ma // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2017. – Vol. 44, № 2. – P. 532-553.

80. Hochberg, Y. More powerful procedures for multiple significance testing / Y. Hochberg, Y. Benjamini // *Statistics in Medicine*. – 1990. – Vol. 9, № 7. – P. 811-818

81. Hu, B. P2x receptors in trigeminal subnucleus caudalis modulate central sensitization in trigeminal subnucleus oralis / B. Hu, C.Y. Chiang, J.W. Hu, J.O. Dostrovsky, B.J. Sessle // *Journal of Neurophysiology*. – 2002. – Vol. 88, № 4. – P. 1614-1624.

82. Hu, K. Aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs and depression, anxiety, and stress-related disorders following a cancer diagnosis: a nationwide register-based cohort study / K. Hu, A. Sjolander, D. Lu, A.K. Walker, E.K. Sloan, K. Fall, U. Valdimarsdóttir, P. Hall, K.E. Smedby, F. Fang // *BMC medicine*. – 2020. – Vol. 18, № 1. – P. 238.

83. Huang, H. Cellular succinate metabolism and signaling in inflammation: implications for therapeutic intervention / H. Huang, G. Li, Y. He, J. Chen, J. Yan, Q. Zhang, L. Li, X. Cai // *Frontiers in immunology*. – 2024. – Vol. 15. – P. 1404441.

84. Huie, R.E. The reaction of NO with superoxide / R.E. Huie, S. Padmaja // *Free radical research communications*. – 1993. – Vol. 18, № 4. – P. 195-199.

85. Iijima, K. Rebamipide, a cytoprotective drug, increases gastric mucus secretion in human: evaluations with endoscopic gastrin test / K. Iijima, T. Ichikawa, S. Okada, M. Ogawa, T. Koike, S. Ohara, T. Shimosegawa // *Digestive diseases and sciences*. – 2009. – Vol. 54, № 7. – P. 1500-1507.

86. Ito, S. Prostaglandin D2: a biochemical perspective / S. Ito, S. Narumiya, O. Hayaishi // *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*. – 1989. – Vol. 37, № 4. – P. 219-234.

87. Jaafar, M.H. Efficacy of Rebamipide in Organic and Functional Dyspepsia: A Systematic Review and Meta-Analysis / M.H. Jaafar, S.Z. Safi, M.P. Tan, S. Rampal, S. Mahadeva // *Digestive diseases and sciences*. – 2018. – Vol. 63, № 5. – P. 1250-1260.

88. Jones, C. Practical COX-1 and COX-2 pharmacology: What's it all about? / C. Jones // *Pain*. – 2003. – P. 1-5.

89. Jorch, S.K. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease / S.K. Jorch, P. Kubers // *Nature medicine*. – 2017. – Vol. 23, № 3. – P. 279-287.

90. Kallenborn-Gerhardt, W. NOXious signaling in pain processing / W. Kallenborn-Gerhardt, K. Schroder, G. Geisslinger, A. Schmidtko // *Pharmacology and therapeutics*. – 2013. – Vol. 137, № 3. – P. 309-317.
91. Kanai, Y. Participation of the spinal TRPV1 receptors in formalin-evoked pain transduction: a study using a selective TRPV1 antagonist, iodo-resiniferatoxin / Y. Kanai, T. Hara, A. Imai // *The Journal of pharmacy and pharmacology*. – 2006. – Vol. 58, № 4, – P. 489-493.
92. Kanaoka, Y. Cloning and crystal structure of hematopoietic prostaglandin D synthase / Y. Kanaoka, H. Ago, E. Inagaki, T. Nanayama, M. Miyano, R. Kikuno, Y. Fujii, N. Eguchi, H. Toh, Y. Urade, O. Hayaishi // *Cell*. – 1997. – Vol. 90, № 6. – P. 1085-1095.
93. Kaufmann, W.E. Cyclooxygenases and the central nervous system / W.E. Kaufmann, K.I. Andreasson, P.C. Isakson, P.F. Worley // *Prostaglandins*. – 1997. – Vol. 54, № 3. – P. 601-624.
94. Kaur, H. Peroxynitrite-dependent aromatic hydroxylation and nitration of salicylate and phenylalanine. Is hydroxyl radical involved? / H. Kaur, M. Whiteman, B. Halliwell // *Free radical research*. – 1997. – Vol. 26, № 1. – P. 71-82.
95. Kessing, L. New drug candidates for depression - a nationwide population-based study / L.V. Kessing, H.C. Rytgaard, T.A. Gerds, M. Berk, C.T. Ekstrom, P.K. Andersen // *Acta psychiatrica Scandinavica*. – 2018. – Vol. 139, № 1. – P. 68-77.
96. Khasar, S.G. Epinephrine produces a beta-adrenergic receptor-mediated mechanical hyperalgesia and in vitro sensitization of rat nociceptors / S.G. Khasar, G. McCarter, J.D. Levine // *Journal of Neurophysiology*. – 1999. – Vol. 81, № 3. – P. 1104-1112.
97. Kiefer, W. Novel insights and therapeutical applications in the field of inhibitors of COX-2 / W. Kiefer, G. Dannhardt // *Current medicinal chemistry*. – 2004. – Vol. 11, № 24. – P. 3147-3161.
98. Kim, K.H. All about pain pharmacology: what pain physicians should know / K.H. Kim, H.J. Seo, S. Abdi, B. Huh // *The Korean journal of pain*. – 2020. – Vol. 33, № 2. – P. 108-120.
99. Kim, S.O. Estrogen promotes luteolysis by redistributing prostaglandin F_{2α} receptors within primate luteal cells / S.O. Kim, N. Markosyan, G.J. Pepe, D.M. Duffy // *Reproduction*. – 2015. – Vol. 149, № 5. – P. 453-464.
100. Kim, S.Y. Pro-inflammatory hepatic macrophages generate ROS through NADPH oxidase 2 via endocytosis of monomeric TLR4-MD2 complex / S.Y. Kim, J.M. Jeong, S.J. Kim, W. Seo, M.H. Kim, W.M. Choi, W. Yoo, J.H. Lee, Y.R. Shim, H.S. Yi, Y.S. Lee, H.S. Eun, B.S. Lee, K. Chun, S.J. Kang, S.C. Kim, B. Gao, G. Kunos, H.M. Kim, W.I. Jeong // *Nature communications*. – 2017. – Vol. 8, № 1. – P. 2247.
101. Kishimo, T. Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine / T. Kishimo // *Arthritis Research and Therapy*. – 2006. – Vol. 8, Suppl. 2. – P. 455-463.

102. Kivirikko, K.I. A colorimetric method for determination of hydroxyproline in tissue hydrolysates / K.I. Kivirikko, M. Liesmaa // *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. – 1959. – Vol. 11, № 2. – P. 128-133.
103. Kolaczowska, E. The older the faster: aged neutrophils in inflammation / E. Kolaczowska // *Blood*. – 2016. – Vol. 128, № 19. – P. 2280-2282.
104. Kowalski, M.L. Classification and practical approach to the diagnosis and management of hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs / M.L. Kowalski, R. Asero, S. Bavbek, M. Blanca, N. Blanca-Lopez, G. Bochenek, K. Brockow, P. Campo, G. Celik, J. Cernadas, G. Cortellini, E. Gomes, E. Nizankowska-Mogilnicka, A. Romano, A. Szczeklik, S. Testi, M.J. Torres, S. Wohrl, J. Makowska // *Allergy*. – 2013. – Vol. 68, № 10. – P. 1219-1232.
105. Kozak, K.R. Metabolism of the endocannabinoids, 2-arachidonylglycerol and anandamide, into prostaglandin, thromboxane, and prostacyclin glycerol esters and ethanolamides / K.R. Kozak, B.C. Crews, J.D. Morrow, L.H. Wang, Y.H. Ma, R. Weinander, L.J. Marnett // *Journal of Biological Chemistry*. – 2002. – Vol. 277, № 47. – P. 44877-44885.
106. Kozawa, O. Interleukin-6 synthesis induced by prostaglandin E2: cross-talk regulation by protein kinase C / O. Kozawa, A. Suzuki, H. Tokuda, T. Kaida and T. Uematsu // *Bone*. – 1998. – Vol. 22. – P. 355-360.
107. Krause, K.H. NOX enzymes in immuno-inflammatory pathologies / K.H. Krause, K. Bedard // *Semin Immunopathol*. – 2008. – Vol. 30, № 3. – P. 193-194.
108. Kretschmer, B.D. Effect of intracerebral administration of NMDA and AMPA on dopamine and glutamate release in the ventral pallidum and on motor behavior / B.D. Kretschmer, M. Goiny, M. Herrera-Marschitz // *Journal of Neurochemistry*. – 2008. – Vol. 74, № 5. – P. 2049-2057.
109. Krzak, G. Succinate receptor 1: An emerging regulator of myeloid cell function in inflammation / G. Krzak, C.M. Willis, J. A. Smith, S. Pluchino, L. Peruzzotti-Jametti // *Trends in immunology*. – 2021. – Vol. 42, № 1. – P. 45-58.
110. Kuedo, Z. Effects of astaxanthin from *Litopenaeus vannamei* on carrageenan-induced edema and pain behavior in mice / Z. Kuedo, A. Sangsuriyawong, W. Klaypradit, V. Tipmanee, P. Chonpathompikunlert // *Molecules*. – 2016. – Vol. 21, № 3. – P. 382.
111. Kutyrev, I.A. In vitro effects of prostaglandin E2 on leucocytes from sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) infected and not infected with the cestode *Schistocephalus solidus* / I.A. Kutyrev, F. Franke, J. Büscher, J. Kurtz, J.P. Scharsack // *Fish and shellfish immunology*. – 2014. – Vol. 41, № 2. – P. 473-481.
112. Kwong, M.F. Have Cox2 inhibitors lived up to expectations? / M.F. Kwong // *Clinical gastroenterology*. – 2004. – Vol. 18, № 5. – P. 13-16.

113. la Torre, L.F. Analgesic efficacy of etoricoxib following third molar surgery: a meta-analysis / L.F. la Torre, D.L. Franco-González, L.M. Brennan-Bourdon, N. Molina-Frechero, A.J. Alonso-Castro, M.A. Isirdia-Espinoza // *Behavioural neurology*. – 2021. – Vol. 2021. – P. 9536054.
114. Laine, L. Proton pump inhibitor co-therapy with nonsteroidal anti-inflammatory drugs – nice or necessary? / L. Laine // *Reviews in gastroenterological disorders*. – 2004. – Vol. 4, Suppl 4. – P. S33-S41.
115. Lamarque, D. Safety of selective cyclooxygenase-2 inhibitors taken for a long time / D. Lamarque, *Bulletin du cancer* – 2004 Vol. 91, Suppl. 2. – P. S117-S124.
116. Lee, H.M. Diclofenac inhibition of sodium currents in rat dorsal root ganglion neurons / H.M. Lee, H.I. Kim, Y.K. Shin, C.S. Lee, M. Park, J.H. Song // *Brain research*. – 2003. – Vol. 992, № 1. – P. 120-127.
117. Lee, I.O. Effects of different concentrations of formalin on paw edema and pain behaviors in rats / I.O. Lee, Y.S. Jeong // *Journal of Korean medical science*. – 2002. – Vol. 17, № 1. – P. 81-85.
118. Lee, J.H. Guidelines of prevention and treatment for NSAID-related peptic ulcers / J.H. Lee, Y.C. Lee, S.W. Jeon, J.W. Kim, S.W. Lee // *The Korean journal of gastroenterology*. – 2009. – Vol. 54, № 5. – P. 309-317
119. Lems, W.F. Veiligheid van specifieke cyclo-oxygenase-2-remmers [Safety of specific cyclo-oxygenase 2 inhibitors] / W.F. Lems, M.A. van de Laar, J.W. Bijlsma // *Nederlands tijdschrift voor geneeskunde*. – 2001. – Vol. 145, № 22. – P. 1044-1047.
120. Lenz, K.M. Prostaglandin E₂ regulates AMPA receptor phosphorylation and promotes membrane insertion in preoptic area neurons and glia during sexual differentiation / K.M. Lenz, C.L. Wright, R.C. Martin, M.M. McCarthy // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, № 4. – P. e18500.
121. Leslie, C.C. Cytosolic phospholipase A₂: physiological function and role in disease / C.C. Leslie // *Journal of lipid research*. – 2015. – Vol. 56, № 8. – P. 1386-1402
122. Lewis, R.A. Prostaglandin D₂ generation after activation of rat and human mast cells with anti-IgE / R.A. Lewis, N.A. Soter, P.T. Diamond, K.F. Austen, J.A. Oates, L.J. Roberts // *Journal of immunology*. – 1982. – Vol. 129, № 4. – P. 1627-1631.
123. Liu, B. Etoricoxib decreases subchondral bone mass and attenuates biomechanical properties at the early stage of osteoarthritis in a mouse model / B. Liu, C. Ji, Y. Shao, T. Liang, J. He, H. Jiang, G. Chen, Z. Luo // *Biomedicine and pharmacotherapy* – 2020 – Vol. 127. – P. 110144.
124. Liu, L. The role of oxidative stress in the development of knee osteoarthritis: A comprehensive research review / L. Liu, P. Luo, M. Yang, J. Wang, W. Hou, P. Xu // *Frontiers in molecular biosciences*. – 2022. – Vol. 9. – P. 1001212.

125. Liu, Z. Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases / Z. Liu, Z. Ren, J. Zhang, C.C. Chuang, E. Kandaswamy, T. Zhou, L. Zuo // *Frontiers in physiology*. – 2018. – Vol. 9. – P. 477.
126. Locatelli, L. Effect of ibuprofen and diclofenac on the chemotaxis induced by substance P and transforming growth factor-beta on human monocytes and polymorphonuclear cells / L. Locatelli, P. Sacerdote, P. Mantegazza, A.E. Panerai // *International journal of immunopharmacology*. – 1993. – Vol. 15, № 7. – P. 833-838.
127. Lovich-Sapola, J. Postoperative pain control / J. Lovich-Sapola, C.E. Smith, C.P. Brandt // *The Surgical clinics of North America*. – 2015. – Vol. 95, № 2. – P. 301-318.
128. Luck, H. Measurement of Enzyme Activity. Catalase / Luck, H. // – New York and London: Academic Press. – 1965. – P. 885-894.
129. Lushchak, V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification / V.I. Lushchak // *Chemico-Biological Interactions*. – 2014. – Vol. 224. – P. 164-175.
130. Ma, W. Up-regulation of interleukin-6 induced by prostaglandin E from invading macrophages following nerve injury: an in vivo and in vitro study / W. Ma, R. Quirion // *The Journal of Neurochemistry*. – 2005. – Vol. 93. – P. 664-673.
131. Maher, P. Signaling by reactive oxygen species in the nervous system / P. Maher, D. Schubert // *Cellular and molecular life sciences*. – 2000. – Vol. 57, № 8-9. – P. 1287-1305.
132. Maity, P. Indomethacin, a non-steroidal anti-inflammatory drug, develops gastropathy by inducing reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathology and associated apoptosis in gastric mucosa: a novel role of mitochondrial aconitase oxidation / P. Maity, S. Bindu, S. Dey, M. Goyal, A. Alam, C. Pal, K. Mitra, U. Bandyopadhyay // *The Journal of biological chemistry*. – 2009. – Vol. 284, № 5. – P. 3058-3068.
133. Martel-Pelletier, J. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs / J. Martel-Pelletier, D. Lajeunesse, P. Reboul, J.P. Pelletier // *Annals of the rheumatic diseases*. – 2003. – Vol. 62, № 6. – P. 501-509.
134. Martinez, L.L. Influence of verapamil and diclofenac on leukocyte migration in rats / L.L. Martinez, M. Aparecida De Oliveira, Z.B. Fortes // *Hypertension*. – 1999. – Vol. 34, № 4. – P. 997-1001.
135. Martinez-Reyes, I. Mitochondrial TCA cycle metabolites control physiology and disease / I. Martinez-Reyes, N. Chandel // *Nat Commun*. – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 102.
136. Maseda, D. Prostaglandin regulation of T cell biology / D. Maseda, E. Ricciotti, L.J. Crofford // *Pharmacological research*. – 2019. – Vol. 149. – P. 104456.

137. Massey, K.A. Lipidomics of polyunsaturated-fatty-acid-derived oxygenated metabolites / K.A. Massey, A. Nicolaou // *Biochemical Society Transactions*. – 2011. – Vol. 39, № 5. – P. 1240-1246.
138. Matsui, H. The pathophysiology of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced mucosal injuries in stomach and small intestine / H. Matsui, O. Shimokawa, T. Kaneko, Y. Nagano, K. Rai, I.J. Hyodo // *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. – 2011. – Vol. 48, № 2. – P. 107-111.
139. Matsuoka, T. Prostaglandin D2 as a mediator of allergic asthma / T. Matsuoka, M. Hirata, H. Tanaka, Y. Takahashi, T. Murata, K. Kabashima, Y. Sugimoto, T. Kobayashi, F. Ushikubi, Y. Aze, N. Eguchi, Y. Urade, N. Yoshida, K. Kimura, A. Mizoguchi, Y. Honda, H. Nagai, S. Narumiya // *Science*. – 2000. – Vol. 287, № 5460. – P. 2013-2017.
140. Medsafe Product Detail: New Zealand Medicines and Medical Devices Safety Authority. New Zealand Data Sheet. ARCOXIA® (etoricoxib) film coated tablets. / Режим доступа: <https://www.medsafe.govt.nz/regulatory/ProductDetail.asp?ID=10513>
141. Melcarne, L. Management of NSAID-associated peptic ulcer disease / L. Melcarne, P. García-Iglesias, X. Calvet // *Expert review of gastroenterology and hepatology*. – 2016. – Vol. 10, № 6. – P. 723-733.
142. Miao, H. Protective effects of vitamin E on chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a meta-analysis of randomized controlled trials / H. Miao, R. Li, D. Chen, J. Hu, Y. Chen, C. Xu, Z. Wen // *Annals of nutrition and metabolism*. – 2021. – Vol. 77, № 3. – P. 127-137.
143. Mitrea, D.R. Daily oral administration of chlorogenic acid prevents the experimental carrageenan-induced oxidative stress / D.R. Mitrea, R. Malkey, T.L. Florian, A. Filip, S. Clichici, C. Bidian, R. Moldovan, O.A. Hoteiuc, A.M. Toader, I. Baldea // *Journal of Physiology and Pharmacology*. – 2020. – Vol. 71, № 1. – P. 55-65.
144. Moreno-Sanchez, R. Inhibition and uncoupling of oxidative phosphorylation by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: study in mitochondria, submitochondrial particles, cells, and whole heart / R. Moreno-Sanchez, C. Bravo, C. Vasquez, G. Ayala, L.H. Silveira, M. Martinez-Lavin // *Biochemical pharmacology*. – 1999. – Vol. 57, № 7. – P. 743-752.
145. Mouithys-Mickalad, A.M. In vitro study of the antioxidant properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs by chemiluminescence and electron spin resonance (ESR) / A.M. Mouithys-Mickalad, S.X. Zheng, G.P. Deby-Dupont, C.M. Deby, M.M. Lamy, J.Y. Reginster, Y.E. Henrotin // *Free radical research*. – 2000. – Vol. 33, № 5. – P. 607-621.
146. Mukherjee, D. Risk of cardiovascular events associated with selective COX-2 inhibitors / D. Mukherjee, S.E. Nissen, E.J. Topol // *JAMA*. – 2001. – Vol. 286, № 8. – P. 954-259.

147. Murphy, M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species / M.P. Murphy // *Biochemical journal*. – 2009. – Vol. 417, № 1. – P. 1-13.
148. Nakamura, M. pH-dependent inhibition of tetrodotoxin-resistant Na(+) channels by diclofenac in rat nociceptive neurons / M. Nakamura, I. Jang // *Progress in neuro-psychopharmacology and biological psychiatry*. – 2016 – Vol. 64 – P. 35-43.
149. Nazıroglu, M. TRPM2 cation channels, oxidative stress and neurological diseases: where are we now? / M. Nazıroglu // *Neurochemical research*. – 2011. – Vol. 36, № 3. – P. 355-366.
150. Nelson, D.P. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 degrees C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV) / D.P. Nelson, L.A. Kiesow // *Analytical biochemistry*. – 1972. – Vol. 49, № 2. – P. 474–478.
151. Netea, M.G. A guiding map for inflammation / M.G. Netea, F. Balkwill, M. Chonchol, F. Cominelli, M.Y. Donath, E.J. Giamarellos-Bourboulis, D. Golenbock, M.S. Gresnigt, M.T. Heneka, H.M. Hoffman, R. Hotchkiss, L.A.B. Joosten, D.L. Kastner, M. Korte, E. Latz, P. Libby, T. Mandrup-Poulsen, A. Mantovani, K.H.G. Mills, K.L. Nowak, L.A. O'Neill, P. Pickkers, van der Poll T, Ridker PM, Schalkwijk J, Schwartz DA, Siegmund B, Steer CJ, Tilg H, van der Meer JWM, F.L. van de Veerdonk, C.A. Dinarello. // *Nature immunology*. – 2017. – Vol. 18, № 8. – P. 826-831.
152. Nikolic, D. DNA oxidation induced by cyclooxygenase-2 / D. Nikolic, R.B. van Breemen // *Chemical research in toxicology*. – 2001. – Vol. 14, № 4. – P. 351-354.
153. Nowakowski, J. Prevalence of cardiovascular comorbidities in psoriatic arthritis: relationship with clinical phenotype and treatment in a real-life study / J. Nowakowski, P. Kuzmiersz, G. Biedron, Z. Gula, M. Strach, G. Haugeberg, M. Korkosz // *Polish archives of internal medicine* – 2025. Vol. 135, № 2. – P. 16911.
154. Nozadze, I. NSAIDs attenuate hyperalgesia induced by TRP channel activation / I. Nozadze, N. Tsiklauri, G. Gurtskaia, M.G. Tsagareli // *Data in brief*. – 2016. – Vol. 6. – P. 668–673.
155. O'Neil, C.K. Adverse effects of analgesics commonly used by older adults with osteoarthritis: focus on non-opioid and opioid analgesics / C.K. O'Neil, J.T. Hanlon, Z.A. Marcum // *The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy*. – 2012. – Vol. 10, № 6. – P. 331-342.
156. Oh, D.J. The effect of rebamipide on non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastro-enteropathy: a multi-center, randomized pilot study / D.J. Oh, H. Yoon, H.S. Kim, Y.J. Choi, C.M. Shin, Y.S. Park, N. Kim, D.H. Lee, Y.J. Ha, E.H. Kang, Y.J. Lee, N. Kim, K.J. Kim, F. Liu // *The Korean journal of internal medicine*. – 2022. – Vol. 37, № 6. – P.1153–1166.
157. Ohta, T. Potentiation of transient receptor potential V1 functions by the activation of metabotropic 5-HT receptors in rat primary sensory neurons / T. Ohta, Y. Ikemi, M. Murakami, T. Imagawa, K. Otsuguro, S. Ito // *The Journal of physiology* – 2006. – Vol. 576, № 3. – P. 809-822.

158. Otani, K. Microbiota plays a key role in non-steroidal anti-inflammatory drug-induced small intestinal damage / K. Otani, T. Tanigawa, T. Watanabe, S. Shimada, Y. Nadatani, Y. Nagami, F. Tanaka, N. Kamata, H. Yamagami, M. Shiba, K. Tominaga, Y. Fujiwara, T. Arakawa // *Digestion*. – 2017. – Vol. 95, № 1. – P. 22-28.
159. Oyewole, A.O. Mitochondria-targeted antioxidants / A.O. Oyewole, M.A. Birch-Machin // *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. – 2015. – Vol. 29, № 12. – P. 4766-4771.
160. Pacher, P. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease / P. Pacher, J.S. Beckman, L. Liaudet // *Physiological reviews*. – 2007. – Vol. 87, № 1. – P. 315-424.
161. Palmieri, F. The mitochondrial transporter family (SLC25): physiological and pathological implications / F. Palmieri // *Pflügers Archiv: European journal of physiology*. – 2004. – Vol. 447, № 5. – P. 689-709.
162. Partsch, G. The effects of ibuprofen and diclofenac on the chemotaxis and adenosine triphosphate level of polymorphonuclear cells in vitro / G. Partsch, C. Schwarzer, R. Eberl // *The Journal of rheumatology*. – 1990. – Vol. 17, № 5. – P. 583-588.
163. Peretz, A. Meclofenamic acid and diclofenac, novel templates of KCNQ2/Q3 potassium channel openers, depress cortical neuron activity and exhibit anticonvulsant properties / A. Peretz, N. Degani, R. Nachman, Y. Uziyel, G. Gibor, D. Shabat, B. Attali // *Molecular pharmacology*. – 2005. – Vol. 67, № 4. – P. 1053-1056.
164. Peri, K.G. Prostaglandin G/H synthase-2 is a major contributor of brain prostaglandins in the newborn / P. Hardy, D.Y. Li, D.R. Varma, S. Chemtob // *The Journal of Biological Chemistry*. – Vol. 270, № 41. – P. 24615-24620.
165. Peruzzotti-Jametti, L. Macrophage-derived extracellular succinate licenses neural stem cells to suppress chronic neuroinflammation / L. Peruzzotti-Jametti, J.D. Bernstock, N. Vicario, A.S.H. Costa, C.K. Kwok, T. Leonardi, L.M. Booty, I. Bicci, B. Balzarotti, G. Volpe, G. Mallucci, G. Manferrari, M. Donegà, N. Iraci, A. Braga, J.M. Hallenbeck, M.P. Murphy, F. Edenhofer, C. Frezza, S. Pluchino // *Cell Stem Cell*. – 2018. – Vol. 22, № 3. – P. 355-368, e1-e13.
166. Petersen, S.R. Bleeding risk using non-steroidal anti-inflammatory drugs with anticoagulants after venous thromboembolism: a nationwide Danish study / S.R. Petersen, K. Bonnesen, E.L. Grove, L. Pedersen, M. Schmidt // *European heart journal*. – 2025. – Vol. 46, № 1. – P. 58-68.
167. Prag, H.A. Mechanism of succinate efflux upon reperfusion of the ischaemic heart / H.A. Prag, A.V. Gruszczuk, M.M. Huang, T.E. Beach, T. Young, L. Tronci, E. Nikitopoulou, J. F. Mulvey, R. Ascione, A. Hadjihambi, M.J. Shattock, L. Pellerin, K. Saeb-Parsy, C. Frezza, A.M.

James, T. Krieg, M.P. Murphy, D. Aksentijević // *Cardiovascular research*. – 2021. – Vol. 117, № 4. – P. 1188-1201.

168. Radi, R. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide / R. Radi, J.S. Beckman, K.M. Bush, B.A. Freeman // *The Journal of biological chemistry*. – 1991. – Vol. 266, № 7. – P. 4244-4250.

169. Rafiee, L. Maprotiline inhibits COX2 and iNOS gene expression in lipopolysaccharide-stimulated U937 macrophages and carrageenan-induced paw edema in rats / L. Rafiee, V. Hajhashemi, S.H. Javanmard // *Central-European journal of immunology*. – 2019. – Vol. 44, № 1. – P. 15-22.

170. Reddy, A. pH-gated succinate secretion regulates muscle remodeling in response to exercise / A. Reddy, L.H.M. Bozi, O.K. Yaghi, E.L. Mills, H. Xiao, H.E. Nicholson, M. Paschini, J.A. Paulo, R. Garrity, D. Laznik-Bogoslavski, J.C.B. Ferreira, C.S. Carl, K.A. Sjøberg, J.F.P. Wojtaszewski, J.F. Jeppesen, B. Kiens, S.P. Gygi, E.A. Richter, D. Mathis, E.T. Chouchani // *Cell*. – 2020. – Vol. 183, № 1. – P. 62-75, e1-e17.

171. Rees, M.C.P. Prostaglandin D2 release by endometrium and myometrium / M.C.P. Rees, R.W. Kelly // *BJOG: An international journal of obstetrics and gynaecology*. – 1986. – Vol. 93, № 10. – P. 1078-1082.

172. Ricciotti, E. Prostaglandins and inflammation / E. Ricciotti, G.A. FitzGerald // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. – 2011. – Vol. 31, № 5. – P. 986-1000.

173. Riddles, P.W. Reassessment of Ellman's reagent / P.W. Riddles, R.L. Blakeley, B. Zerner // *Methods in enzymology*. – 1983. – Vol. 91. – P. 49-60.

174. Riendeau, D. Etoricoxib (MK-0663): preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2 / D. Riendeau, M.D. Percival, C. Brideau, S. Charleson, D. Dubé, D. Ethier, J.P. Falgoutyret, R.W. Friesen, R. Gordon, G. Greig, J. Guay, J. Mancini, M. Ouellet, E. Wong, L. Xu, S. Boyce, D. Visco, Y. Girard, P. Prasit, R. Zamboni, I.W. Rodger, M. Gresser, A.W. Ford-Hutchinson, R.N. Young, C.C. Chan // *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. – 2001. – Vol. 296, № 2. – P. 558-566

175. Ross, A. Wonder why? The acceleration of articular cartilage degeneration in osteoarthritis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs / A. Ross, M.D. Hauser // *Journal of prolotherapy*. – 2010. – Vol. 2, № 1. – P. 305-322.

176. Rubic, T. Triggering the succinate receptor GPR91 on dendritic cells enhances immunity / T. Rubic, G. Lametschwandtner, S. Jost, S. Hinteregger, J. Kund, N. Carballido-Perrig, C. Schwärzler, T. Junt, H. Voshol, J.G. Meingassner, X. Mao, G. Werner, A. Rot, J.M. Carballido // *Nature immunology*. – 2008. – Vol. 9, № 11. – P. 1261-1269.

177. Rutter, J. Succinate dehydrogenase – assembly, regulation and role in human disease / J. Rutter, D.R. Winge, J.D. Schiffman // *Mitochondrion*. – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 393-401.

178. Ryan, D.G. Coupling Krebs cycle metabolites to signalling in immunity and cancer / D.G. Ryan, M.P. Murphy, C. Frezza, H.A. Prag, E.T. Chouchani, L.A. O'Neill, E.L. Mills // *Nature metabolism*. – 2019. – Vol. 1. – P. 16-33.
179. Ryan, D.G. Krebs cycle reborn in macrophage immunometabolism / D.G. Ryan, L.A.J. O'Neill // *Annual review of immunology*. – 2020. – Vol. 38. – P. 289-313.
180. Saito, S. Prostaglandin D2 and reproduction / S. Saito, H. Tsuda, T. Michimata // *American journal of reproductive immunology*. – 2002. – Vol. 47, № 5. – P. 295-302.
181. Sandoval-Acuna, C. Inhibition of mitochondrial complex I by various non-steroidal anti-inflammatory drugs and its protection by quercetin via a coenzyme Q-like action / C. Sandoval-Acuna, C. Lopez-Alarcon, M.E. Aliaga, H. Speisky // *Chemico-biological interactions*. – 2012. – Vol. 199, № 1. – P. 18-28.
182. Sayyah, M.A preliminary randomized double-blind clinical trial on the efficacy of celecoxib as an adjunct in the treatment of obsessive-compulsive disorder / M. Sayyah, H. Boostani, S. Pakseresht, A. Malayeri // *Psychiatry research*. – 2011. – Vol. 189, № 3. – P. 403-406.
183. Scatena, R. The role of mitochondria in pharmacotoxicology: a reevaluation of an old, newly emerging topic / R. Scatena, P. Bottoni, G. Botta, G.E. Martorana, B. Giardina // *American journal of physiology. Cell physiology*. – 2007. – Vol. 293, № 1. – P. C12-C21.
184. Scheiman, J.M. Strategies to optimize treatment with NSAIDs in patients at risk for gastrointestinal and cardiovascular adverse events / J. M. Scheiman, C.E. Hindley // *Clinical therapeutics*. – 2010. – Vol. 32, № 4. – P. 667-677.
185. Scheiman, J.M. The use of proton pump inhibitors in treating and preventing NSAID-induced mucosal damage / J.M. Scheiman // *Arthritis research and therapy*. – 2013. – Vol. 15, Suppl 3. – P. S5.
186. Scott, D.G. Increased risk of cardiovascular events with coxibs and NSAIDs / D.G. Scott, R.A. Watts // *The Lancet*. – 2005. – Vol. 365, № 9470. – P. 1537.
187. Seymour, T.L. Postoperative analgesia due to sustained-release buprenorphine, sustained-release meloxicam, and carprofen gel in a model of incisional pain in rats (*rattus norvegicus*) / T.L. Seymour, S.C. Adams, S.A. Felt, K. Jampachaisri, D.C. Yeomans, C. Pacharinsak // *Journal of the american association for laboratory animal science: JAALAS*. – 2016. – Vol. 55, № 3. – P. 300-305.
188. Shalbafan, M. Celecoxib as an Adjuvant to Fluvoxamine in Moderate to Severe Obsessive-compulsive Disorder: A Double-blind, Placebo-controlled, Randomized Trial / M. Shalbafan, P. Mohammadinejad, S.V. Shariat, K. Alavi, A. Zeinoddini, M. Salehi, N. Askari, S. Akhondzadeh // *Pharmacopsychiatry*. – 2015 – Vol. 48, № 4-5. – P. 136-140.

189. Siegle, I. Expression of cyclooxygenase 1 and cyclooxygenase 2 in human synovial tissue: differential elevation of cyclooxygenase 2 in inflammatory joint diseases / I. Siegle, T. Klein, J.T. Backman, J.G. Saal, R.M. Nusing, P. Fritz // *Arthritis and rheumatism*. – 1998. – Vol. 41, № 1. – P. 122-129.
190. Skokie, I.M. Fatigue in psoriasis: prevalence and biological mechanism [Text]: diss. ... dr. philos. sciences': 18.06.2021 / Skoie Inger Marie. – Norway, 2021
191. Skoutakis, V.A. Review of diclofenac and evaluation of its place in therapy as a nonsteroidal antiinflammatory agent / V.A. Skoutakis, C.A. Carter, T.R. Mickle, V.H. Smith, C.R. Arkin, J. Alissandratos, D.E. Petty // *Drug intelligence and clinical pharmacy*. – 1988. – Vol. 22, № 11. – P. 850-859.
192. Somasundaram, S. Uncoupling of intestinal mitochondrial oxidative phosphorylation and inhibition of cyclooxygenase are required for the development of NSAID-enteropathy in the rat / S. Somasundaram, G. Sigthorsson, R.J. Simpson, J. Watts, M. Jacob, I.A. Tavares, S. Rafi, A. Roseth, R. Foster, A.B. Price, J.M. Wrigglesworth, I. Bjarnason // *Alimentary pharmacology and therapeutics*. – 2000. – Vol. 14, № 5. – P. 639-650.
193. Sostres, C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper and lower gastrointestinal mucosal damage / C. Sostres, C.J. Gargallo, A. Lanás // *Arthritis research and therapy*. – 2013. – Vol. 15, Suppl 3. – P. S3.
194. Stevens, P.E. Evaluation and management of chronic kidney disease: synopsis of the kidney disease: improving global outcomes 2012 clinical practice guideline / P.E. Stevens, A. Levin, Kidney Disease: Improving Global Outcomes Chronic Kidney Disease Guideline Development Work Group Members // *Annals of internal medicine*. – 2013. – Vol. 158, № 11. – P. 825-830.
195. St-Jacques, B. Role of prostaglandin E2 in the synthesis of the pro-inflammatory cytokine interleukin-6 in primary sensory neurons: an in vivo and in vitro study / B. St-Jacques, W. Ma // *Journal of Neurochemistry*. – 2011. – Vol. 118, № 5. – P. 841-854.
196. Swanson, K.V. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics / K.V. Swanson, M. Deng, J.P.Y. Ting // *Nature Reviews Immunology*. – 2019. – Vol. 19, № 8. – P. 477-489.
197. Syer, S.D. NSAID enteropathy and bacteria: a complicated relationship / S.D. Syer, R.W. Blackler, R. Martin, G. de Palma, L. Rossi, E. Verdu, P. Bercik, M.G. Surette, A. Aucouturier, P. Langella, J.L. Wallace // *Journal of gastroenterology*. – 2015. – Vol. 50, № 4. – P. 387-393.
198. Tacconelli, S. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and cardiovascular safety – translating pharmacological data into clinical readouts / S. Tacconelli, A. Bruno, R. Grande, P. Ballerini, P. Patrignani // *Expert Opinion on Drug Safety* – 2017. Vol. 16, № 7. – P. 791-807.

199. Tai, F.W.D. NSAIDs and the small bowel / F.W.D. Tai, M.E. McAlindon // *Current opinion in gastroenterology*. – 2018. – Vol. 34, № 3. – P. 175-182.
200. Takakura, K. Rapid and irreversible inactivation of protein tyrosine phosphatases PTP1B, CD45, and LAR by peroxynitrite / K. Takakura, J.S. Beckman, L.A. MacMillan-Crow, J.P. Crow // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 1999. – Vol. 369, № 2. – P. 197-207.
201. Tannahill, G.M. Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α / G.M. Tannahill, A.M. Curtis, J. Adamik, E.M. Palsson-McDermott, A.F. McGettrick, G. Goel, C. Frezza, N.J. Bernard, B. Kelly, N.H. Foley, L. Zheng, A. Gardet, Z. Tong, S.S. Jany, S.C. Corr, M. Haneklaus, B.E. Caffrey, K. Pierce, S. Walmsley, F.C. Beasley, E. Cummins, V. Nizet, M. Whyte, C.T. Taylor, H. Lin, S.L. Masters, E. Gottlieb, V.P. Kelly, C. Clish, P.E. Auron, R.J. Xavier, L.A. O'Neill. // *Nature*. – 2013. – Vol. 496, № 7444. – P. 238-242.
202. Tasaka, K. Prostaglandin D2 induces release of luteinizing hormone from the rat pituitary gland without the modulation of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone / K. Tasaka, A. Miyake, T. Sakumoto, T. Aono, K. Kurachi // *The Journal of endocrinology*. – 1983. – Vol. 99, № 2. – P. 289-292.
203. Taylor, C. The effect of HIF on metabolism and immunity / C.T. Taylor, C.C. Scholz // *Nature reviews. Nephrology*. – 2022. – Vol. 18, № 9. – P. 573-587.
204. Tieppo Francio, V. Oral Versus Topical Diclofenac Sodium in the Treatment of Osteoarthritis / V. Tieppo Francio, S. Davani, C. Towery, T.L. Brown // *Journal of pain and palliative care pharmacotherapy*. – 2017. – Vol. 31, № 2. – P. 113-120
205. Tokugawa, Y. Lipocalin-type prostaglandin D synthase in human male reproductive organs and seminal plasma / Y. Tokugawa, I. Kunishige, Y. Kubota, K. Shimoya, T. Nobunaga, T. Kimura, F. Saji, Y. Murata, N. Eguchi, H. Oda, Y. Urade, O. Hayaishi // *Biology of reproduction*. – 1998. – Vol. 58, № 2. – P. 600-607.
206. Trauelsen, M. Extracellular succinate hyperpolarizes M2 macrophages through SUCNR1/GPR91-mediated Gq signaling / M. Trauelsen, T.K. Hiron, D. Lin, J.E. Petersen, B. Breton, A.S. Husted, S.A. Hjorth, A. Inoue, T.M. Frimurer, M. Bouvier, C.A. O'Callaghan, T.W. Schwartz // *Cell reports*. – 2021. – Vol. 35, № 11. – P. 109246.
207. Trotti, D. Glutamate transporters are oxidant- vulnerable: A molecular link between oxidative and excitotoxic neurodegeneration? / D. Trotti, N.C. Danbolt, A. Volterra // *Trends in pharmacological sciences*. – 1998. – Vol. 19, № 8. – P. 328-334.
208. Ujihara, M. Prostaglandin D2 formation and characterization of its synthetases in various tissues of adult rats / M. Ujihara, Y. Urade, N. Eguchi, H. Hayashi, K. Ikai, O. Hayaishi // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 1988. – Vol. 260, № 2. – P. 521-531.

209. Urade, Y. Biochemical, structural, genetic, physiological, and pathophysiological features of lipocalin-type prostaglandin D synthase / Y. Urade, O. Hayaishi // *Biochimica et biophysica acta*. – 2000. – Vol. 1482, № 1-2. – P. 259-271.
210. Van Walsem, A. Relative benefit-risk comparing diclofenac to other traditional non-steroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 inhibitors in patients with osteoarthritis or rheumatoid arthritis: a network meta-analysis / A. van Walsem, S. Pandhi, R.M. Nixon, P. Guyot, A. Karabis, R.A. Moore // *Arthritis research and therapy*. – 2015. – Vol. 17, № 1. – P. 66.
211. Vandanmagsar, B. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance / B. Vandanmagsar, Y.H. Youm, A. Ravussin, J.E. Galgani, K. Stadler, R.L. Mynatt, E. Ravussin, J.M. Stephens, V.D. Dixit // *Nature medicine*. – 2011. – Vol. 17, № 2. – P. 179-188.
212. Vane, J. Towards a better aspirin / J. Vane // *Nature*. – 1994. – Vol. 367, № 6460. – P. 215-216.
213. Viola, A. The metabolic signature of macrophage responses / A. Viola, F. Munari, R. Sánchez-Rodríguez, T. Scolaro, A. Castegna // *Frontiers in immunology*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1462.
214. Voilley, N. Nonsteroid anti-inflammatory drugs inhibit both the activity and the inflammation-induced expression of acid-sensing ion channels in nociceptors / N. Voilley, J. de Weille, J. Mamet, M. Lazdunski // *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. – 2001. – Vol. 21, № 20, – P. 8026-8033.
215. Voronina, T.A. Analysis of the mechanism of psychotropic action of a 3-hydroxypyridine derivative / T.A. Voronina, S.B. Seredenin // *Annali dell'Istituto superiore di sanita*. – 1988. – Vol. 24, № 3. – P. 461-466.
216. Walker, C. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs revisited C. Walker, LM. Biasucci // *Journal of Postgraduate Medicine*. – 2018. – Vol. 130, № 1. – P. 55-71.
217. Wang, Z.Q. A newly identified role for superoxide in inflammatory pain / Z.Q. Wang F. Porreca, S. Cuzzocrea, K. Galen, R. Lightfoot, E. Masini, C. Muscoli, V. Mollace, M. Ndengele, H. Ischiropoulos, D. Salvemini // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* – 2004. Vol. 309, № 3. – P. 869-878.
218. Washio, E. Proton pump inhibitors increase incidence of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced small bowel injury: a randomized, placebo-controlled trial / E. Washio, M. Esaki, Y. Maehata, M. Miyazaki, H. Kobayashi, H. Ishikawa, T. Kitazono, T. Matsumoto // *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. – 2016. – Vol. 14, № 6. – P. 809-815.e1.

219. Wen, H. Fatty acid- induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling / H. Wen, D. Gris, Y. Lei, S. Jha, L. Zhang, M.T. Huang, W.J. Brickey, J.P. Ting // *Nature immunology*. – 2011. – Vol. 12, № 5. – P. 408-415.
220. White, A.A. Aspirin-exacerbated respiratory disease: update on pathogenesis and desensitization / A.A. White, D.D. Stevenson // *Seminars in respiratory and critical care medicine*. – 2012. – Vol. 33, № 6. – P. 588-594.
221. Wiepz, G.J. PGE2 attenuates PGF2 alpha-induced increases in free intracellular calcium in ovine large luteal cells / G.J. Wiepz, M.C. Wiltbank, S.B. Kater, G.D. Niswender, H.R. Sawyer // *Prostaglandins*. – 1993. – Vol. 45, № 2. – P. 167-176.
222. Williams, J.A. Regulation of macrophage cytokine production by prostaglandin E2. Distinct roles of cyclooxygenase-1 and -2 / J.A. Williams, E. Shacter // *The Journal of biological chemistry*. – 1997. – Vol. 272, № 41. – P. 25693-25699.
223. Winterbourn, C.C. The biological chemistry of hydrogen peroxide / C.C. Winterbourn // *Methods in enzymology*. – 2013. – Vol. 528. – P. 3-25.
224. World Health Organization. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability / who.int // Режим доступа: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
225. Wright, C.L. Identification of prostaglandin E2 receptors mediating perinatal masculinization of adult sex behavior and neuroanatomical correlates / C.L. Wright, S.R. Burks, M.M. McCarthy // *Developmental neurobiology*. – 2008. – Vol. 68, № 12. – P. 1406-1419.
226. Xu, H. Renal injury in NSAIDs: a real-world analysis based on the FAERS database / H. Xu, J. Cao, H. Zhang, F. Fei, D. Tang, D. Liu, D. Luo // *International urology and nephrology* – 2025. Vol. 57, № 3. – P. 957-963.
227. Yamane, H. Prostaglandin E(2) receptors, EP2 and EP4, differentially modulate TNFalpha and IL-6 production induced by lipopolysaccharide in mouse peritoneal neutrophils / H. Yamane, Y. Sugimoto, S. Tanaka and A. Ichikawa // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2000. – Vol. 278. – P. 224-228.
228. Yang, P. Zishen Tongluo formula ameliorates collagen-induced arthritis in mice by modulation of Th17/Treg balance / P. Yang, F. Qian, M. Zhang, A.-L. Xu, X. Wang, B. Jiang, X. Zhou, L. Zhou // *Journal of Ethnopharmacology* – 2019. - V. 250. – P. 112428.
229. Youm, Y.H. The Nlrp3 inflammasome promotes age- related thymic demise and immunosenescence / Y.H. Youm, T.D. Kanneganti, B. Vandanmagsar, X. Zhu, A. Ravussin, A. Adijiang, J.S. Owen, M.J. Thomas, J. Francis, J.S. Parks, V.D. Dixit // *Cell reports*. – 2011. – Vol. 1, № 1. – P. 56-68.

230. Zacher, J. A comparison of the therapeutic efficacy and tolerability of etoricoxib and diclofenac in patients with osteoarthritis / J. Zacher, D. Feldman, R. Gerli, D. Scott, S.M. Hou, D. Uebelhart, I.W. Rodger, Z.E. Ozturk, etoricoxib OA study group // *Current medical research and opinion*. – 2003. – Vol. 19, № 8. – P. 725–736.
231. Zhang, W. Succinate metabolism: a promising therapeutic target for inflammation, ischemia/reperfusion injury and cancer / W. Zhang, R. Lang // *Frontiers in cell and developmental biology*. – 2023. – Vol. 11. – P. 1266973.
232. Абрамченко, В.В. Простагландины и антигестагены в акушерстве и гинекологии / В.В. Абрамченко. – Петрозаводск.: ИнтелТек. – 2003. – 208 с.
233. Алексеева, Е.И. Ювенильный ревматоидный артрит: этиология, патогенез, клиника, алгоритмы диагностики и лечения: Руководство для врачей, преподавателей, научных сотрудников / Е.И. Алексеева, П.Ф. Литвицкий, А.А. Баранов. – М: ВЕДИ. 2007. – 368 с.
234. Андреев, В.В. Комплексное лечение спондилогенных радикулоишемий с применением Мексидола / В.В. Андреев // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2012. – № S1. – С. 63–68.
235. Белоусова, Ю.Б. Клиническая фармакология: национальное руководство / Ю.Б. Белоусова, В.Г. Кукеса, В.К. Лепяхина, В.И. Петрова – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 976 с.
236. Бибик, И.В. Определение комплексного критерия анальгетической активности новых производных конденсированных 3- аминотиено[2,3-b]пиридинов и 1,4-дигидропиридинов в эксперименте / И.В. Бибик, М.В. Покровский, Е.Ю. Бибик, К.А. Фролов, С.Г. Кривоколыско, В.В. Доценко, А.А. Панков // *Вятский медицинский вестник*. – 2023. – Т. 79 № 3. – С. 37-44.
237. Бурлакова, Е.Б. Модификация липидов наружной мембраны митохондрий печени мышей и кинетических параметров мембраносвязанной моноаминоксидазы *in vivo* и *in vitro* / Е.Б. Бурлакова, Ч.Б. Кайране, Е.М. Молочкина, А.П. Хохлов // *Вопросы медицинской химии*. – 1984. – Т. 30, № 1. – С. 66-72.
238. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
239. Власов, А.П. Модификация обмена липидов при панкреатите под влиянием мексидола / А.П. Власов, В.А. Трофимов, В.А. Березин, Т.В. Тарасова, Р.Р. Аширов, И.В. Саушев, Т.Н. Дубовская // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2003. – Т. 66, № 1. – С. 40-45.
240. Вологодина, А.В. Состояние неферментного перекисного окисления липидов у больных хроническими воспалительными заболеваниями / А.В. Вологодина // *Механизмы повреждения и регуляции восстановления процессов*. – Новосибирск, 1988. – С. 3-4;

241. Воронина, Т.А. Комбинированное применение мексидола с известными лекарственными средствами / Т.А. Воронина, Е.А. Иванова // Журнал неврологии и психиатрии. – 2019. – Т. 119. № 4. – С. 115-124.
242. Воронина, Т.А. Мексидол: основные нейрпсихотропные эффекты и механизм действия / Т.А. Воронина // Фарматека. – 2009. Т. 6. – С. 28-31.
243. Воронина, Т.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств / Т.А. Воронина, С.Б. Середенин, М.А. Яркова, М.В. Воронин // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под общ. ред. А.Н. Миронова. Часть 1. – Москва: Гриф и К, 2012. – С. 264-275.
244. Воронина, Т.А. Методические рекомендации по изучению анальгетической активности лекарственных средств / Т.А. Воронина, Л.С. Гузевых // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под общ. ред. А.Н. Миронова. Часть 1. – Москва: Гриф и К, 2012. – С. 197-218.
245. Гайдукова И.З. Эффективность нестероидных противовоспалительных препаратов / И.З. Гайдукова, В.И. Мазуров // Журнал неврологии и психиатрии. – 2019. – Т. 119, № 5. – С. 134-140.
246. Гайтур Е.И. Вторичные механизмы повреждения головного мозга при черепно-мозговой травме [Текст]: дисс. ... д-ра мед. наук: 14.00.28 / Гайтур Емил Ильич. – М., 1999.
247. Гладких, Ф.В. Характеристика механизмов антиульцерогенного действия агонистов ванилоидных рецепторов (TRPV1) на модели гастропатии, индуцированной ацетилсалициловой кислотой / Ф.В. Гладких // Фармация и фармакология. – 2017. – Т. 5, № 3. – С. 283-301.
248. Говорова, Н.В. Влияние Мексидола на оксидантный стресс у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой / Н.В. Говорова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Прил. 1.
249. Громова, О.А. Опыт применения мексидола в неврологической практике / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Л.В. Стаховская, Е.Г. Пепеляев, В.А. Семенов, А.Г. Назаренко // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова – 2018. – Т. 118, № 10. – С. 97-107.
250. Дейл, М.М. Руководство по иммунофармакологии / М.М. Дейла, Д.К. Формена. – М.: Медицина. 1998. – 332 с.
251. Диклофенак (Diclophenacum) описание. 2000-2024. Регистр лекарственных средств России® РЛС® / Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/diklofenak-90>.
252. Дурнев, А.Д. Генетическая токсикология [Текст]: монография / А.Д. Дурнев, А.К. Жанатаев, Н.В. Еремина. – Москва: ООО Типография Миттель Пресс, 2022. – 286 с.

253. Дюмаев, К.М. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС / К.М. Дюмаев, Т.А. Воронина, Л.Д. Смирнов – Москва: Издательство Института биомедицинской химии, 1995. – 271 с.
254. Евсеев, М.А. НПВП-индуцированные гастродуоденальные язвы, осложненные кровотечением / М.А. Евсеев // Русский медицинский журнал. – 2006. – № 15. – С. 1099-1107.
255. Еременко, А.А. Влияние Мексидола на выраженность системного воспалительного ответа у больных при операциях реваскуляризации миокарда в условиях искусственного кровообращения / А.А. Еременко, Т.П. Зюляева, В.М. Егоров, Я.В. Сидоренко, М.В. Фоминых // Анестезиология и кардиореанимация. – 2008. – № 1. – С. 67-72.
256. Золотовская, И.А. Влияние нестероидных противовоспалительных препаратов на показатели, характеризующие риск развития сердечно-сосудистых осложнений, у пациентов с острой неспецифической болью в спине / И.А. Золотовская, И.Л. Давыдкин // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87, № 12. – С. 18-25
257. Иванова, Е.А. Влияние диклофенака натрия и его комбинаций с мексидолом на Fe²⁺-индуцированную хемилюминесценцию / Е.А. Иванова, С.А. Дмитриева, Н.Н. Золотов, Т.А. Воронина // Химико-фармацевтический журнал. – 2023. – Т. 57, № 5. – С. 9-13.
258. Иванова, Е.А. Перекисное окисление липидов при экссудативном воспалении у грызунов / Е.А. Иванова, А.И. Матюшкин, Н.Н. Золотов, Т.А. Воронина // Патогенез. – 2017. – Т. 15, № 3. – С. 58-62
259. Калинина, Т.С. Нейростероидогенез и ориентировочно-исследовательское поведение грызунов / Т.С. Калинина, А.А. Шимширт, Н.В. Кудряшов, Т.А. Воронина, С.Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77. – №2 – С. 3-7.
260. Каратеев, А.Е. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов / А.Е. Каратеев, Е.Л. Насонов, В.Т. Ивашкин, А.И. Мартынов, Н.Н. Яхно, Г.П. Арутюнов, Л.И. Алексеева, Г.Р. Абузарова, М.А. Евсеев, М.Л. Кукушкин, С.С. Копенкин, А.М. Лила, Т.Л. Лапина, Д.С. Новикова, Т.В. Попкова, А.П. Ребров, К.В. Скоробогатых, Н.В. Чичасова // Клинические рекомендации. Научно-практическая ревматология. – 2018. – Т. 56, № 1. – С. 1-29.
261. Карева, Е.Н. Побочные эффекты нестероидных противовоспалительных средств и пути их профилактики / Е.Н. Карева, О.М. Олейникова, С.Ю. Сереброва И.Н. Кононова, В.А. Булгакова, С.Ю. Шипилова, Н.Г. Бондарчук, М.С. Борлакова, С.К. Яровой // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2022. – Т. 85, № 3. – С. 33-44.
262. Кирова, Ю.И. Влияние мексидола на церебральный митохондриогенез в молодом возрасте и при старении / Ю.И. Кирова, Ф.М. Шакова, Э.Л. Германова, Г.А. Романова, Т.А.

Воронина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2020. – Т. 120, № 1. – С. 62-69.

263. Кирова, Ю.И. Этилметилгидроксипиридина сукцинат индуцирует противовоспалительную поляризацию микроглии в мозге стареющих крыс / Ю.И. Кирова, Ф.М. Шакова, Т.А. Воронина // Биологические мембраны. – 2022. – Т. 39, № 1. – С. 44-53.

264. Клебанов, Г.И. Антиоксидантные свойства производных 3-оксипиридина: мексидола, эмоксипина и проксипина / Г. И. Клебанов, О. Б. Любицкий, О. В. Васильева, Ю. В. Климов, О. Б. Пензулаева, А. С. Тепляшин, М. П. Толстых, В. К. Проморенко, Ю. А. Владимиров // Вопросы медицинской химии. – 2001. – № 3. – С. 36-46.

265. Клинические рекомендации. Хроническая болезнь почек / Ассоциация врачей общей практики (семейных врачей) Российской Федерации. 2014. – 31с.

266. Коваленко, Л.П. Особенности оценки иммуотоксических и иммунофармакологических свойств различных групп фармакотерапевтических веществ [Текст]: дисс. ... д-ра биол. наук: 14.00.25 / Коваленко Ларисы Петровны. – М., 2003.

267. Кондрашова, М.Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях ткани / М.Н. Кондрашова // Биохимия. – 1991. – Т. 56, № 3. – С. 388-405.

268. Кондрашова, М.Н. Накопление и использование янтарной кислоты в митохондриях / М.Н. Кондрашова // Митохондрии. - М.: Наука. – 1972. – С.141-158.

269. Лазарев, В.В. Влияние сукцинатов на воспалительную реакцию: обзор литературы / В.В. Лазарев, П.Е. Анчутин // Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова. – 2023. – Т. 3. – С. 155-165.

270. Латюшин, Я. В. Динамика антиоксидантных ферментов в костном мозге животных на фоне коррекции церулоплазмином при действии эмоционально-болевого и гипокинетического стресса / Я.В. Латюшин, В.И. Павлова, Н.В. Мамылина // Вестник Южно-Уральского государственного гуманитарно-педагогического университета. – 2009. – №12. – С. 319-236.

271. Ленинджер, А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функции клетки / А. Ленинджер. – М: Мир. 1976. – 957 с.

272. Лихачева, Е.Б. Динамика клинко-иммунологических показателей в оценке эффективности применения Мексидола при пояснично-крестцовой радикулопатии / Е.Б. Лихачева, И.И. Шоломов // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2006. – Т. 106, № 10. – С. 52-57.

273. Лихачева, Е.Б. Мексидол в консервативном лечении пояснично-крестцовых радикулопатий / Е.Б. Лихачева // Фарматека. – 2012. – Т. 6, № 239. – С. 83-87.

274. Лукьянова, Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции / Л.Д. Лукьянова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2011. – № 1 – С. 3-19.

275. Лукьянова, Л.Д. Сигнальные механизмы гипоксии / Л. Д. Лукьянова. – Москва: Российская академия наук, 2019. – 215 с.

276. Луцкий, М.А. Активность эндогенной системы антиоксидантной защиты в процессе жизнедеятельности организма / М.А. Луцкий, Т.В. Куксова, М.А. Смелянец, Ю.П. Лушникова // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12 (часть 1). – С. 20-23

277. Молодавкин, Г.М. Изучение комбинированного действия мексидола и ненаркотических анальгетиков на поведение в условиях эмоционального стресса и на болевые пороги / Г. М. Молодавкин, Т. А. Воронина, Л. И. Ларенцова, М. И. Пчелкина, О. К. Мелетова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т. 70, № 2. – С. 16-19.

278. Мороз, Е.В. Желудочно-кишечные кровотечения при использовании новых пероральных антикоагулянтов: эпидемиология, факторы риска, лечение и профилактика / Е.В. Мороз, А.Е. Каратеев, Е.В. Крюков, В.А. Чернецов // Научно-практическая ревматология. – 2017. – Т. 55, № 6. – С. 675-684.

279. Мороз, Е.В. Ребамипид: эффективная медикаментозная профилактика НПВП-энтеропатии возможна / Е.В. Мороз, А.Е. Каратеев // Современная ревматология. – 2016. – Т. 10, № 4. – С. 97-105.

280. Мchedlishvili, G.I. Отек головного мозга: Рассмотрение патофизиол. механизмов на основе систем. подхода на 5-м Тбил. симпоз. по мозговому кровообращению, 20-23 апр. 1983 г. / Г.И. Мchedlishvili. – Тбилиси: Мецниереба. – 1986. – 174 с.

281. Нечаева, Г.И. Использование препарата мексидол для оптимизации лечения артериальной гипертензии у лиц молодого возраста / Г.И. Нечаева, О.Ю. Кореннова, Е.Ю. Булахова, В.А. Козырева, С.Д. Курочкина // Медицинский вестник. – 2008. – Т. 433, N 6. – С. 433-434.

282. Новиков, В.Е. Фармакология желудочно-кишечного тракта / В.Е. Новиков, Н.О. Крюкова, А.С. Новиков // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 5. – С. 15-18.

283. Новиков, В.Е. Влияние гипоксена на эффективность кислоты ацетилсалициловой при остром воспалении / В.Е. Новиков, С.А. Илюхин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. Т. 76, № 4. – С. 32-35.

284. Олюнин, Ю.А. Вольгарен в современной фармакотерапии / Ю.А. Олюнин // Русский медицинский журнал. – 2007. – № 8. – С. 657-662.

285. Парахонский, А.П. Характер изменений перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных пневмонией с различным течением и исходом / А.П. Парахонский // Успехи современного естествознания – 2004. № 10. – С. 47-48.
286. Пащенко, И.Г. Состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при заболеваниях органов дыхания / И.Г. Пащенко, М.С. Камнев, Н.Н. Пащенко, Н.А. Цимбал, М.В. Марковцева, И.Г. Сударкина // Ульяновский Медико-Биологический Журнал. – 2011. – № 4. – С. 32-44.
287. Попков, В.М. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии / В.М. Попков, Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова – М.: Академия Естествознания. 2012. – 365 с.
288. Разыграев, А.В. Метод определения глутатионпероксидазной активности с использованием пероксида водорода и 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислоты) / А.В. Разыграев // Научно-практический журнал «Клинико-лабораторный консилиум». – 2004. – № 4. – С. 19-22.
289. Рязанцева, Л.Т. Ферменты-антиоксиданты: структурно-функциональные свойства и роль в регулировании метаболических процессов / Л.Т. Рязанцева // Вестник Воронежского государственного технического университета. – 2011. – Т. 7, № 2. – С. 126-129.
290. Семченко, В.В. Гемостаз и сосудистый эндотелий при черепно-мозговой травме / В. В. Семченко, А. Ю. Войнов, З. Ш. Голевцова, Н.В. Говорова, П.Н. Щербаков. – Омск: Омская областная типография, – 2003. – 168 с.
291. Серебренникова, С.Н. Патология воспалительного процесса / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский; ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, кафедра патологической физиологии с курсом клинической иммунологии. – Иркутск: Иркутский государственный медицинский университет, 2014. – 79 с.
292. Симутис, И.С. Возможности коррекции гипервоспаления при COVID-19 / И.С. Симутис, Г.А. Бояринов, М.Ю. Юрьев, Д.С. Петровский, А.Л. Коваленко, С.А. Парфенов // Антибиотики и химиотерапия. – 2021. – Т. 66. – С. 3-4: 40-48.
293. Синченко, О.Г. Использование антигипоксантных и нейрометаболических свойств Мексидола в лечении вертеброгенного радикулоишемического синдрома / О.Г. Синченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Прил. 1. – С. 60-62.
294. Смирнов, А.В. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению / А.В. Смирнов, Е.М. Шилов, В.А. Добронравов, И.Г. Каюков, И.Н. Бобкова, М.Ю. Швецов, А.Н. Цыгин, А.М. Шутов // Нефрология. – 2012. – Т. 16, № 1. – С. 89-115.

295. Страхов, М.А. Послеоперационная боль: предотвращение или лечение последствий? / М. А. Страхов, Н. В. Загородний, К. А. Егиазарян, М.Н. Плужникова, Н.В. Овчаренко, Т.Г. Гаев // Русский Медицинский Журнал. – 2019. – Т. 27, № 2. – С. 3-7.
296. Терехина, О.Л. Этилметилгидроксипиридина сукцинат ограничивает стресс-индуцированное нейровоспаление в коре головного мозга старых крыс / О.Л. Терехина, Ю.И. Кирова // Биологические мембраны. – 2023. – Т. 40. № 5. – С. 379-387.
297. Трегубова, И.А. Антиоксиданты: современное состояние и перспективы / И.А. Трегубова, В.А. Косолапов, А.А. Спасов // Успехи физиологических наук. – 2012. – Vol. 43, № 1. – С. 75-94.
298. Туш, Е.В. Маркеры состояния экстрацеллюлярного матрикса и методы их исследования / Е.В. Туш, Т.И. Елисеева, О.В. Халецкая, С.В. Красильникова, Д.Ю. Овсянников, Т.Е. Потемина, С.К. Игнатов // Современные технологии в медицине. – 2019. – Т. 11, № 2. – С. 133-149.
299. Хазанов, В.А. Фармацевтические композиции на основе нестероидных противовоспалительных средств // Патент РФ 2 191 582 / В. А. Хазанов. – 2002.
300. Хлуновский, А.Н. Концепция болезни поврежденного мозга. Методологические основы / А. Н. Хлуновский, А. А. Старченко. – СПб: Лань. – 1999. – 253 с.
301. Хужахметова, Д.Х. Применение Мексидола по стандартизированной схеме введения в лечении остеохондрозов позвоночника / Д.Х. Хужахметова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Прил. 1. – С. 219-225.
302. Чичасова, Н.В. Эторикоксиб – 15 лет в России: основные результаты лечения ревматических заболеваний / Н.В. Чичасова, А.М. Лиля // Лечащий Врач. – 2024. Т. 1, № 27. – С. 42-48.
303. Шатрова, В.П. Применение антиоксидантов в комплексном лечении вертеброгенных нейрососудистых синдромов / В.П. Шатрова, К.Т. Месхи // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2008. – Т. 108, № 7. – С. 79-81.
304. Шварц, Г.Я. Методические рекомендации по изучению нестероидных противовоспалительных лекарственных средств / Г.Я. Шварц, Р.Д. Сюбаев // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под общ. ред. А.Н. Миронова. Часть первая. – Москва: Гриф и К, 2012. – С. 746-758.
305. Шимширт, А.А. Изучение влияния диазепама на тревожные реакции у мышей, вызванные индометацином / А.А. Шимширт, Т.С. Калинина, Т.А. Воронина // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 45-46.
306. Шостак, Н.А. Остеоартроз: актуальные вопросы диагностики и лечения / Н.А. Шостак // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2014. – Т. 22, № 4. – С. 278-281.

307. Эторикоксиб (Etoricoxibum) описание. 2000-2024. Регистр лекарственных средств России® РЛС® / Режим доступа: <https://www.rlsnet.ru/active-substance/etorikoksib-2890>.