

ЗБАГАЧЕНА ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМА ПОСИЛЮЄ ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ЕФЕКТ ЕЛАГОВОЇ КИСЛОТИ ПРИ КАРАГЕНАН-СПРИЧИНЕНОМУ ЕКСУДАТИВНОМУ ЗАПАЛЕННІ

Вастьянов Р.С. <https://orcid.org/0000-0001-8585-2517>

Стоянов О.М. <https://orcid.org/0000-0002-3375-0452>

Золотарьова Н.А. <http://orcid.org/0000-0002-1085-366X>

Бабієнко В.В. <https://orcid.org/0000-0002-4597-9908>

Грузевський О.А. <https://orcid.org/0000-0003-1953-8380>

Кірчев В.В. <https://orcid.org/0000-0003-3640-6718>

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

rvastyanov@gmail.com

Актуальність. Запалення – сформована у процесі еволюційного розвитку загальнобіологічна захисно-приспосувальна реакція організму у відповідь на вплив альтеруючих впливів алергічного, токсичного генезу. Сучасне лікування запальних реакцій потребує тривалого призначення протизапальних стероїдних та нестероїдних фармакологічних засобів, при чому є ризик розвитку виражених побічних реакцій та ускладнень. Ми зацікавилися протизапальними ефектами рослинних поліфенолів, з яких обрали для дослідження елагову кислоту, та аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми крові.

Ціль: визначення протизапальної ефективності збагаченої тромбоцитами плазми при її роздільному та сумісному введенні з елаговою кислотою при карагенан-спричиненому ексудативному запаленні лапи щурів.

Матеріали та методи. В роботі, у щурів за умов гострого експерименту відтворювали карагенан-індукований набряк лапи. З лікувальною метою в групах тварин застосовували роздільне та сумісне введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислот. В якості референс-препарату вводили диклофенак натрію. Через 30 хв 1, 2, 4 і 6 год після інтраплаттарного введення карагенану у щурів оцінювали вираженість проявів асептичного ексудативного запалення лапи - об'єм та товщину запального набряку, а також вираженість сомато-сенсорної (больової) чутливості в тестах на відсмикування хвоста та «гарячої пластини».

Результати. Отримані дані свідчать про досягнуту можливість підвищення ефективності протизапального лікування шляхом додавання до фармакологічної схеми збагаченої тромбоцитами плазми. Цей ефект характеризується редукцією вираженості запального набряку лапи щурів, зниженням запального індексу, а також відновленням соматосенсорної (больової) чутливості тварин при карагенан-індукованому асептичному запаленні після сумісного введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти. Виявлена протизапальна дія досліджуваних речовин виявилася максимальною на відтермінованих стадіях запальної реакції при введенні карагенану, а саме, починаючи з 4 год досліді, і тривала до кінця досліді.

Висновок. При сумісному введенні збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти вираженість карагенан-ініційованого асептичного запалення пригнічується завдяки впливу комплексної фармакологічної схеми на основні ланцюги запальної реакції. Виявлена протизапальна ефективність сумісного введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти та патогенетична обумовленість реалізації даного захисного ефекту при карагенан-ініційованому запаленні лапи щурів доводить доцільність клінічного тестування протизапальної ефективності цієї фармакологічної схеми.

Ключові слова: ексудативне запалення, карагенан, щури, набряк лапи, больова чутливість, елагова кислота, збагачена тромбоцитами плазма, патофізіологічні механізми.

Актуальність. Запалення відоме як сформована у процесі еволюційного розвитку загальнобіологічна захисно-приспосувальна реакція організму у відповідь на вплив альтеруючих впливів алергічного, токсичного генезу, інфекційних чинників тощо [1]. Означена захисно-приспосувальна реакція організму спрямована на локалізацію флогогену у місці його проникнення в організм, його виведення (елімінацію) з організму та на процеси відновлення (регенерації) ушкодженої ділянки (або тканини) організму. За фундаментальними уявленнями, запалення може маніфестувати в організмі у вигляді гострої патологічної реакції та хронічного патологічного стану [1, 2]. Зазвичай, організм в змозі впоратися із гострою запальною реакцією активацією власного імунного захисту, інша клінічна маніфестація характеризує стани з хронічним запаленням, при яких втрачається захисна (або приспосувальна) функція даного процесу та які потребують більш вираженої, іноді за допомогою фармакологічної терапії, активації імунного захисту та характеризуються розвитком супутніх патологічних реакцій із патологічної дисфункцією інших органів та систем органів (серцево-судинної, травної, суглобово-м'язевої систем та ін.) [3-5]. Подібне потребує перегляду та інколи припинення протизапального лікування [6].

Саме тому механізми найдавнішої та найвідомішої патологічної реакції – запальної реакції організму – дотепер потребують уточнення з точки зору їхніх патофізіологічних механізмів та перегляду протизапальної терапії. В патогенезі гострого запалення доведено прискорення процесів ліпопероксидації, гіперпродукцію прозапальних цитокінів та чинників росту, активацію синтезу окису азоту, арахідонової кислоти та інші патобіохімічні механізми [1, 3, 4]. В ранній стадії запальної реакції доведено залучення процесу дегрануляції базофільних лейкоцитів із визволенням гістаміну, серотоніну, брадікініну, активації циклооксигенази зі збільшенням вмісту простагландинів, в той час як протягом відтермінованої стадії запальної реакції в більшому ступені характерні процеси інфільтрації нейтрофілів та триваючі внаслідок патобіохімічних реакцій судинні реакції [1].

В теперішній час запалення вважається одним із ланцюгів у складних патогенетичних механізмах хронічних остеодинтрофічних процесів, церебральних дегенеративних процесів, запалення та ін., тобто перебіг типового патологічного запального процесу придбав окремі нові клінічні ознаки, які потребують уточнення задля можливості його ранішньої діагностики та послідуочної ефективної патогенетичної фармакокорекції [2, 6-9].

Вважається, що фармакологічним сполукам, які ефективно протидіють прискоренню процесів ліпопероксидації, запобігають утворенню активних вільних радикалів, визволенню прозапальних цитокінів та утворенню білкових медіаторів запалення, гальмують активність циклооксигенази та гіперактивної індуцибельної форми окису азоту, притаманні більш виражені протизапальні властивості, ніж сучасним протизапальним фармакологічним препаратам [10, 11].

З числа можливих напрямів пошуку нових речовин із протизапальною активністю перспективним є дослідження сполук рослинного походження, яким притаманні численні біологічні та фармакологічні ефекти, у тому числі й протизапальні [11-13]. Ми зацікавилися протизапальними ефектами рослинних поліфенолів, з яких обрали для дослідження елагову кислоту (ЕК), для якої доведені антиоксидантні, протибольові, протипухлинні та протизапальні ефекти [14, 15]. Доведені також протизапальні властивості аутологічної збагаченої тромбоцитами плазми (ЗТП) крові [16, 17], що ми розглядаємо в якості можливості перевірки підсилення вираженості протизапального ефекту при сумісному введенні означених двох субстанцій,

Ціль: визначення протизапальної ефективності збагаченої тромбоцитами плазми при її роздільному та сумісному введенні з елаговою кислотою при карагенан-спричиненому ексудативному запаленні лапи щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження були проведені за умов гострого експерименту на щурах-самцях лінії Вістар згідно вимог щодо

використання лабораторних тварин у експериментальних дослідженнях (Конвенція Ради Європи, 1986; Закон України від 21.02.2006, №3447-IV). Щури знаходилися на стандартній дієті та мали вільний доступ до води. Утримання, поводження та всі маніпуляції з експериментальними тваринами та проводилися відповідно до «Міжнародного кодексу медичної етики» (Венеція, 1983), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих V Національним конгресом з біоетики (Київ, 2013 р.) та Директиви Європейського Парламенту та Ради 2010/63/ЄС про захист тварин, які використовуються для наукових цілей.

Застосовували наступні групи експериментальних щурів: 1 – контроль (інтактні тварини, $n=6$); 2 - щури з інтраплантарним введенням карагенану ($n=8$); 3 - щури з інтраплантарним введенням карагенану, яким перорально вводили референс-препарат диклофенак натрію (ДН; 2.5% розчин; 8.0 мг/кг; «Лубнифарм», Україна, $n=6$); 4 - щури з інтраплантарним введенням карагенану + ЗТП ($n=8$); 5 - щури з інтраплантарним введенням карагенану + ЕК (2,3,7,8 тетрадоксид(1) бензопіранол (5,4,3-cde)(1) бензопіран-5,10-діон; в/очер; 30 мг/кг; ООО «Хімлаборектив», Україна; $n=8$); 6 - щури з інтраплантарним введенням карагенану + ЕК + ЗТП ($n=8$).

Запальну реакцію викликали введенням 0,1 мл 1,0 % розчину карагенану шляхом субплантарної ін'єкції в стопу правої задньої лапи. Досліджувані фармакологічні сполуки та референс-препарат вводили тваринам за 40 хв до введення карагенану. За щурами після цього спостерігали протягом 6 год. Через 30 хв 1, 2, 4 і 6 год після інтраплантарного введення карагенану у щурів оцінювали вираженість проявів асептичного ексудативного запалення лапи - об'єм та товщину запального набряку. Об'єм набряку вимірювали за допомогою цифрового плетизмометра 37140 ("Ugo Basile", Китай), товщину набряку — електронним штангенциркулем УТ-7201 ("УАТО", Польща) [12]. Набряк лапи щурів визначали за формулою (а-б), в якій вказані показники означали об'єм правої лапи до та після введення карагенану

та призначення відповідних фармакологічних сполук.

Протизапальну активність (Inflammatory response suppression index) оцінювали у відсотках за рівнем редукції набряку в задніх лапах тварин, яким вводили досліджувані фармакологічні сполуки, порівняно аналогічним показником у щурів з карагенан-спричиненим набряком лапи, який приймали за 100%.

У вказані інтервали часу після інтраплантарного введення карагенану поведінку щурів визначали в тесті відсмикування хвоста (tail-flick test) та тесті «гарячої пластини» (hot-plate test), які виконували за загальноприйнятою методикою [18, 19]. В тесті відсмикування хвоста визначали латентний період відсмикування хвоста із рідини з температурою в 50 оС, в тесті «гарячої пластини» визначали температуру металеві поверхні, при якій щури намагалися відсмикувати лапу або підстрибнути.

Збагачену тромбоцитами плазму, яку готували за стандартною методикою, після приготування відразу вводили в праву задню кінцівку щурів об'ємом 0,2 мл лінійно ретроградно від двох точок [17].

Отримані дані обчислювали статистично із застосуванням непараметричного критерію Крускал-Валлісу. $P<0.05$ обирали як критерій вірогідності.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Перебіг карагенан-спричиненого гострого ексудативного асептичного запалення у щурів характеризувався суттєвим посиленням ексудативного компоненту запальної реакції, максимум вираженості якої реєстрували на 4 год патологічного процесу, що проявлялося суттєвим збільшенням показників товщини та об'єму набряку (9.1 ± 0.9 мм та 8.84 ± 0.08 мл, відповідно; $p<0.01$; Рис. 1).

Роздільне та сумісне введення ЕК та ЗТП виявилось нездатним вплинути на вираженість карагенан-спричиненого набряку лапи протягом перших 2 год ($p>0.05$). Через 4 год після введення карагенану величини досліджуваних показників в разі роздільного та сумісного введення ЕК та ЗТП були значно менше при по-

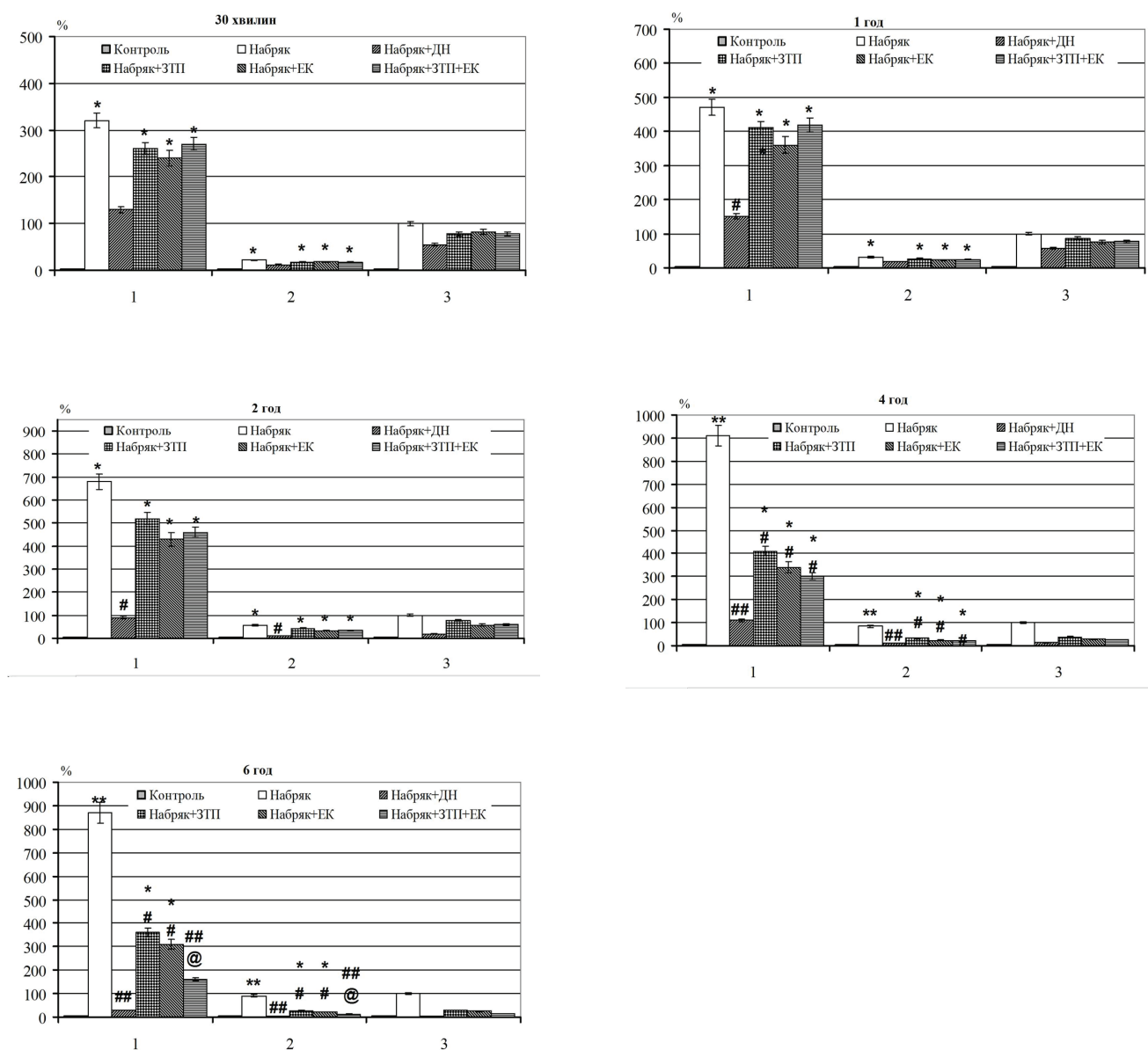


Рис. 1. Вплив роздільного та сумісного введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти на вираженість кареган-спричиненого ексудативного запалення лапи щурів.

Позначення: за віссю абсцис – досліджувані групи щурів протягом терміну дослідження (30 хв, 1, 2, 4 і 6 год); за віссю ординат – досліджувані показники, визначені у % відносно відповідних значень у щурів в контрольних спостереженнях: 1 – товщина набряку; 2 – об'єми набряку; 3 – показник пригнічення запальної реакції.

Примітки: * – $p < 0.05$ та ** – $p < 0.01$ – достовірні відмінності порівняно з відповідними значеннями у щурів контрольної групи;

– $p < 0.05$ та ## – $p < 0.01$ – достовірні відмінності порівняно з відповідними значеннями у щурів з набряком лапи;

@ – $p < 0.05$ – достовірні відмінності порівняно з відповідними значеннями у щурів з набряком лапи, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму (в усіх обчисленнях застосовували критерій Крускал-Валлісу).

рівнянні з аналогічними показниками у щурів з набряком лапи (в усіх обчисленнях $p < 0.05$), але продовжували залишатися більшими, ніж у щурів без введення фармакологічних препаратів (в усіх обчисленнях $p < 0.05$). При цьому індекс пригнічення запальної реакції у щурів вказаних трьох груп виявився співставним і варіював в межах від 26.2% до 38.1% відносно такого показника у щурів з набряком лапи без введення фармакологічних препаратів (в усіх обчисленнях $p < 0.05$).

На 6-й год досліджу введення ЕК та ЗТП ініціювали практично тотожне зменшення показників запалення лапи, які були на 58.6% та на 70.3% (товщина та об'єм лапи після введення ЗТП) та на 64.4% і на 75.8% (товщина та об'єм лапи після введення ЕК) менше ніж аналогічні показники у щурів із карагенан-ініційованим набряком лапи без введення фармакологічних сполук. Величини досліджуваних показників карагенан-ініційованого запалення лапи в разі

сумісного введення ЗТП та ЕК дорівнювали, відповідно, 1.6 ± 0.2 мм і 0.13 ± 0.01 мл, що, будучи менше відповідних показників у щурів із набряком лапи без лікування (в усіх обчисленнях $p < 0.01$), виявилось в 2.25 та в 2.08 разів менше при порівнянні з аналогічним показниками в щурів із набряком лапи, якими вводили ПРП (в усіх обчисленнях $p < 0.05$). Отримані вірогідні зміни товщини та об'єму набряку лапи щурів на 6-й годині досліджу підтверджувалися зменшенням індексу вираженості запальної реакції.

В тесті відсмикування хвоста протягом перших 2 год після введення карагенану латентний період відсмикування хвоста у групах щурів із набряком лапи та з набряком лапи, яким роздільно та сумісно вводили ЗТП та ЕК, був суттєво менше, ніж такий самий контрольний показник ($p < 0.05$), та виявився тотожним з аналогічним показником у щурів набряком лапи без лікування ($p > 0.05$; Таблиця 1).

Таблиця 1

Вплив роздільного та сумісного введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти на поведінку в тестах «відсмикування хвоста» та «гарячої пластини» при карагенан-спричиненому ексудативному запаленні лапи щурів

Групи щурів	Основні досліджувані показники, $M \pm m$	
	Тест на відсмикування хвоста. Латентний період, сек	Тест гарячої пластини. Температура відсмикування лапи, °C
30 хвилин		
1. Контроль, n=6	4.7 ± 0.4	48.4 ± 3.7
2. Щури із набряком лапи, n=8	$2.8 \pm 0.3^*$	$31.1 \pm 3.1^*$
3. Щури із набряком лапи + диклофенак, n=6	$3.1 \pm 0.3^*$	$33.4 \pm 3.2^*$
4. Щури із набряком лапи + ЗТП, n=8	$3.0 \pm 0.3^*$	$29.8 \pm 2.8^*$
5. Щури із набряком лапи + ЕК, n=8	$2.7 \pm 0.3^*$	$30.6 \pm 2.7^*$
6. Щури із набряком лапи + ЗТП + ЕК, n=8	$3.2 \pm 0.3^*$	$31.1 \pm 2.7^*$
1 год.		
1. Контроль, n=6	4.8 ± 0.4	46.4 ± 3.8
2. Щури із набряком лапи, n=8	$2.1 \pm 0.2^*$	$27.6 \pm 2.4^*$

3. Щури із набряком лапи + диклофенак, n=6	3.3±0.3#	36.2±3.1
4. Щури із набряком лапи + ЗТП, n=8	2.6±0.2*	28.4±2.6*
5. Щури із набряком лапи + ЕК, n=8	2.4±0.2*	27.6±2.4*
6. Щури із набряком лапи + ЗТП + ЕК, n=8	2.7±0.3*	29.3±2.7*
2 год.		
1. Контроль, n=6	5.1±0.4	50.1±4.4
2. Щури із набряком лапи, n=8	2.3±0.3*	26.2±2.4*
3. Щури із набряком лапи + диклофенак, n=6	4.1±0.4#	40.4±3.8#
4. Щури із набряком лапи + ЗТП, n=8	2.8±0.3*	26.8±2.8*
5. Щури із набряком лапи + ЕК, n=8	2.7±0.2*	29.6±2.8*
6. Щури із набряком лапи + ЗТП + ЕК, n=8	3.2±0.3*	30.3±2.8*
4 год.		
1. Контроль, n=6	4.6±0.4	44.8±3.8
2. Щури із набряком лапи, n=8	2.2±0.2*	24.8±2.6
3. Щури із набряком лапи + диклофенак, n=6	4.1±0.4#	42.7±4.1#
4. Щури із набряком лапи + ЗТП, n=8	3.3±0.3#	28.4±2.6*
5. Щури із набряком лапи + ЕК, n=8	3.2±0.3#	27.7±2.7*
6. Щури із набряком лапи + ЗТП + ЕК, n=8	3.9±0.3#	34.2±2.9#
6 год.		
1. Контроль, n=6	4.7±0.4	46.7±3.9
2. Щури із набряком лапи, n=8	3.3±0.3*	22.3±2.3
3. Щури із набряком лапи + диклофенак, n=6	4.4±0.4#	42.1±3.8#
4. Щури із набряком лапи + ЗТП, n=8	3.2±0.3#	29.9±2.8#
5. Щури із набряком лапи + ЕК, n=8	3.3±0.3#	31.2±2.9#
6. Щури із набряком лапи + ЗТП + ЕК, n=8	4.3±0.4#@	39.8±3.6#@

Примітки: * – $p < 0.05$ та ** – $p < 0.01$ – достовірні відмінності порівняно з відповідними значеннями у щурів контрольної групи; # – $p < 0.05$ та ## – $p < 0.01$ – достовірні відмінності порівняно з відповідними значеннями у щурів з набряком лапи; @ – $p < 0.05$ – достовірні відмінності порівняно з відповідними значеннями у щурів з набряком лапи, яким вводили збагачену тромбоцитами плазму (в усіх обчисленнях застосовували критерій Крускал-Валлісу).

На 4-й год перебігу карагенан-спричиненого набряку лапи величина досліджуваного показника у щурів, яким роздільно вводили ЗТП та ЕК, дорівнювала 3.3 ± 0.3 сек та 3.2 ± 0.3 сек, відповідно, що виявилось більше при порівнянні з таким показником у щурів із набряком лапи без лікування ($p < 0.05$). Латентний період відсмикування хвоста в групі щурів із набряком лапи та сумісним введенням ЗТП та ЕК виявився більшим, ніж у щурів із набряком лапи без лікування ($p < 0.05$) та співставним з таким показником при роздільному введенні даних речовин.

На 6-й год досліджу латентний період відсмикування хвоста в групі щурів із набряком лапи та сумісним введенням ЗТП та ЕК дорівнював 4.3 ± 0.4 сек, що виявилось на 30.3% більше, ніж аналогічний показник у щурів із набряком лапи без лікування, та на 34.4% більше при порівнянні з таким показником в групі щурів із набряком лапи, яким окремо вводили ЗТП (в усіх обчисленнях $p < 0.05$).

В тесті «гарячої пластини» роздільне введення щурам із набряком лапи ЗТП та ЕК виявилось неефективним протягом 4 год досліджу – величина досліджуваного показника була співставна з відповідним показником у щурів із карагенан-спричиненим набряком лапи ($p > 0.05$).

За умов сумісного введення щурам із карагенан-спричиненим набряком лапи ЗТП та ЕК латентний період відсмикування лапи щурів на 4-й добі досліджу дорівнював 34.2 ± 2.9 сек, що виявилось на 37.9% більше, ніж у щурів із набряком лапи без лікування ($p < 0.05$). На 6-й год досліджу величина досліджуваного показника, будучи суттєво більшою при порівнянні з аналогічним показником у щурів із набряком лапи без лікування, виявилась на 33.1% більше відповідно такого показника у щурів із набряком лапи, яким вводили ЗТП (в усіх обчисленнях $p < 0.05$).

Таким чином, сукупність отриманих даних свідчить про досягнуту та статистично підтверджену можливість підвищення ефективності протизапального лікування шляхом додавання до фармакологічної схеми ЗТП. Подібне твердження характеризується тим,

що в разі сумісного введення ЗТП і ЕК при карагенан-індукованому асептичному запаленні було зареєстровано редукцію вираженості запального набряку лапи щурів, зниження запального індексу, а також відновлення соматосенсорної чутливості експериментальних тварин.

Виявлена протизапальна дія досліджуваних речовин виявилась максимальною на відтермінованих стадіях запальної реакції при введенні карагенану, а саме, починаючи з 4 год досліджу, і тривала до кінця досліджу. Сумісне введення ЗТП і ЕК при цьому ефективніше усувало набряк лапи та в меншому ступені і пізніше виявилось ефективним в аспекті відновлення больової чутливості. Відзначимо при цьому, що протизапальна ефективність роздільного та сумісного введення ЗТП та ЕК поступалася такому ефекту при введенні референс-препарату диклофенаку натрію.

Отримані дані скоріше за все мають феноменологічне значення. При їх обговоренні ми дозволимо акцентувати увагу на наступних положеннях. По-перше, вважаємо важливим вивчення питання про розробку ефективних схем протизапальної терапії з впливом на його провідні патобіохімічні ланки патогенезу. У цьому аспекті вважаємо важливим не стільки доведені протизапальні ефекти ЕК в умовах карагенан-індукованого запального набряку лапи щура, скільки висвітлену принципову можливість підвищення ефективності протизапального ефекту в результаті сумісного введення ЗТП та ЕК. Ми впевнені, що досягли ефекту адитивності в результаті цього сумісного застосування рослинного поліфенолу та рідини з сумішшю автентичних біологічно активних компонентів, що, на наш погляд, є цікавим та багатообіцяючим фактом, який потребує інтенсивної експериментальної перевірки та клінічної апробації.

По-друге, виявлені результати співвідносяться з отриманими даними, які ще не опубліковані та висвітлюють пригнічення вивільнення прозапальних цитокінів фактору некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-1-бета при карагенан-спричиненому запаленні внаслідок сумісного введення ЗТП та ЕК. Але все

ж таки, приймаючи до уваги візуальні ефекти та отримані абсолютні дані зменшення вираженості запалення лапи тварин після сумісного введення відзначених речовин, ми впевнені, що при сумісному застосуванні ЗТП та ЕК досягається ефект пригнічення патогенетичних циклічних самопідтримуючихся механізмів запалення, що згубно впливає на стабільність внутрішньоклітинних структур, клітинних мембран і функціональну активність органів і систем організму. Зменшення вивільнення прозапальних цитокінів за вказаних умов лише підтверджує протизапальну ефективність схеми фармакологічної корекції, яка тестується.

По-третє, цікаво, що додатково до зменшення вираженості маніфестації карагенан-ініційованого запального набряку лапи щурів, нами доведено нормалізацію больової реакції за вказаних умов при сумісному введенні ЗТП та ЕК в тестах відсмикування хвоста та «гарячої пластини». Подібне відновлення соматосенсорної чутливості при периферичних невропатіях фахівцями вважається в якості доведення ефективності лікувальних схем, в тому числі і протизапальної спрямованості [20, 21].

Вважаємо доцільним обґрунтувати причини вибору нами ЗТП для цих досліджень. Початкові дані про протективні ефекти ЗТП для клітинної регенерації, хрящової та кісткової репарації, для спортивної медицини, травматології та стоматології отримали надалі суттєві доповнення, які розширили спектр застосування даного джерела біологічно активних субстанцій. В даний час вважається можливим застосовувати ЗТП у тому числі й для надання протизапального ефекту за рахунок факторів росту, що знаходяться в ній [22, 23]. Доведено також здатність ЗТП посилювати локальну перфузію з покращенням трофіки тканини та репаративний ефект у стадії проліферації [24, 25], що також збільшує арсенал показань для перевірки ефективності реалізації протизапального ефекту ЗТП.

І, насамкінець, вважаємо принципово важливим, що внаслідок сумісного введення ЗТА та ЕК не лише зменшується вираженість карагенан-ініційованого асептичного запалення

та відновлюється соматосенсорна чутливість, скільки реалізується можливість впливу на основні ланцюги запальної реакції. При цьому висвітлена протизапальна ефективність сумісного введення ЗТП та ЕК та патогенетична обумовленість реалізації даного захисного ефекту при карагенан-ініційованому запаленні лапи щурів доводить доцільність клінічного тестування протизапальної ефективності даної фармакологічної схеми.

Отже, протизапальна ефективність сумісного введення ЗТП та ЕК при карагенан-індукованому запаленні має важливе прикладне значення, оскільки дозволяє розірвати «порочне коло» патогенезу самопідсилюючої та самопідтримуючої флогогенної патологічної реакції та активізувати саногенетичні механізми.

ВИСНОВКИ

1. Сумісне введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти щурам із карагенан-спричиненим ексудативним запаленням виявляє протизапальну активність, вираженість якої перевищує таку при роздільному введенні цих речовин.
2. Протизапальна ефективність сумісного введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти проявляється зменшенням вираженості карагенан-індукованого набряку лапи щурів, зменшенням абсолютної величини показника пригнічення запальної реакції, а також відновленням сомато-сенсорної (больової) чутливості.
3. Відновлення соматосенсорної (больової) чутливості щурів при карагенан-спричиненому ексудативному запаленні проявлялося збільшенням латентного періоду відсмикування хвоста від гарячої води в тесті на відсмикування хвоста та збільшенням температури металевої поверхні, з якої намагалося відсмикнути лапу тварина в тесті «гарячої пластини».
4. Протизапальна дія в разі сумісного введення збагаченої тромбоцитами плазми та елагової кислоти за умов карагенан-спричиненого ексудативного запалення виявилася максимальною на відтермінованих стадіях

запальної реакції при, а саме, на 4 год дослід-
ду, і тривала до кінця дослід-
ду.

5. При сумісному введенні збагаченої тромбо-
цитами плазми та елагової кислоти вираже-
ність карагенан-ініційованого асептичного
запалення пригнічується завдяки впливу
комплексної фармакологічної схеми на ос-
новні ланцюги запальної реакції.
6. Виявлена протизапальна ефективність су-
місного введення збагаченої тромбоцитами
плазми та елагової кислоти та патогенетич-
на обумовленість реалізації даного захис-
ного ефекту при карагенан-ініційованому
запаленні лапи щурів доводить доцільність
клінічного тестування протизапальної
ефективності цієї фармакологічної схеми.

REFERENCES

1. Клименко МО. Низькоступеневе дифузне
хронічне запалення. Актуальні проблеми
транспортної медицини. 2022; 3(69): 7-19.
DOI: 10.5281/zenodo.7188166
2. Petryk N, Shevchenko O. Anti-inflammatory
Activity of Mesenchymal Stem Cells in
λ-Carrageenan-Induced Chronic Inflammation
in Rats: Reactions of the Blood System,
Leukocyte-Monocyte Ratio. *Inflammation*.
2020; 43(5): 1893–1901. DOI: 10.1007/s10753-
020-01262-5
3. Antonelli M, Kushner I. It's time to redefine
inflammation. *FASEB J*. 2017; 31: 1787-1791.
DOI: 10.1096/fj.201601326R
4. Moroz VM, Shandra OA, Vastyanov RS,
Yoltukhivsky MV, Omelchenko OD. *Physiology*.
Vinnytsia : Nova Knyha, 2016: 722.
5. Schmidt M, Sørensen HT, Pedersen L.
Cardiovascular risks of diclofenac versus
other older COX-2 inhibitors (meloxicam
and etodolac) and newer COX-2 inhibitors
(celecoxib and etoricoxib): a series of nationwide
emulated trials. *Drug Saf*. 2022; 45(9): 983–994.
DOI: 10.1007/s40264-022-01211-1
6. Roe K. An inflammation classification system
using cytokine parameters. *Scand J Immunol*.
2021; 93(2): e12970. DOI: 10.1111/sji.12970.
7. Андреева Т.О., Стоянов О.М., Мірджуряєв
Е.М., Чеботарьова Г.М., Калашніков В.Й.,
Вастьянов Р.С., Дарій В.І. Клініко-морфо-
метричні зміни шийного відділу хребта в
людей і тварин з болем у шиї. *Біль. Суглоби*.
Хребет. 2024; 154(3): 51-58. DOI: 10.22141/
rjs.14.3.2024.430
8. Вастьянов РС, Олейник АА, Шандра АА.
Взаємозв'язок епілепсії та запалення. *Інте-
гративна антропологія*. 2006; 1(7): 34–41
9. van Luijtelaaar G, Lyashenko S, Vastyanov R,
Verbeek G, Oleinik A, van Rijn C, Volokhova G,
Shandra A, Coenen A, Godlevsky L. Cytokines
and absence seizures in a genetic rat model.
Neurophysiology. 2012; 43(6): 478-486
10. Jurcau MC, Jurcau A, Cristian A, Hogeia
VO, Diaconu RG, Nunkoo VS. Inflammaging
and Brain Aging. *Int J Mol Sci*. 2024; 25(19):
10535. DOI: 10.3390/ijms251910535.
11. Leńska-Mieciek M, Madetko-Alster N,
Alster P, Królicki L, Fiszer U, Kozirowski D.
Inflammation in multiple system atrophy. *Front
Immunol*. 2023; 14: 1214677. DOI: 10.3389/
fimmu.2023.1214677.
12. Черних ВВ, Шебеко СК, Зупанець КО. Про-
тизапальні властивості стандартизованої
рослинної композиції ВНО 2103 у щурів
з флогоген-індукованим набряком стопи.
Фармакологія та лікарська токсикологія.
2022; 16(1): 57-66. DOI: 10.33250/16.01.057
13. Hoffmann A, Ettle B, Battis K, Reiprich
S, Schlachetzki JCM, Masliah E, et al. .
Oligodendroglial α-synucleinopathy-driven
neuroinflammation in multiple system atrophy.
Brain Pathol (2019) 29(3):380–96. DOI:
10.1111/bpa.12678
14. Čižmaríková M, Michalková R, Mirossay L,
Mojžišová G, Zigová M, Bardelčíková A. et al.
Ellagic Acid and Cancer Hallmarks: Insights
from Experimental Evidence. *Biomolecules*.
2023; 13(11): 1653. DOI: 10.3390/
biom13111653.
15. Jeong S, Bae S, Shin EC, Lee JH, Ha JH. Ellagic
Acid Prevents Particulate Matter-Induced
Pulmonary Inflammation and Hyperactivity in
Mice: A Pilot Study. *Int J Environ Res Public
Health*. 2023; 20(5): 4523. DOI: 10.3390/
ijerph20054523.
16. Qiao J, Guo X, Zhang L, Zhao H, He X.
Autologous platelet rich plasma injection can

- be effective in the management of osteoarthritis of the knee: impact on IL-1 β , TNF- α , hs-CRP. *J Orthop Surg Res*. 2024; 19(1): 703. DOI: 10.1186/s13018-024-05060-9.
17. Vastyanov RS, Chekhlova OV. Pathophysiological model of indirect revascularization in rats with microangiopathy of limbs caused by experimental streptozocin diabetes. *Reports of Morphology*. 2019; 25(4): 24-29. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(4)-04
 18. Ядловський ОЕ, Суворовіа ЗС, Науменко МВ. Особливості використання тесту «Гаряча пластина» у фармакологічних дослідженнях. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020; 14(3): 177–184. DOI: 10.33250/14.03.177
 19. Singh P, Kongara K, Harding D, Ward N, Dukkipati VSR, Johnson C, Chambers P. Comparison of electroencephalographic changes in response to acute electrical and thermal stimuli with the tail flick and hot plate test in rats administered with opiorphin. *BMC Neurol*. 2018; 18(1): 43. DOI: 10.1186/s12883-018-1047-y.
 20. Ji RR, Nackley A, Huh Y, Terrando N, Maixner W. Neuroinflammation and Central Sensitization in Chronic and Widespread Pain. *Anesthesiology*. 2018; 129(2): 343-366. DOI: 10.1097/ALN.0000000000002130.
 21. Matsuda M, Huh Y, Ji RR. Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain. *J Anesth*. 2019; 33(1): 131-139. DOI: 10.1007/s00540-018-2579-4.
 22. Everts PA, van Erp A, DeSimone A, Cohen DS, Gardner RD. Platelet rich plasma in orthopedic surgical medicine. *Platelets*. 2021; 32(2): 163–174. DOI: 10.1080/09537104.2020.1869717
 23. Gupta S, Paliczak A, Delgado D. Evidence-based indications of platelet-rich plasma therapy. *Expert Rev Hematol*. 2021; 14(1): 97–108. DOI: 10.1080/17474086.2021.1860002
 24. Everts P, Onishi K, Jayaram P, Lana JF, Mautner K. Platelet-Rich Plasma: New Performance Understandings and Therapeutic Considerations in 2020. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(20): 7794. DOI: 10.3390/ijms21207794.
 25. Fang J, Wang X, Jiang W, Zhu Y, Hu Y, Zhao Y. et al. Platelet-Rich Plasma Therapy in the Treatment of Diseases Associated with Orthopedic Injuries. *Tissue Eng Part B Rev*. 2020; 26(6): 571-585. DOI: 10.1089/ten.TEB.2019.0292.

PLATELET-RICH PLASMA ENHANCES THE ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF ELLAGIC ACID IN CARRAGEENAN-INDUCED EXUDATIVE INFLAMMATION

Vastyanov R.S., Stoyanov O.M., Zolotaryova N.A., Babienko V.V., Hruzevskiy O.A., Kirchev V.V.

Odesa National Medical University, Odesa, Ukraine

rvastyanov@gmail.com

Background. Inflammation is an evolutionary developed general biological protective and adaptive reaction of the body in response to the alterative agents of allergic, toxic genesis influence. Modern treatment of inflammation requires prolonged administration of anti-inflammatory both steroid and non-steroidal pharmacological agents which increase the risk of expressive adverse reactions and complications development. We were interested in the anti-inflammatory effects of plant polyphenols, especially ellagic acid, and autologous platelet-rich plasma investigation.

Aim: to determine the expression of platelet-rich plasma anti-inflammatory effect in conditions of its complex use in a model of carrageenan-induced exudative inflammation of rats paw.

Materials and methods. In the work, carrageenan-induced paw edema was induced in rats in conditions of acute experiment. Platelet-rich plasma and ellagic acids separate and combined administration was used with therapeutic purposes in animals. Diclofenac sodium was chosen as a reference drug. The aseptic exudative paw edema expression - the volume and thickness of inflammatory edema, as well as the severity of somatosensory (pain) sensitivity in the tail-flick and "hot plate" tests - were determined 30 min, 1, 2, 4 and 6 hrs after carrageenan administration.

Results. The data obtained indicate the achieved possibility of anti-inflammatory treatment efficacy increasing by platelet-rich plasma adding to the pharmacological regimen. This effect is characterized by the severity of rats' paw inflammatory edema reduction, an inflammatory index decreases as well as the somatosensory (pain) sensitivity restoration in animals in conditions of carrageenan-induced aseptic inflammation after platelet-rich plasma and ellagic acid combined administration. The investigated compounds anti-inflammatory effect was maximal at the delayed stages of inflammatory reaction, namely, starting from 4 hour and continued till the end of the trial.

Conclusion. The expression of carrageenan-initiated aseptic inflammation suppressed as a result of platelet-rich plasma and ellagic acid combined administration due to this complex pharmacological scheme impact on the main chains of the inflammatory reaction development. The revealed platelet-rich plasma and ellagic acid combined administration anti-inflammatory efficacy together with this protective effect pathogenetic background in conditions of rat paw carrageenan-initiated inflammation prove the reasonability of this pharmacological scheme anti-inflammatory efficacy clinical testing.

Key words: exudative inflammation, carrageenan, rats, paw edema, pain sensitivity, ellagic acid, platelet-rich plasma, pathophysiological mechanisms.