НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА

«ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»

**НОСІВЕЦЬ ДМИТРО СЕРГІЙОВИЧ**

УДК 616.414-008.64:616.72-007.2]-092.9:615.212:615.276

**Фармакологічний аналіз знеболення та**

**хондропротекції за умов експериментальнОГО**

**остеоартрозу НА ТЛІ гіпотиреозу**

14.03.05 – фармакологія

**Автореферат**

дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора медичних наук

Київ – 2021

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі фармакології і клінічної фармакології Державного закладу «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров’я України»

**Науковий консультант:** доктор медичних наук, професор

**МАМЧУР Віталій Йосипович**,

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м.Дніпро, професор кафедри фармакології і клінічної фармакології

# Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук

**ЯДЛОВСЬКИЙ Олег Євгенович,**ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м.Київ, головний науковий співробітник відділу медичної хімії;

доктор медичних наук, професор

**ВОЛОЩУК Наталія Іванівна**,Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця, завідувач кафедри фармакології;

доктор медичних наук, професор, Заслужений діяч науки і техніки України

**ПОВОРОЗНЮК Владислав Володимирович**,

ДУ «Інститут геронтології імені Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», м. Київ, керівник відділу клінічної фізіології і патології опорно-рухового апарату.

Захист відбудеться «12» травня 2021 року об 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», за адресою: 03057, м. Київ, вул. Антона Цедіка, 14.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», за адресою: 03057, м. Київ, вул. Антона Цедіка, 14.

Автореферат розісланий«09» квітня 2021 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01

кандидат біологічних наук І.В.Данова

# ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Біль є одним з основних проявів численних захворювань та причиною страждань людини, що спонукає до застосування аналгетичних засобів. Больові відчуття реєструються як у пацієнтів з одним захворюванням, так і в осіб з коморбідною патологією. Біль є фактором, що обтяжує перебіг коморбідної і, особливо, хронічної патології, що зумовлює необхідність тривалого та безперервного застосування аналгетиків і тим самим підвищує ризики ускладнень та побічних реакцій фармакотерапії (S. B. McMahon et al., 2021; K-H. Kim et al., 2020; A. Qaseem et al., 2020; V. V. Povoroznyuk et al., 2020;Н. І. Волощук, 2008, 2009; Н. І. Волощук з співавт., 2007, 2013).

Фармакотерапія остеоартрозу (ОА) та гіпотиреозу (ГІТ) є однією з актуальних проблем сучасної медицини у всьому світі не лише через те, що ці патологічні стани є вельми поширеними, характеризуються тяжким перебігом та наслідками, що призводять до інвалідизації населення (N. Patil et al., 2021; B. Abramoff, F. E. Caldera, 2020; M. T. McDermott, 2020; І. Г. Палій, І. В. Ткачук, 2019), а ще і через недостатність знань щодо можливості та доцільності застосування ліків різних фармакотерапевтичних груп на тлі ОА, коморбідного з ГІТ. У цьому аспекті особливого значення набуває проблема знеболення, що окреслює актуальність дослідження ефективності та безпечності окремих аналгетиків за комбінованого застосування з препаратами, що використовуються для лікування ГІТ.

Окремі нозологічні форми ГІТ та ОА відрізняються за своєю етіологією. З недостатньою функціональною активністю щитоподібної залози (ЩЗ) пов'язаний розвиток ГІТ, а ОА – це дегенеративно-дистрофічний та запальний процес, що характеризується первинним ушкодженням гіалінового хряща суглоба (A. M. Borzìet et al., 2020; T. Hügle, 2020; S. Grässel, D. Muschter, 2020; L. Voloshyna et al., 2017). Проте певну роль у розвитку ОА відіграють й ендокринні фактори (D. J. Hunter et al., 2020; Л. О.Волошина, 2018).

Як окремі нозологічні захворювання ГІТ та ОА досить широко досліджені і розроблені протоколи надання медичної допомоги на різних рівнях. Продовжуються дослідження патофізіологічних механізмів цих захворювань, зокрема, з метою удосконалення методів та шляхів фармакологічної корекції патогенетичного та симптоматичного спрямування. До таких досліджень долучаються фахівці різних спеціальностей (ендокринологи, ортопеди, ревматологи тощо) (L. Sharma, 2021; О. Ленг, С. Разви, 2019; Л. О. Волошина, 2018; В. В. Поворознюк з співавт., 2014). Водночас, фактично не висвітлені в літературі питання щодо проблеми знеболення за ОА, асоційованого з ГІТ, не розроблені пропозиції щодо раціонального та безпечного використання аналгетиків з препаратами, здатними впливати на функціональний стан ЩЗ.

Відомий взаємозв'язок патології ЩЗ з розвитком ревматоїдного артриту (G. ConstantinodeCamposet et al., 2020)і системного червоного вовчаку (D. A. Marshallet al., 2019), цукрового діабету (A. Pundaet al., 2020; G. Devecerskiet al., 2006), серцево-судинної патології (S. Swainet al., 2020), розладами ШКТ (D. A. Marshallet al., 2019), енергетичного обміну (K. Pavelka, 2017), вегетативної нервової системи (A. Göbelet al., 2020) і дисбалансу статевих гормонів (P. F. Teixeiraet al., 2020; A. M. Taylor, 2013; Л. В. Теплова з співавт., 2017). При ГІТ активуються процеси перекисного окислення ліпідів, підвищується чутливість до стресу, уповільнюються окислювально-відновні реакції, порушується терморегуляція, накопичуються продукти обміну, виникають функціональні порушення ЦНС та ССС, розвивається дистрофія тканин з формуванням слизового набряку (мікседема) і розвитком «гіпотиреозних» артропатій і міопатій (В. С. Вернигородский з співавт., 2018; В. В. Поворознюк, 2014; В.І. Ткаченко, 2007). Тому особливого значення набувають питання фармакологічної корекції за сумісного перебігу ОА з ГІТ, здатних ускладнювати та прискорювати негативні наслідки метаболічного дисбалансу. Відомо про наявність та ступінь метаболічних порушень при ГІТ, що негативно впливають на стан кісткової і хрящової тканини, однак можливості фармакотерапії щодо стимуляції регенерації та нормалізації метаболічних порушень вивчені недостатньо (G. R. Williams, 2013;A. C. Bay-Jensenet al., 2013; Г. А. Мельниченко, Т. Б. Моргунова, 2009; Ж. Е. Белая з співавт., 2006).

Неопіоїдні аналгетики, а особливо, нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), що найчастіше використовуються для усунення больового синдрому при ОА, можуть прискорити ураження суглобів при ОА шляхом посилення синтезу прозапальних цитокінів або інгібуючи синтез протеогліканів хряща (M.Bianchi et al., 2007; Y. E. Henrotin et al., 1999; K. D.Rainsford et al., 1997; І.А. Зупанець з співавт., 2002). Проте питання впливу аналгетичної терапії на стан кісткової та хрящової тканин при ГІТ та їхній вплив на рівень біохімічних маркерів при гіпофункції ЩЗ досліджено недостатньо.

Відомо, що аналгетики можуть впливати на гормональну активність ЩЗ через безпосередній вплив на синтез та виділення гормонів або їх метаболізм, кліренс та поглинання тканинами (D. L. Panciera et al., 2006; F. Sauvé et al., 2003; C. F. Limet et al., 1996; S. I. Handa, S. Freestone, 1990). Проте, важливим та недослідженим питанням є вивчення процесів взаємодії аналгетичних засобів з препаратом замісної гормональної терапії L-тироксином, їхньої здатності впливати на біль різної інтенсивності.

Вважається, що призначення замісної гормональної терапії ГІТ призводить до відновлення інтенсивності метаболічних процесів, проте дослідження питання впливу гормонотерапії на структуру гіалінового хряща не проводились (E. Tsourdiet al., 2018; G. R. Williams, 2013; Л. О. Волошина, 2018). Також залишаються відкритими питання профілактики дегенеративно-дистрофічних змін у суглобах за ГІТі вивчення лікарської взаємодії з метою пропозицій щодо ефективного та безпечного комбінованого застосування препаратів різних фармакотерапевтичних груп.

Вищезазначене вказує на існування актуальної сучасної проблеми медицини, яка пов’язана з пошуком нових підходів до фармакотерапії больового синдрому та медикаментозного захисту суглобів у хворих на ОА та ГІТ шляхом визначення ефективності використання знеболювальних та хондропротекторних засобів за умов замісної гормональної терапії гіпотиреозу, що може слугувати теоретичними передумовами оптимізації лікування коморбідного стану. Вирішенню саме цієї проблеми присвячене дане дисертаційне дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно планової науково-дослідної роботи кафедри фармакології та клінічної фармакології ДЗ “ДМА МОЗ України” та є фрагментами НДР «Експериментально-теоретичне обґрунтування особливостей знеболювальної та нейропротекторної медикаментозної терапії в умовах моделюємої патології» (№ держреєстрації 0104U006269) (термін виконання: 2014-2018 рр.) та «Фармакологічний аналіз органо- та ендотеліопротекції за умов експериментальних патологічних станів» (№ держреєстрації 0118U006631) (термін виконання: 2018-2022 рр.). Дисертант є відповідальним виконавцем зазначених тем.

**Мета дослідження.**Провести фармакологічний аналіз ефективності знеболення та хондропротекції для експериментального обґрунтування оптимізованого застосування аналгетичних та хондропротекторних засобів за умов остеоартрозу на тлі гіпотиреозу.

**Завдання дослідження.** У відповідності до мети визначено такі основні завдання дослідження:

1. Оцінити ступінь больового та запального синдромів за умов моделювання остеоартрозу, гіпотиреозу та за їхнього поєднання у щурів. Вивчити спектр аналгетичної та хондропротекторної активності НПЗЗ, парацетамолу та L-тироксину за умов зазначених патологічних станів.

2. Дослідити протизапальну активність НПЗЗ та парацетамолу за рівнем біохімічних показників (інтерлейкіни, металопротеїнази, фактор некрозу пухлин, С-реактивний протеїн, кісткова лужна фосфатаза) за умов експериментального остеоартрозу та гіпотиреозу.

3. Встановити вплив НПЗЗ, парацетамолу та L-тироксину на функціональний стан щитоподібної залози за гіпотиреозу.

4. Вивчити вплив НПЗЗ та парацетамолу на руховий та психо-емоційний статус щурів у тесті «відкрите поле» на тлі больового синдрому, індукованого експериментальними остеоартрозом та гіпотиреозом.

5. Обґрунтувати принципи ефективного застосування болетамуючої, протизапальної та хондропротекторної терапії за умов остеоартрозу та гіпотиреозу. За ефективністю протизапальних та хондропротекторних засобів визначити найбільш перспективні для комбінованого застосування на тлі коморбідної патології.

6. За аналізом гістоморфологічних показників кісткової та хрящової тканин у щурів з остеоартрозом та гіпотиреозом та за коригуючим впливом засобів терапії визначити найбільш ефективні серед досліджуваних засобів для комбінованого застосування на тлі коморбідного стану.

7. Провести аналіз фізико-хімічної сумісності компонентів у найбільш ефективній композиції препаратів та запропонувати препарати для комбінованої фармакотерапії на тлі експериментальних остеоартрозу і гіпотиреозу.

*Об‘єкт дослідження:* фармакологічна корекція больового, запального синдромів і гормонального статусу за умов остеоартрозу та гіпотиреозу.

*Предмет дослідження:* фармакологічна активність НПЗЗ, парацетамолу, L-тироксину та хондроїтину сульфату за умов експериментального остеоартрозу та гіпотиреозу.

*Методи дослідження:* фармакологічні, електрофізіологічні, біохімічні, фармакокінетичні, гістоморфологічні та математико-статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** В експерименті вперше проведені системні порівняльні дослідження аналгетичної, протизапальної (диклофенак натрію, ібупрофен, мелоксикам, німесулід, целекоксиб, парацетамол) та хондропротекторної (хондроїтину сульфат) терапії за умов призначення засобу замісної гормональної терапії (L-тироксину)на тлі коморбідної патології – ОА та ГІТ.

Вперше досліджені структурні зміни кістково-хрящової тканини на тлі гіпофункції ЩЗ, що свідчать про вплив гормональної недостатності на хрящову тканину та висвітлюють необхідність медикаментозної корекції патологічних порушень.

Доповнено дані щодо особливостей больової перцепції за експериментальних патологічних станів та під впливом НПЗЗ та парацетамолу. Встановлено, що експериментальний ОА супроводжується зниженням порогу больової чутливості на 24% (р<0,05), тоді як за наявності коморбідної патології зниження порогу больового відчуття є меншим і сягає 17% (р<0,05). За умов експериментального ОА та ГІТ селективні та переважні інгібітори ЦОГ-2 значно втратили свою знеболювальну активність у порівнянні з аналгетиками - невибірковими інгібіторами ЦОГ, особливо диклофенаком натрію. Найбільш слабку аналгетичну дію виявляв парацетамол. Замісна гормонотерапія L-тироксином відновлювала антиноцицептивну активність НПЗЗ та парацетамолу.

Показано, що сумісне призначення НПЗЗ та парацетамолу з препаратом замісної гормональної терапії L-тироксином сприяє позитивним змінам рухової та дослідницької активності щурів за умов експериментального ОА та ГІТ та чинить різний вплив на показники спонтанної поведінкової активності.

Вперше оцінена протизапальна та хондропротекторна активність НПЗЗ та парацетамолу за рівнем маркерів IL 1, IL 6, IL 8, ММП-3, ММП-9, ММП-13, ФНП, СРП, КЛФ, СТХ I, СТХ IІ та встановлена спроможність досліджуваних препаратів до впливу на запальні та дегенеративно-дистрофічні процеси у хрящовій тканині та тканині суглобу за коморбідного стану.

Визначені препарати групи НПЗЗ, що впливають на концентрацію ТТГ, Т3 та Т4 у сироватці крові при ОА та ГІТ. Так, ібупрофен, мелоксикам та німесулід знижували рівень ТТГ у сироватці крові щурів у 1,47; 1,29 та 1,40 рази відповідно (р<0,05) та підвищували рівень Т4 у 1,23; 1,27 та 1,26 рази відповідно (р<0,05).

Встановлена здатність хондроїтину сульфату відновлювати морфометричні розміри уражених суглобів, показники рухової, дослідницької та вегетативної активності у щурів, проявляти помірну знеболювальну дію та позитивно впливати на біохімічні показники (рівні серомукоїдів, сіалових кислот, глікозаміногліканів, оксипроліну, сироваткового кальцію та маркеру СТХ ІІ) за коморбідного стану – ОА та ГІТ.

Вперше при ОА, коморбідного з ГІТ обґрунтованокомбіноване застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату. Саме за комбінованого застосування цих препаратів виявлені знеболювальні та протизапальні ефекти, а також активна регенерація як хрящової, так і кісткової тканини з формуванням ділянок неоваскулогенезу у пошкодженому суглобі. Доведено, що аналгетична активністьза комбінованого застосування диклофенаку натрію з хондроїтином сульфатом та L-тироксином при одноразовому внутрішньошлунковому введені на різних моделях больової перцепції вища за знеболювальну дію окремих препаратів.

Встановлена відсутність біофармацевтичної взаємодії між препаратами, що використовувалися для знеболення та зменшення запальних симптомів, на тлі ОА, асоційованого з ГІТ.

Наукову новизну підтверджено впровадженням досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я «Раціональне лікування остеоартрозу суглобів при супутньому гіпотиреозі» (реєстр № 276/6/19) та патентом України на корисну модель «Спосіб лікування остеоартрозу при супутньому гіпотиреозі» № 137435.

**Практичне значення одержаних результатів.**Результати роботи є передумовою для обґрунтування раціональних підходів до фармакотерапії болю і запалення та забезпечення адекватної хондропротекції у хворих на ОА при супутньому ГІТ.

За результатами виконаного дослідження ПраТ «Фітофарм» здійснено впровадження лікарського препарату «Артеджа Ін’єкції» у виробництво, що забезпечує його обіг на фармацевтичному ринку України (реєстраційне посвідчення № UA/15621/01/01).

На підставі проведеного дослідження визначена раціональна комбінація лікарських засобів для перорального застосування із знеболювальною та хондропротекторною діями, яка включає L-тироксин дозою 50-100 мг,диклофенак натрію дозою 150 мг та хондроїтину сульфат дозою 2 мл на добу при коморбідній патології ОА та ГІТ (патент України на корисну модель № 137435).

Інформаційними листами про нововведення у системі охорони здоров’я № 65 від 2019 р. «Ефективне застосування комбінованих нестероїдних протизапальних засобів при лікуванні остеоартрозу та супутньому гіпотиреозі», № 66 від 2019 р. «Особливості використання хондроїтину сульфату при лікуванні остеоартрозу на тлі гіпотиреозу» та № 67 від 2019 р. «Раціональне застосування нестероїдних протизапальних засобів та хондропротекторів при лікуванні остеоартрозу на фоні гіпотиреозу»надаються дані щодо раціонального призначення та особливостей застосування комбінації диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину заОА та супутньогоГІТ для підвищення ефективності лікування та профілактики розвитку ускладнень.

Результати проведених досліджень впроваджено в науково-педагогічну діяльність кафедр фармакології Запорізького державного медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова, Івано-Франківського національного медичного університету, Одеського національного медичного університету, Національного фармацевтичного університету (м. Харків) та ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

**Особистий внесок здобувача.**Дисертація є самостійно завершеною науковою працею. За участю наукового консультанта обраний напрямок дослідження, сформульовані мета та задачі, а також об’єм методичних підходів. Автором самостійно проведений інформаційно-патентний пошук, проведений аналіз літературних даних, відпрацьовані моделі та методи досліджень, проведені експериментальні дослідження, статистична обробка отриманих даних, систематизація отриманих результатів та їх наукова інтерпретація, сформульовані висновки та практичні рекомендації. Оформлення дисертаційної роботи та автореферату виконані дисертантом самостійно. Робота виконана на кафедрі фармакології та клінічної фармакології ДЗ «ДМА МОЗ України» (завідувач – д.мед.н., професор В.І. Жилюк). Комп’ютерне моделювання біофармацевтичної взаємодії досліджуваних препаратів проведені за консультативної допомоги завідувача відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України, академіка НАМН України, проф. М.Я. Головенко та с.н.с., д.б.н. В.Б. Ларіонова. Дослідження гістоморфологічних змін кісткової та хрящової тканини проведені у ДЗ «ДМА МОЗ України» в лабораторії кафедри патологічної анатомії і судової медицини (завідувач – к.мед.н., доцент О.А. Алєксєєнко) та лабораторії електронної мікроскопії (завідувач – д.мед.н., професор І.В. Твердохліб).

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи представлені на: XIII Северо-Западной научно-практической конференции по ревматологии (Санкт-Петербург, 2013), XVІ Міжнародній конференції «Современные стратегия и тактика в неврологии» (Трускавець, 2014), ХІX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2015), **науково-практичній конференції** «Філатовські читання - 2016» (Одеса, 2016), V Національному з’їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017), I Міжнародному конгресі асоціації ревмоортопедів (Воронеж, 2017), ІХ Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі досягнень доказової медицини» (Вінниця, 2017), **International scientific and practical conference «Prospects for the development of medicine in EU countries and Ukraine» (Wloclawek, Republic of Poland, 2018), н**аучно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Н.П. Демичева(Астрахань, 2019), міжвузівськійнауково-практичнійконференціїмолодих учених та студентів**«**Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекціїпатологічних станів**» (**Харків, 2019), **Міжнародній науково-практичній конференції** «Сучасні стандарти діагностики та лікування захворювань внутрішніх органів» (Івано-Франківськ, 2019), LXXIII **Міжнародній науково-практичній конференції**«Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2019» (Мінськ, Білорусь, 2019), науково-освітній конференції «Научные достижения и современные технологии в российской травматологии и ортопедии» (Омск, 2019), International scientific conference «Medicine under the modern conditions of integration development of European countries» (Lublin, **Republic of Poland,** 2019), III Міжнародному конгресі асоціації ревмоортопедів (Воронеж, 2019), **міжнародній науково-практичній конференції** «Илизаровские чтения» «Осложнения в ортопедии и травматологии. Клинические и экспериментальные аспекты» (Курган, 2019), науково-практичній конференції «Новітні тенденції в діагностиці та лікуванні внутрішніх хвороб» (Харків, 2019), X Всеукраїнській науково-практичній конференції «Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці з позицій доказової медицини» (Вінниця, 2019), **науково-практичній інтернет-конференції** «**Розвиток природничих наук як основа новітніх досягнень у медицині**» (Чернівці, **2019),** ІV Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2020), Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Сучасний стан та перспективи розвитку природничих дисциплін в медичній освіті» (Кропивницький, 2020), V Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» (Харків, 2021), ІІ Всеукраїнській науково-практичній інтернет-конференції «Сучасний стан та перспективи розвитку природничих дисциплін в медичній освіті» (Кропивницький, 2021).

**Публікації.** Результати досліджень, що викладені у дисертації, знайшли відображення у 53 наукових працях, з них: 22 статті у фахових наукових журналах, рекомендованих МОН України (з них 6 - закордонних), 1 монографія, 1 патент України на корисну модель, 1 нововведення, 23 роботи у матеріалах з’їздів, конференцій, конгресів, видано 3 інформаційні листи.

**Структура дисертації.**Дисертація викладена на 382 сторінках (основний обсяг становить 274 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 6 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури (всього 467 найменувань, з них 158 кирилицею та 309 латиницею), додатків. Робота проілюстрована 28 таблицями та 91 рисунком.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження**. В роботі на різних етапах експериментів використовувались дози дослідних препаратів, запозичені з літературних джерел, що знаходилися в діапазоні терапевтичних доз (ЕД50) та рекомендовані у доклінічних дослідженнях (А. Н. Миронов, 2012; Р. У. Хабриев, 2005; О.В. Стефанов, 2002). Контрольна група тварин одержувала дистильовану воду. Ненаркотичний аналгетик парацетамол (150; 300 мг/кг) (О. О. Нефьодов, 2017; О. В. Хомяк, 2012; В.І. Опришко, 2010); НПЗЗ – диклофенак натрію (10; 12 мг/кг) (S. Vitaic et al., 2017; N. Lojo et al., 2016; О. В. Хомяк, 2012; О. В. Макаренко, 2011; В. І. Опришко, 2010), ібупрофен (5; 7 мг/кг) (M. K. Park et al., 2019; О. О. Нефьодов, 2017), німесулід (80; 100 мг/кг) (M. ShamsiMeymandi et al., 2019; R. Mittal et al., 2018; A.Arslan et al., 2016; Е. А. Подплетняя, 2008), мелоксикам (10; 12 мг/кг) (A. Kuo et al., 2020; O. M. Laudanno et al., 1998; О. О. Нефьодов, 2017; О. В. Макаренко, 2011), целекоксиб (50; 60 мг/кг) (M. ShamsiMeymandi et al., 2019; S. Ahmad et al., 2018; О. О. Нефьодов, 2017; О. В. Хомяк, 2012; В. І. Опришко, 2010; Е. А. Подплетняя, 2008); гормональний препарат – L-тироксин (1,5 мкг/кг) (Е. А. Гусакова, И. В. Городецкая, 2019; Н. Ю. Масюк, И. В. Городецкая, 2018; В. О. Орлова, 2018); протиревматичний препарат хондропротекторної дії – хондроїтину сульфат (0,24; 5 мл) (А. Н. Миронов, 2012; Р. У. Хабриев, 2005; Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев, 1979).

Наведені вище дози для тварин були вибрані на основі екстраполяції (О. В. Стефанов, 2002; Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев, 1979), виходячи з середніх та максимальних терапевтичних доз людини, та з урахуванням даних літератури (О. О. Нефьодов, 2017; О. В. Хомяк, 2012; О. В. Макаренко, 2011; В. І. Опришко, 2010; Е. А. Подплетняя, 2008).

В процесі проведення експериментальних досліджень лікарські засоби –НПЗЗ, парацетамол та L-тироксин – вводили внутрішньошлунково один раз на добу, а хондроїтину сульфат – внутрішньом'язово один раз на добу. Для отримання однорідної суспензії при внутрішньошлунковому введенні таблетованих форм використаний розчин Твіну-80 (Полісорбат 80, Україна). В процесі виконання дослідження оцінка дії ЛЗ проводилась після однократного або 5-ти добового введення засобів залежно від умов проведення експерименту.

Експериментальні дослідження проведені на 720 білих статевозрілих нелінійних щурах обох статей вагою 230-250 г. Тварини обох статей знаходилися на стандартному раціоні та в стандартних умовах утримання у віварії ДЗ «ДМА МОЗ України» (температура повітря: 22 ± 2°C, світлий/темний цикл: 12/12 годин) відповідно до санітарно-гігієнічних норм та отримували їжу та воду *adlibitum*(О. В. Стефанов, 2002).

Усі маніпуляції проводились при дотриманні принципів біоетики відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Страсбург, 1986), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах,що підтверджено комісією з біоетики ДЗ «ДМА МОЗ України» на початку та після проведення досліджень (протокол №1 від 18.01.2015 р. та протокол №5 від 02.09.2020 р.)(Ю.М.Кожем’якінз співавт., 2002;И.П.Западнюк з співавт., 1983).

Експериментальний ОА відтворювали шляхом одноразового внутрішньосуглобового введення 0,1 мл розчину монойодоцтової кислоти (МОК) (реактив Iodoacetic acid ≥ 98.0 % T, № I4386, виробник Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Німеччина) у колінний суглоб щура, який готували з розрахунку 3 мг реактиву на 50 мкл стерильного фізіологічного розчину (C. Guingamp et al., 1997;Е. А. Подплетняя, 2008; І.А.Зупанец з співавт., 1999). Верифікація адекватного виконання моделі експериментального ОА у лабораторних щурів проводилась за допомогою змін біохімічних маркерів сироватки крові та мікроскопії гістологічних препаратів колінних суглобів (Р. К. Данилов, 2010; І. А. Зупанець з співавт., 2001).

Формування моделі ГІТ проводили шляхом ентерального введення 0,02% розчину карбімазолу (препарат «Еспа-карб», виробництва Еспарма ГмбХ, Німеччина; в таблетках по 5 або 10 мг), який готували з розрахунку 5 мг на 250 мл фізіологічного розчину. Свіжовиготовлений розчин вводили у питний раціон експериментальних щурів впродовж 6 тижнів (A. Ilyas et al., 2015; G.S. Argumedo et al., 2012; A. M. El-Bakryet al., 2010). Верифікацію адекватного виконання моделі експериментального ГІТ підтверджували рівнем ТТГ, Т3 та Т4 у сироватці крові щурів (Р.К. Данилов, 2010; І. А. Зупанець з співавт., 2001).

Для оцінки антиноцицептивної активності НПЗЗ, парацетамолу, хондроїтину сульфату та L-тироксину використаний метод електричного подразнення кореня хвоста щура (О. О. Нефьодов, 2017; О. В. Хомяк, 2012; О. В. Макаренко, 2011; В. І. Опришко, 2010; Е. А. Подплетняя, 2008). Оцінку больової чутливості у відповідь на поступово зростаюче електричне подразнення від електростимулятору ЕСЛ-2 проводили у вихідному стані та через 30, 60, 90, 120 хв після введення препаратів за проявом голосової реакції, що свідчило про активацію надсегментарного рівня перцепції болю. Вплив лікарських засобів на сегментарний компонент ноцицептивної чутливості вивчали на моделі термічного подразнення хвоста щурів із реєстрацією часу його відсмикування (О. Є. Ядловський з співавт., 2020; О. О. Нефьодов, 2017; В. І. Опришко, 2010; Е. А. Подплетняя, 2008). Також використовували класичну скринінгову модель вісцерального болю – «оцтово-кислі корчі», в основі яких лежить хімічне больове подразнення 0,6% розчином оцтової кислоти (О. В. Хомяк, 2012; О. В. Макаренко, 2011; В. І. Опришко, 2010; Е. А. Подплетняя, 2008).

Для оцінки поведінкових реакцій експериментальних щурів використаний тест «відкрите поле» (open field test), який визначає фізіологічну реакцію на нове середовище та оцінює рухову, дослідницьку та емоційну активність тварин (О. В. Стефанов, 2002). Дослідження виконували протягом 5 хв з фіксацією кількості переміщень, підйомів, заглядань у норки, актів грумінгу та болюсів у щурів (О. О. Нефьодов, 2017; В. І. Опришко, 2010; Е. А. Подплетняя, 2008).

Для визначення ступеня протизапальної активності хондроїтину сульфату використана морфометрична оцінка сагітальних (передньо-задніх) розмірів колінних суглобів щурів у динамічному спостереженні. Розміри суглобів визначали у вихідному стані, на 42 добу (кінець формування експериментальних патологічних станів) та 70 добу (кінець 28-добового введення хондроїтину сульфату) експериментальних досліджень за допомогою мікрометру МК25-1 (Е.А. Подплетняя, 2008).

Для оцінки протизапальної активності НПЗЗ, парацетамолу, хондроїтину сульфату та L-тироксину проведені біохімічні дослідження у сироватці крові та сечі щурів рівня маркерів чотирьох груп: 1. Маркери деструкції кісткової та хрящової тканин: С-телопептид колагену I типу (CTX-I) та С-телопептид колагену II типу (CTX- II) відповідно, оксипролін (X. Z. Wangetal., 2013; S. Oestergaardetal., 2006; H. Lorenzetal., 2005; Е. А. Подплетняя, 2008). 2. Маркери ферментів, які руйнують хрящовий матрикс: металопротеїнази (MMП) 3, 9 та 13, глікозаміноглікани (E. E. Mehanaetal., 2019; Y. Lietal., 2012; R. K. Davidsonetal., 2006; С. А. Демкин з співавт., 2017; М.И.Ярмолинская з співавт., 2012; Е. А. Подплетняя, 2008). 3. Маркери утворення кісткової тканини: кісткова лужна фосфатаза, кальцій (S. Vimalraj 2020; J. L. Millán 2006; Е. А. Подплетняя, 2008). 4. Неспецифічні маркери запалення (гострофазові білки запалення сироватки крові): С-реактивний протеїн, інтерлейкіни (IL) 1, 6 та 8, фактор некрозу пухлин-альфа (TNF-α), серомукоїди, сіалові кислоти (H. Löfvall et al., 2019; K. Louati, F. Berenbaum, 2016; V.B. Kraus et al., 2011; Е. А. Подплетняя, 2008).

Кількісний рівень маркерів сироватки крові щурів та рівень гормонів ТТГ, Т3 а Т4 визначали методом конкурентного імунно-ферментного аналізу (ІФА) in vitro (на 42, 47 та 70 добу експерименту) з використанням імунноферментних тест-систем фірм-виробників «Elabscience Biotechnology Co. Ltd» (Китай) та«MyBioSource, San Diego, CA» (США)згідно з методикою виробників, яка була описана в технічній документації. Чутливість та діапазон визначення дорівнювали показникам, визначеним в технічній документації до відповідних тест-систем. За референтний рівень маркерів прийняті значення, отримані в групі інтактних щурів та з відповідних лабораторних довідників(В. А. Факш, 2015; І. А. Зупанець з співавт., 2001).

Зразки крові отримували з хвостової вени щурів після їх голодування протягом 12 годин шляхом пункції за допомогою вакуумної системи або скарифікації на 42, 47 та 70 добу експерименту. Збір сечі проводився в умовах метаболічної камери(А. Н. Миронов, 2012; Р. У. Хабриев, 2005; О. В. Стефанов, 2002).

Дослідження взаємодії комбінації лікарських засобів (диклофенаку натрію, хондроїтину-4 сульфату та L-тироксину) проводили з використанням програми ACD/pKaDB, за допомогою якої визначені фізико-хімічні параметри сполук (константа іонізації, pKa ліпофільності, logP, ліпофільність при заданому рН, logD, кількість протонних донорів та акцепторів, розчинність) та визначена фармакологічна і фармакокінетична доцільність комбінації активних речовин (N.Ya. Golovenko, V.B. Larionov, 2016).

Для вивчення морфофункціонального стану кісткової та хрящової тканин використовували тканинний комплекс колінних суглобів щурів (дистальний відділ стегнової кістки та проксимальний відділ великогомілкової кістки), який обробляли відповідно етапам: фіксація тканин; дегідратація (зневоднення зразків) та заливання у парафін; приготування зрізів; фарбування препаратів (гематоксилін та еозин, шифф-йодною кислотою); мікрофотографування гістологічних препаратів. Гістологічні зрізи робили завтовшки 3-4 мкм за допомогою ротаційного мікротому HM340E (Thermo Scientific, Німеччина). Мікроскопічне вивчення зразків проводили з використанням тринокулярного світлооптичного мікроскопу «Primo Star Carl Zeiss» з фотовихідом та використанням об’єктивів ×10, ×40, ×100 (Р. К. Данилов, 2010; Ю. И. Денисов-Никольский з співавт., 2005).

Статистична обробка результатів проведених досліджень виконана з використанням пакету програм STATISTICA 6.1 (StatSoftInc., серійний номер AGAR 909E415822FA). Описова статистика для кожного показника включала розрахунки середнього арифметичного значення (М), стандартного відхилення (SD) і стандартної похибки середнього (m). Перед застосуванням статистичних критеріїв проводилася перевірка гіпотези про нормальний закон розподілу випадкових величин (за критерієм Шапіро-Уілка). За умов нормального розподілу оцінка достовірності міжгрупових та внутрішньогрупових відмінностей показників проводилась за допомогою параметричних критеріїв Стьюдента (t, Т), в інших випадках – за непараметричними критеріями Мана-Уітні (U*)* і Вілкоксона (W).Для множинного порівняльного аналізу використо-вувались критерії Даннета (у випадку порівняння з контрольною групою) та Дункана (міжгрупове порівняння). Критичний рівень статистичної значимості (p) приймався ≤ 5 % (р≤0,05) (А. Н. Наркевич, К. А. Виноградов, 2019; А. М. Гржибовский з співавт., 2016; О. В. Красько 2014; О. Ю. Реброва, 2006).

Усі використані при виконанні даної роботи одиниці вимірювання та параметри наведені у відповідності до міжнародної системи одиниць (О.П. Минцер, 1982; Г.Ф. Лакин, 1990; С. Гланц, 1998; С.Н. Лапач, 2001; А.А. Халафян, 2007).

**Результати досліджень та їх обговорення**

*Оцінка аналгетичної дії НПЗЗ та парацетамолу при коморбідній патології.*Відомо, що больовий поріг свідчить про ступінь подразнення нервової системи,за якого відчувається біль. Остеоартроз призводить до зниження порогу больової чутливості, що і було підтверджено нашими дослідженнями, за результатами яких встановлене зростання больового відчуття у щурів порівняно з групою інтактних тварин на 24% (р<0,05), тоді як за коморбідного стану – ОА, асоційованого з ГІТ, спостерігалося зниження порогу больової чутливості порівняно до показника в інтактних тварин лише на 17%(р<0,05).

На тлі експериментального ОА у щурів за ступенем антиноцицептивної активності на моделі електричного подразнення на піку розвитку знеболювальної дії (90 хвилина тестування) НПЗЗ розташувалися у наступному порядку: диклофенак натрію (+184%) (р<0,001) ≥ німесулід (+156%) (р<0,001) ≥ мелоксикам (+149%) (р<0,001) ≥ ібупрофен (+113%) (р<0,001) ≥ целекоксиб (+84%) (р<0,001) ≥ парацетамол (+64%) (р<0,001) порівняно до групи ЕОА (рис. 1).

За результатами, отриманими у тварин з коморбідним станом, встановлене значне зниження знеболювальної активності всіх досліджуваних препаратів та дещо змінений порядок їхнього розташування у переліку за ступенем аналгезії: диклофенак натрію (+164%) (р<0,001) ≥ німесулід (+104%) (р<0,001) ≥ ібупрофен (+101%) (р<0,001) ≥ мелоксикам (+99%) (р<0,001) ≥ целекоксиб (+59%) (р<0,001) ≥ парацетамол (+33%) (р<0,05) (рис. 2).

Рис. 1. Зміни антиноцицептивного потенціалу НПЗЗ та парацетамолу за умов експериментального остеоартрозу відносно групи активного контролю (90 хвилина).

Примітки: \* - р<0,001; \*\* - р<0,05 по відношенню до показників больового порогу тварин групи активного контролю (ОА), критерій Даннета;

# - р<0,05 по відношенню до показників груп VII, VIII та інтактних тварин, критерій Дункана.

Рис. 2.Зміни антиноцицептивного потенціалу НПЗЗ та парацетамолу за умов експериментального остеоартрозу і гіпотиреозу відносно групи активного контролю (90 хвилина).

Примітки:\* - р<0,001; \*\* - р<0,05 по відношенню до показників больового порогу тварин групи активного контролю (ОА+ГІТ), критерій Даннета;# - р<0,05 по відношенню до показників груп VII, VIII та інтактних тварин, критерій Дункана.

На тлі коморбідної патології парацетамол проявляв нижчуу 1,94 рази (р<0,05) антиноцицептивну активність, знеболювальний ефект целекоксибу знижувався у 1,42 рази (р<0,05), німесуліду та мелоксикаму – у 1,5 рази (р<0,05). Якщо на тлі ОА знеболювальна дія німесуліду перевищувала на 43% дію ібупрофену, то за коморбідної патології аналгетична ефективність обох препаратів суттєво знижувалася і за цим показником німесулід та ібупрофен були практично рівноефективними. На відміну від зазначених препаратів,лише диклофенак натрію на тлі асоційованого стану достовірно зберігав свої антиноцицептивні властивості, фактично, на рівні знеболювальної активності за застосування на тлі лише ОА.

Знеболювальний ефект ЛЗ на тлі коморбідної патології та за призначення L-тироксину проявився більш виразно (рис. 3). Так, за аналгетичною активністю на фоні ОА+ГІТ+L-тироксин ЛЗ розташувались наступним чином:диклофенак натрію (+212%) (р<0,001) ≥ ібупрофен (+144%) (р<0,001) ≥ німесулід (+134%) (р<0,001) ≥ парацетамол (+116%) (р<0,001) ≥ мелоксикам (+104%) (р<0,001) ≥ целекоксиб (+93%) (р<0,001). Даний результат є свідченням потенціювання знеболювального впливу зазначених НПЗЗ L-тироксином на тлі ОА, коморбідного з ГІТ, і відображає найсуттєвіший знеболювальний ефект диклофенаку натрію. Фактично, L-тироксинза комбінованого застосування з диклофенаком натрію призводить до зростання аналгетичної активності останнього на 48% (р<0,001).Знеболювальна активність парацетамолу на фоні призначення L-тироксину зросла у 1,8 рази (р<0,001), порівняно до даних за самостійного призначення антипіретика лишена тлі ОА.

Рис. 3. Зміни антиноцицептивного потенціалу НПЗЗ та парацетамолу за умов експериментального остеоартрозу і гіпотиреозу відносно групи активного контролю (90 хвилина).

Примітки:\* - р<0,001 по відношенню до показників больового порогу тварин групи активного контролю (ОА+ГІТ+ L-тироксин), критерій Даннета;

# - р<0,05 по відношенню до показників інших груп, критерій Дункана.

Таким чином, за патології щитоподібної залози (гіпотиреоз) змінюються знеболювальні властивості НПЗЗ та парацетамолу. За умов експериментального остеоартрозу та гіпотиреозу найбільш слабким аналгетиком показав себе парацетамол. Формування гіпотиреозу призвело до того, що селективні та переважні інгібітори ЦОГ-2 значно втратили свою знеболювальну активність порівняно до невибіркових інгібіторів ЦОГ – диклофенаку натрію. Призначення замісної гормональної терапії гіпотиреозу відновлює антиноцицептивну активність НПЗЗ та парацетамолу.

*Дослідження впливу НПЗЗ, парацетамолу та L-тироксину на руховий, дослідницький та емоційний статус щурів у тесті «відкрите поле» за умов експериментального гіпотиреозу та остеоартрозу.*

Аналіз змін у тесті «відкрите поле» на 42 добу експерименту (завершення формування експериментальних моделей) у всіх групах дослідження виявив пригнічення спонтанної поведінкової активності та емоційної лабільності щурів на тлі наростання патологічних змін, обумовлених експериментальним ОА та ГІТ, у порівнянні з вихідним станом (ВС) (р<0,05).

Встановлено, що на 47 добу експерименту (завершення 5-ти добового призначення ЛЗ) у групі активного контролю посилювалось пригнічення спонтанної поведінкової активності та емоційної лабільності щурів на тлі наростання патологічних змін, обумовлених експериментальним ОА та ГІТ, та за умов відсутності «лікування» (р<0,05). Замісна гормональна терапія L-тироксином сприяла відновленню рухової та дослідницької активності щурів за умов експериментального ОА та ГІТ (р<0,05).

Показано, що сумісне призначення НПЗЗ та парацетамолу із замісною гормональною терапією L-тироксином сприяє позитивним змінам рухової та дослідницької активності щурів за умов експериментального ОА та ГІТ та має різний вплив на показники спонтанної поведінкової активності.

Так, призначення диклофенаку натрію (III група) на 47 добу призвело до зниження кількості пересічених квадратів, стійок та заглядань у «норки» на 30,3% (р<0,05), 84,7% (р<0,05) та 56,3% (р<0,05) відповідно, а кількість актів грумінгу та болюсів знизились на 47,9% (р<0,05) та 15,3% (р>0,05) відповідно відносно ВС. При призначенні диклофенаку натрію сумісно з L-тироксином (IV група) статистично достовірні результати отримані тільки за кількістю актів грумінгу, які зменшились на 38,7% (р<0,05) відносно ВС.

Встановлено, що призначення диклофенаку натрію сумісно з L-тироксином сприяє більш ефективному відновленню рухової та дослідницької активності у порівнянні з призначенням тільки L-тироксину, а вегетативний компонент емоційних реакцій у щурів III та IV груп на 47 добу характеризувався пригніченням емоційної лабільності (р<0,05).

Таким чином, проведені дослідження дозволили визначити препарат-лідер за знеболюючою дією та здатністю відновлювати рухову та дослідницьку активність у щурів з ОА та супутнім ГІТ – диклофенак натрію.

*Оцінка біохімічних змін у сироватці крові щурів під впливом фармакотерапії НПЗЗ та парацетамолу за умов експериментального гіпотиреозу та остеоартрозу на фоні замісної гормональної терапії L-тироксином.*

Аналіз отриманих результатів дозволив встановити, що за ступенем впливу на запальні процеси у суглобі, що характеризуються, зокрема, рівнями інтерлейкінів (IL 1, IL 6 та IL 8), матриксних металопротеїназ (ММП-3, ММП-9 та ММП-13), фактору некрозу пухлин (ФНП) та С-реактивного протеїну (СРП), досліджені препарати розташувались наступним чином: диклофенак натрію > ібупрофен > німесулід = мелоксикам > целекоксиб > парацетамол, що відображає різну ефективність зазначених препаратів щодопригнічення інтенсивності запалення за коморбідної патології (р<0,05) (рис. 4).

Проте, звертає увагу парацетамол, який при монотерапії не впливав на рівень IL 1 та IL 6(р>0,05) на 47 добу експерименту (ІХ група), а при сумісному призначенні з L-тироксином (Х група) визначено достовірне зниження рівнів IL 1 та IL 6 на 33,3% та 35,6% відповідно (р<0,05). Водночас, не визначено різниці між впливом парацетамолу на рівні ММП-3, ММП-9, ММП-13 таСРП за самостійного застосування та комбінованого використання з L-тироксином (Х група) на тлі коморбідної патології (рис. 4).

 А Б

Рис. 4. Зміни рівнів лабораторних показників у сироватці крові щурів груп дослідження без (А) або на тлі терапії L-тироксином (Б) на 47 добу експерименту (% змін показника відносно 42 доби).

Примітка. \* - р>0,05; в інших випадках – р<0,05 по відношенню до показників 42 доби у відповідній групі.

За інтенсивністю впливу на дегенеративно-дистрофічні процеси у кістковій тканині, що визначалося за рівнем маркеру розпаду колагену I типу (СТХ I) у сироватці крові щурів,досліджені препарати розташувались наступним чином: диклофенак натрію > ібупрофен > німесулід = мелоксикам > целекоксиб > парацетамол(р<0,05), а за рівнем колагену IІ типу (СТХ IІ) – німесулід > целекоксиб > мелоксикам > ібупрофен > диклофенак натрію > парацетамол (р<0,05).

Аналіз результатів щодо ступеня впливу на активність остеобластів у кістковій тканині, що оцінені за рівнем кісткової лужної фосфатази (КЛФ) у сироватці крові щурів, дозволив розташувати препарати наступним чином: диклофенак натрію > ібупрофен > мелоксикам > німесулід > целекоксиб >парацетамол.При цьому лише у групах з призначенням парацетамолу (ІХ і Х) зниження рівня КЛФмало характер тенденції (р>0,05).

Таким чином, проведені дослідження дозволили оцінити НПЗЗ та парацетамол за рівнем протизапальної активності і впливом на дегенеративно-дистрофічні процеси у кістковій та хрящовій тканині та визначити препарат-лідер – диклофенак натрію.

*Вплив НПЗЗ та парацетамолу на функціональний стан щитоподібної залози.*

Відомо, що ЛЗ можуть впливати на гормональну активність ЩЗ через безпосередній вплив на синтез та виділення гормонів, їх метаболізм, кліренс та поглинання тканинами. Дане питання постає внаслідок існування суперечливих досліджень про різний вплив ЛЗ, зокрема НПЗЗ, на концентрацію гормонів ЩЗ у сироватці крові (F. Sauvé et al., 2003; Y. Koizumi et al., 2006; D.L. Panciera et al., 2006).

Для всебічного вирішення зазначених суперечностей щодо впливу НПЗЗ та парацетамолу на функціональний стан ЩЗ, який визначали за рівнем гормонів ТТГ, Т3 та Т4, кожний з досліджуваних препаратів вводили у двох дозах. Перша група доз – такі, що були використані на попередніх етапах дослідження та відповідали середнім ефективним дозам за аналгетичною активністю, і були запозичені з літератури та неодноразово використовувались при проведенні доклінічних досліджень. Друга група доз була визначена шляхом екстраполяції доз людини на щурів із використанням коефіцієнту видової чутливості (Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев, 1979).

Як показали дослідження, після 5-добового введення ЛЗ (диклофенаку натрію, ібупрофену, мелоксикаму, парацетамолу, німесуліду та целекоксибу) (47 доба) у середньо ефективних дозах на фоні сформованих експериментальних патологічних станів статистично значущих відмінностей за впливом на рівень гормонів ЩЗ у сироватці крові щурів не спостерігалось (р>0,05). На середньо ефективних дозах визначена лише тенденція до зниження рівня гормонів ЩЗ (Т3 та Т4) та ТТГ, у сироватці крові щурів при внутрішньошлунковому введенні досліджуваних препаратів (р>0,05).

Подальші дослідження показали, що при підвищенні середньо ефективних доз, у межах терапевтичного діапазону, отримані різноманітні дані за рівнем впливу на концентрацію ТТГ, Т3 та Т4 у сироватці крові щурів. Так, парацетамол (ІХ група) не впливав на концентрацію гормонів ЩЗ та ТТГ, а диклофенак натрію і целекоксиб достовірно знижували рівень ТТГ у 1,16 та 1,15 рази (р<0,05) та проявили тенденцію до підвищення рівня Т4 у сироватці крові щурів у1,1 та 1,05 рази (р>0,05) відповідно.

На підставі аналізу отриманих даних були визначені препарати, які істотно змінювали гормональний фон при підвищенні середньо ефективних доз. Такі препарати, як ібупрофен (V група), мелоксикам (VІІ група) та німесулід (ХІ група) знижували рівень ТТГ у сироватці крові щурів у 1,47; 1,29 та 1,40 рази (р<0,05) відповідно. Водночас, за їхнього застосування спостерігалося підвищення рівня Т4 у 1,23; 1,27 та 1,26 разів (р<0,05) відповідно.

Таким чином, результати проведеного дослідження дозволили встановити, що на середньо ефективних дозах визначена лише тенденція до зниження рівня гормонів ЩЗ (Т3 та Т4) та ТТГ у сироватці крові щурів при внутрішньошлунковому введенні досліджуваних препаратів (р>0,05), а при підвищенні середньо ефективних доз, у межах терапевтичного діапазону, отримані різноманітні дані за рівнем впливу на концентрацію ТТГ, Т3 та Т4 у сироватці крові щурів.

*Фармакологічна активність хондроїтину сульфату при коморбідній патології.*

Відомо, що ефективність і доцільність використання препаратів хондроїтину сульфату (ХС) у клінічній практиці є предметом постійних дискусій. Різноманітні клінічні настанови з лікування ОА мають різний ступінь доказовості рекомендацій до застосування ХС. Тому нашим завданням було дослідити ефективність та доцільність призначення ХС при коморбідній патології – ОА та ГІТ.

Для оцінки ступенязапального процесу уколінних суглобах щурів була проведена морфометрична оцінка передньо-задніх розмірів колінних суглобів у ВС та на фоні експериментальних моделей коморбідної патології. Встановлено, що на 42 добу з моменту моделювання експериментального ОА та ГІТ відзначалося виражене збільшення розмірів уражених суглобів, що свідчило про розвиток запальної реакції у відповідь на експериментальні моделі. Аналіз отриманих даних встановив, що введення ХС упродовж 28 діб надає позитивний терапевтичний ефект за критерієм зменшення розміру колінних суглобів щурів на 19,8% (р<0,001) порівняно з відповідним показником у групі на початку введення препарату (ВС), в той час як у групі активного контролю (ОА + ГІТ), навпаки, спостерігалося подальше наростання запальних явищ (збільшення розмірів в 1,47 рази відносно вихідного стану, р<0,001). Отже, на 70 добу експериментуу групі тварин, які отримували ХС, відзначено достовірне зменшення розмірів суглобів на 26,1%(р<0,001) у порівнянні з групою активного контролю (р<0,001).

Дослідження у тесті «відкрите поле» встановило, що на 42 добу дослідження спостерігалось пригнічення рухової, дослідницької та вегетативної активності щурів на фоні наростання патологічних змін на тлі ОА та ГІТ відносно групи інтактних щурів. Проте, призначення ХС сприяло відновленню рухової та дослідницької активності щурів у порівнянні з групою активного контролю (ОА + ГІТ), що свідчило про позитивний вплив ХС на перебіг коморбідного стану. За призначення ХС кількість досліджених квадратів,стійок та досліджених норок достовірно збільшилася у 2,13; 5,67 та 3,46 рази (р<0,001) відповідно у порівнянні з групою активного контролю (ОА + ГІТ). Тривожний стан тварин при призначенні ХС характеризувався тенденцією до вирівнювання емоціонального фону відносно групи активного контролю.

Досліджено, що на 42 добу експерименту відносно групи інтактних тварин, ОА та ГІТ призводили до достовірного підвищення рівня серомукоїдів у 4,67 рази (р<0,001), сіалових кислот у 3,05 рази (р<0,001), глікозаміногліканів (ГАГ) у 1,36 рази (р<0,05), оксипроліну у 4,01 рази (р<0,001) та кальцію у 1,29 рази (р<0,05).Варто зауважити, що маркер С-телопептиду колагену II типу (СТХ II) у сироватці крові щурів (295,0±1,26 нг/мл) відзначавсялише за наявності патології. Проте, на тлі 28-добового введення ХС (70 доба експерименту) відносно групи активного контролю (ОА + ГІТ) відмічалося достовірне зниження (р<0,001) рівня серомукоїдів у 1,55 рази, сіалових кислот у 1,56 рази, ГАГ у 1,43 рази, оксипроліну у 1,98 рази та кальцію у 1,65 рази. Звертає увагу зниження рівня маркеру СТХ II у 1,35 рази (р<0,001)відносно групи активного контролю (ОА + ГІТ), що відображає процес деструкції хрящової тканини, зокрема колагену II типу.

Аналіз результатів щодо впливу ХС на прояви ОА на фоні ГІТ встановив, що означені патології призводять до збільшення морфометричних розмірів уражених суглобів, пригнічення показників рухової, дослідницької та вегетативної активності щурів та змін біохімічних показників у сироватці крові на тлі запалення та дегенеративно-дистрофічного процесу (за рівнем серомукоїдів, сіалових кислот, глікозаміногліканів, оксипроліну, сироваткового кальцію та маркеру СТХ ІІ). Призначення ХС сприяло позитивному впливу на перебіг патологічних змін внаслідок коморбідного стану, що характеризувалось відновленням морфометричних розмірів уражених суглобів, показників рухової, дослідницької та вегетативної активності щурів та біохімічних показників.

На підставі отриманих результатів обґрунтована доцільність призначення ХС, як компоненту фармакотерапії при ОА та ГІТ.

Наступним етапом дослідження було визначення впливу комбінації L–тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату на біль за умов експериментальної коморбідної патології на моделі електрошкірного подразнення хвоста щура.

Результати дослідження показали, що через півгодини (30 хв) після введення ЛЗ тваринам, диклофенак натрію підвищував поріг болю у тварин з ОА та ГІТ у 1,67 рази (р<0,05), на 60 хвилині – у 1,31 рази (р<0,05), на 90 хвилині у 1,5 рази (р<0,05); больовий поріг в подальшому знижувався. Встановлено, що ХС притаманний знеболювальний ефект, що набуло прояву у підвищенні порогу болю у щурів на 60 хвилині експерименту у 1,25 рази (р<0,05), а на 90 хвилині – у 1,17 рази (р<0,05) (табл. 1).

Аналіз отриманих результатів встановив, що антиноцицептивна дія за комбінованого застосування диклофенаку натрію + хондроїтину сульфату + L-тироксину проявлялась більш виражено. Так, через 30 хвилин після введення даної комбінації ЛЗ, поріг болю у тварин підвищився у 1,7 рази (р<0,05), на 60-й хвилині він підвищився у 2,21 рази (р<0,05). Проте, найбільш виражено дана комбінація препаратів проявляла знеболювальну активність на 90 хвилині експерименту, пригнічуючи ноцицептивну чутливість щурів у 2,72 рази (р<0,05).

При оцінці аналгетичної активності досліджуваних препаратів методом термоподразнення хвоста у щурів встановлено, що препарат диклофенак натрію при внутрішньошлунковому одноразовому введенні у дозі 10 мг/кг показав максимальну знеболювальну активність на 90 хвилині експерименту, що проявлялося у зменшенні імерсії хвоста у 1,67 рази (р<0,05) (табл. 2).

*Таблиця 1*

**Показники больового порогу в тесті електрошкірного подразнення хвоста щура за умов коморбідної патології при призначенні комбінації ЛЗ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Групи тварин****(n =40)** | **Величина больового порогу (мА), M±m** |
| **ВС** | **30 хв** | **60 хв** | **90 хв** | **120 хв** |
| ОА + ГІТ(n=10) | 2,30±0,10 | 2,10±0,08 | 2,22±0,09 | 2,27±0,10 | 2,2±0,11 |
| ОА + ГІТ+Диклофенак натрію 10 мг/кг (n=10) | 2,18±0,08 | 3,62\*¤±0,12 | 2,86\*¤±0,11 | 3,27\*¤±0,09 | 3,58\*¤±0,08 |
| ОА + ГІТ+ Хондроїтин сульфат35 мг/кг (n=10) | 1,99±0,07 | 2,19±0,30 | 2.49\*¤±0,08 | 2,33\*±0,11 | 2,09±0,27 |
| ОА + ГІТ+ Диклофенак натрію 10 мг/ї кг + Хондроїтин сульфат 35 мг/кг + L-тироксин (n=10) | 2,20±0,12 | 3,74\*¤±0,17 | 4,86\*¤±0,19 | 5,98\*¤±0,19 | 5,28\*¤±0,12\* |

Примітки: \* - р<0,05 по відношенню до початкової больової чутливості (ПБЧ) у вихідному стані (ВС); ¤ - р<0,05 у порівнянні з показниками групи активного контролю (ОА + ГІТ).

*Таблиця 2*

**Показники больового порогу в тесті термоподразнення хвоста щура за умов коморбідної патології при призначенні комбінації ЛЗ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Групи тварин****(n=40)**  | **Первинна захисна реакція, сек, M±m** |
| **ВС**  | **30 хв**  | **60 хв**  | **90 хв**  | **120 хв**  |
| Група ОА + ГІТ(n=10) | 4,3±0,3 | 4,5±0,3 | 4,4±0,2 | 4,3±0,4 | 4,7±0,4 |
| ОА + ГІТ + Диклофенак натрію10 мг/ кг (n=10) | 4,6±0,7 | 5,6±0,9 | 6,7\*¤±0,6 | 7,68\*¤±0,3 | 5,5±0,5 |
| ОА + ГІТ + Хондроїтин сульфат35 мг/кг (n=10) | 4,2±0,3 | 4,6±0,6 | 5,0\*±0,2 | 4,6±0,5 | 4,5±0,6 |
| ОА + ГІТ + Диклофенак натрію10 мг/ кг + Хондроїтин сульфат35 мг/кг + L-тироксин (n=10) | 4,1±0,4 | 4,9±0,8 | 7,1\*¤±0,4 | 7,4\*¤±0,3 | 5,4\*±0,3 |

Примітки: \* - р<0,05 по відношенню до початкової больової чутливості (ПБЧ) у вихідному стані (ВС);

¤ - р<0,05 у порівнянні з показниками групи активного контролю (ОА + ГІТ).

Встановлено, що ХСв тесті термоподразнення хвоста у щурів показав себе більш слабким аналгетиком. Спостерігалось статистично значуще підвищення порогу болю у 1,19 рази (р<0,05) після його одноразового введення і тільки на 60 хвилині від початку експерименту (табл. 2).

Проте, комбінація зазначених препаратів в досліджуваних дозах виявляла більш виражену, у порівнянні з диклофенаком натрію, знеболювальну дію. Так, больовий поріг на фоні введення комбінації препаратів підвищувався на 60 хвилині у 1,73 рази (р<0,05), досягаючи максимуму на 90 хвилині після введення.

Проведене дослідження дозволило встановити, що за комбінованого застосування диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину виявлявся більш виражений знеболювальний ефект, ніж за застосування окремих препаратів.

Дослідження аналгетичної активності за комбінованого застосування ЛЗ (диклофенак натрію + хондроїтину сульфат + L-тироксин) на моделі «оцтовокислих корчів» встановило, що введення диклофенаку натрію призводить до істотного зниження кількості «оцтовокислих корчів» у 2,96 рази (р<0,001). У меншій мірі досліджуваний показник знижувався на тлі введення ХС, де зменшення корчів склала 1,47 рази (р<0,001) (табл. 3).

Аналіз результатів встановив, що введення комбінації препаратів, як і в попередніх серіях спостережень, мало найбільш сильний знеболювальний ефект. При одноразовому внутрішньошлунковому введенні диклофенаку натрію + хондроїтину сульфату + L-тироксину, у 7,7 разів (р<0,001) зменшилася ймовірність появи «корчів» у тварин за застосування 0,6% оцтової кислоти (див. табл. 3) відносно групи активного контролю (ОА + ГІТ).

*Таблиця 3*

**Показники больового порогу в умовах моделі «оцтовокислих корчів» у щурів за умов коморбідної патології при призначенні комбінації ЛЗ**

|  |  |
| --- | --- |
| **Групи****(n=40)** | **Середня кількість корчів, M±m** |
| ОА + ГІТ(n=10) | 49,8 ±2,1 |
| ОА + ГІТ + Диклофенак натрію10 мг/кг (n=10) | 16,8±2,9 \* |
| ОА + ГІТ + Хондроїтин сульфат35 мг/кг (n=10) | 33,9±3,8 \* |
| ОА + ГІТ + Диклофенак натрію 10 мг/ кг + Хондроїтин сульфат35 мг/кг + L-тироксин (n=10) | 6,5±0,9 \* |

Примітка. \* - р<0,001 у порівнянні з показниками групи активного контролю (ОА + ГІТ).

Таким чином, аналіз результатів проведених дослідженьза комбінованого застосування диклофенаку натрію,ХС та L-тироксинуна моделях електрошкірного подразнення хвоста щура, термоподразнення хвоста щура та «оцтовокислих корчів» при одноразовому внутрішньошлунковому введенні визначив виражений аналгетичний ефект, що за силою дії перевищував дію окремих препаратів.

Наступним етапом дослідження був *біофармацевтичний аналіз взаємодії L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату, як компонентів фармакотерапії больового синдрому, запалення та гормональної дисфункції ЩЗ*.

На підставі аналізу отриманих даних встановлено, щовиходячи з фізико-хімічних та хімічних властивостей L-тироксину, диклофенаку натрію та ХС можливі тільки зворотні кислотно-лужні взаємодії. Ймовірність інших, сильних та незворотних реакцій є дуже низькою та за звичайних умов фізичні суміші цих сполук очікувано не піддаватимуться взаємодіям, які призводитимуть до глибоких деструктивних змін.

Встановлено, що L-тироксин, диклофенак натрію та ХС абсорбуються шляхом простої дифузії, мають різні механізми транспорту крізь біологічні мембрани, різний ступінь зв’язування з білками плазми крові та різні ферментні системи, що залучені до їх метаболізму й екскреції, тому біофармацевтична взаємодія між ними виключена.

Аналіз результатів показав, що на рівні фармакологічної взаємодії можна очікувати поєднаного та односпрямованого впливу комбінації активних речовин L-тироксину, диклофенаку натрію та ХС при дегенеративно-дистрофічних порушеннях внаслідок функціональної недостатності ЩЗ, для відновлення структури хрящової тканини та для комплексного етіологічного та симптоматичного лікування ОА та пов’язаних з ним станів.

Таким чином, проведене дослідження дозволило встановити, що використання комбінації L-тироксину, диклофенаку натрію та ХС на фоні ОА та ГІТ доцільно, як з боку фармакологічної активності - спостерігається більш потужний знеболювальний ефект – позитивна фармакодинаміка, так і з боку відсутності біофармацевтичної взаємодії між препаратами - компонентами комбінації - позитивна фармакокінетика. Призначення ХС сприяє позитивному впливу на перебіг патологічних змін за коморбідного стану, що характеризується відновленням морфометричних розмірів уражених суглобів, показників рухової, дослідницької та вегетативної активності щурів та біохімічних показників.

*Оцінка гістоморфологічних показників хрящової тканини щурів з експериментальним гіпотиреозом та остеоартрозом.*

Відомо, що метаболічні порушення при ГІТ негативно впливають на стан кісткової та хрящової тканини і обумовлюють розвиток ряду патологічних станів, серед яких безумовно важливими є ОА та остеопороз.

Гістологічні дослідження хряща при ГІТ показали запалення синовіальної оболонки, порушення структури надхряща з явищами набухання, порушення трофіки глибоких шарів хряща, деструкцію хондроцитів, зміни гістохімічних властивостей аморфної речовини (рис. 5.1).

Аналіз результатів проведеного дослідження дозволив виявити структурні зміни кістково-хрящової тканини на тлі гіпофункції ЩЗ, які свідчать про вплив гормональної недостатності на хрящову тканину та висвітлюють необхідність медикаментозної корекції виниклих порушень.



Рис. 5. Електронограма гіалінового хряща дистального епіфізу стегнової кістки щура при патологічних станах.

1 - структура при ГІТ. Позначення: стрілка – місце переривання суцільності суглобового хряща; зірочка – склероз субхондральної кістки.

2 - структура при ОА та ГІТ. Позначення: двобічна стрілка - стоншений суглобовий хрящ; стрілка - тріщини хряща; голівка стрілки - дистрофічно змінені хондроцити; К – кісткова трабекула, М - кістковий мозок.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.×100.

При аналізі результатів встановлено, що гістоархітектура суглобів щурів контрольної групи була типовою та відповідала сучасним уявленням про будову синовіальних суглобів. Гістологічний аналіз складових колінного суглобу щурів з експериментальним ОА та ГІТвиявив значні дегенеративні зміни гіалінового хряща та субхондральної кістки з елементами реактивного запалення, гіпертрофії та гіперплазії у складі синовіальної оболонки. З боку суглобового хряща спостерігалось його виразне стоншення та деформація у порівнянні з контрольною групою. Поверхня хряща була нерівною та нерідко дотикалась до тканинного детриту, візуалізувались множинні тріщини (фібриляції) та великі осередки ерозій, аж до зони кальцифікованого хрящу. Окрім того відзначалась значна редукція хондроцитів поверхневої, транзиторної та радіальної зон хряща (рис. 5.2).

Водночас, на краю суглоба (поблизу синовіальної оболонки) в певних зразках групи дослідження відзначалось збереження товщини гіалінового хряща, що мало ознаки метахромазії та у товщі якого візуалізувались хондроцити. Проте загальна гістоархітектура цієї ділянки хряща мала ознаки дезорганізації. Окрім того місцями відзначалося зникнення лінії розмежування звапнованого та незвапнованого хряща (рис. 5.2).

На підставі проведеного дослідження встановлено, що при ОА та ГІТ екстрацелюлярний матрикс хряща мав ознаки мукоїдного набухання та фіброзу, визначався виразний субхондральний склероз, крововиливи, зменшення обсягу кісткового мозку, осередки некрозу та інкапсуляція тканинного детриту (рис. 5.2).

Таким чином, порівняльний морфологічний аналіз дистального епіфізу стегнової кістки щурів групи контролю та тварин зі змодельованими патологічними станами ОА та ГІТ виявив виразні реактивні зміни з боку синовіальної оболонки, суттєве стоншення суглобового хряща та редукцію числа хондроцитів у його складі, а також значний субхондральний склероз.

*Вплив призначення L-тироксину на стан хрящової та кісткової тканини за умов експериментального ОА та ГІТ.*

Аналіз встановив, що на тлі фармакологічної корекції ОА та ГІТ призначенням L-тироксину з боку синовіальної оболонки колінного суглобу щурів спостерігалося помірне зменшення лімфо-плазмоцитарної інфільтрації у порівнянні з щурами групи активного контролю (без «лікування»), у структурах колінного суглобу щурів зберігалися ознаки гіпертрофії та фіброзу синовіальної оболонки. Синовіоцити були гіперплазовані, а власне синовіум добре васкуляризований. В окремих зразках візуалізувалася кіста, яка була заповнена муцинозним вмістом. Визначено, що фармакологічна корекція L-тироксином стимулювала регенераторні можливості гіалінового хрящу епіфізу стегнової кістки, проте виразність гіпертрофії та ступінь васкуляризації синовіальної оболонки залишались значними по відношенню до контрольної групи тварин, що свідчило про збереження дегенеративно-дистрофічних та запальних явищ кістково-хрящової тканини (рис. 6.1).



Рис. 6.Електронограма гіалінового хряща дистального епіфізу стегнової кістки щура на тлі введення ЛЗ.

1 - структура при введенні L-тироксину. Позначення: стрілка – новоутворений хрящ; голівка стрілки – дегенеративно змінений хрящ; зірочка – некротизована кісткова трабекула; К – кісткова трабекула, С – субхондральний склероз.

2 - структура при введенні диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину. Позначення: двобічна стрілка – новоутворений хрящ; голівка стрілки – кровоносні судини; К – кісткова трабекула, С – субхондральний склероз.

Забарвлення гематоксиліном-еозином. Зб.×100.

Проведене дослідження дозволило встановити, що при порівнянні результатів групи тварин, що отримували L-тироксин, з групою, що не отримували лікування, відзначалося помірне зменшення запальної реакції та явищ гіпертрофії з боку синовіальної оболонки, регенерація суглобового хряща та кісткової тканини трабекул епіфізу. Морфологічні зміни дистального епіфізу стегнової кістки щурів при порівнянні з контрольною групою свідчили про збереження значної гіпертрофії та гіперплазії синовіальної оболонки з ознаками запалення, неповну регенерацію суглобового хряща та його недостатнє дозрівання у ділянках, товщина яких була наближеною до контролю, а також про виразний субхондральний склероз епіфізу, що свідчило про недостатність та неадекватність призначення тільки L-тироксину при коморбідній патології.

Тому у дослідженні були визначені гістоморфологічні зміни хрящової тканини при призначенні диклофенаку натрію та ХС на фоні замісної гормональної терапії L-тироксином при експериментальних патологіях.

Аналіз гістологічної структури хрящової тканини колінних суглобів щурів, які отримували диклофенак натрію, ХС та L-тироксин показав, що у зразках тканин добре візуалізуються надхрящі, основна речовина хряща та субхондральна кістка. При призначенні диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину визначена активна регенерація хрящової і кісткової тканини з ділянками неоваскулогенезу, зменшення ознак реактивного запалення та фіброзу синовіальної оболонки, виражена протяжність та товщина молодого хряща. Хрящова і кісткова тканина колінного суглоба щурів за основними параметрами була практично однакова з інтактними тваринами з тією лише різницею, що мала місце активна регенерація як хрящової, так і кісткової тканини з ділянками неоваскулогенезу (рис. 6.2).

Таким чином, на підставі проведених гістоморфологічних досліджень встановлено, що комбіноване застосування диклофенаку натрію, ХС та L-тироксину сприяє активній регенерації хрящової і кісткової тканини з ділянками неоваскулогенезу, зменшенню ознак реактивного запалення та фіброзу синовіальної оболонки та формуванню молодого хряща, і комбіноване застосування цих препаратів можна рекомендувати до клінічноїапробації при ОА та ГІТ.

# ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота присвячена вирішенню проблеми болетамуючої та хондропротекторної терапії закомбінованого застосування НПЗЗ, парацетамолу, хондроїтину сульфату таL-тироксинуза умов експериментального остеоартрозу на тлі гіпотиреозу.

1.Гіпотиреоз призводить до гіпоалгезії на тлі остеоартрозу, про що свідчить зменшення порогу больової чутливості на 17% (р<0,05)за коморбідного стану проти 24%(р<0,05) за остеоартрозу.

2. Експериментальні патологічні стани – остеоартроз та гіпотиреоз значно змінюють антиноцицептивну активність лікарських засобів. За умов остеоартрозу та гіпотиреозу на фоні замісної гормональної терапії L-тироксином встановлено, що за інтенсивністю антиноцицептивної дії дані препарати розташовуються наступним чином: диклофенак натрію (+212%) (р<0,001) ≥ ібупрофен (+144%) (р<0,001) ≥ німесулід (+134%) (р<0,001) ≥ парацетамол (+116%) (р<0,001) ≥ мелоксикам (+104%) (р<0,001) ≥ целекоксиб (+93%) (р<0,001), що відображає найвищу антиноцицептивну активність диклофенаку натрію.

3.Остеоартроз та гіпотиреоз сприяють погіршенню рухової та дослідницької активності у щурів, а замісна гормональна фармакотерапія L-тироксином сприяє її відновленню (р<0,05). Призначення диклофенаку натрію сумісно з L-тироксином призводить до потенціювання позитивного впливу L-тироксину на рухову та дослідницьку активність порівняно до монотерапії L-тироксином (р<0,05).

4.За ступенем впливу на запальні процеси у суглобі за показниками рівнів інтерлейкінів (IL 1, IL 6 та IL 8), матриксних металопротеїназ (ММП-3, ММП-9 та ММП-13), фактору некрозу пухлин (ФНП) та С-реактивного протеїну (СРП) та за інтенсивністю впливу на дегенеративно-дистрофічні процеси у кістковій тканині (за рівнем маркеру розпаду колагену I типу (СТХ I) у сироватці крові щурів) досліджені препарати розташувались наступним чином: диклофенак натрію > ібупрофен > німесулід = мелоксикам > целекоксиб > парацетамол, що відображає різну ефективність зазначених препаратів на патологічні прояви коморбідної патології (р<0,05).

За ступенем впливу на дегенеративно-дистрофічні процеси у хрящовій тканині, що оцінені за рівнем маркеру розпаду колагену IІ типу (СТХ IІ) у сироватці крові щурів, досліджені препарати розташувались наступним чином: німесулід > целекоксиб > мелоксикам > ібупрофен > диклофенак натрію > парацетамол (р<0,05).

За ступенем впливу на активність остеобластів у кістковій тканині, які оцінені за рівнем кісткової лужної фосфатази (КЛФ) у сироватці крові щурів досліджені препарати розташувались наступним чином: диклофенак натрію > ібупрофен > мелоксикам > німесулід > целекоксиб > парацетамол(р<0,05).

5.На фоні остеоартрозу та гіпотиреозу у щурів ібупрофен, мелоксикам та німесулід знижують рівень ТТГ у сироватці крові щурів у 1,47; 1,29 та 1,40 рази (р<0,05) відповідно та підвищують рівень Т4 у 1,23; 1,27 та 1,26 разів (р<0,05) відповідно. Диклофенак натрію та целекоксиб знижують рівень ТТГ у 1,16 та 1,15 рази (р<0,05) та підвищують рівень Т4 у 1,1 та 1,05 рази (р>0,05) відповідно.

6.На тлі коморбідного стану – остеоартрозу з гіпотиреозом доцільне комбіноване застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату з метою посилення знеболювального ефекту окремих препаратів, відновлення морфометричних розмірів уражених суглобів, рухової, дослідницької та вегетативної активності щурів і біохімічних маркерів запального процесу. Встановлена відсутність біофармацевтичної взаємодії між зазначеними препаратами.

7.Комбіноване застосування диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину сприяє активній регенерації як хрящової, так і кісткової тканини з формуванням ділянок неоваскулогенезу, а комбіноване застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату можна рекомендувати до використання за клінічного дослідження на тлі остеоартрозу, коморбідного з гіпотиреозом.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Селективні НПЗЗ і переважні інгібітори ЦОГ-2 виявляють меншу знеболювальну активність у порівнянні з невибірковими інгібіторами ЦОГ, а призначення замісної гормональної терапії гіпотиреозу відновлює їх антиноцицептивну активність на тлі остеоартрозу, коморбідного з гіпотиреозом, що обґрунтовує доцільність комбінованого застосування диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину.

2. Досліджені НПЗЗ та парацетамол мають різний вплив на ступінь запалення та на дегенеративно-дистрофічні процеси у кістковій та хрящовій тканині, що у клінічних умовах дозволить обирати відповідний засіб у залежності від клінічних проявів остеоартрозу.

3. При фармакотерапії остеоартрозу на тлі гіпотиреозу необхідно враховувати вплив різних аналгетиків на рівень гормонів ТТГ, Т3 та Т4 з метою раціональної корекції функціональної активності щитоподібної залози.

1. 4. Використання комбінованої терапії, заснованої на поєднанні диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину є доцільним і здатним підвищувати ефективність знеболювальної, протизапальної та хондропротекторної терапії при коморбідній патології остеоартрозу та гіпотиреозу.
2. **СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**
3. Носівець Д.С. Фармакологія хондропротекторів (огляд фармацевтичного ринку України). Вісник проблем біології та медицини. 2013. Т. 1 (104), № 4. С. 57-63.
4. Носивец Д.С. Влияние функциональной недостаточности щитовидной железы на костно-хрящевую ткань. Morphologia. 2019. Т. 13, № 1. С. 47-51.
5. Носивец Д.С. Влияние комбинации НПВС на течение остеоартроза при сопутствующем гипотиреозе. Проблемы эндокринной патологии. 2019. № 2 (68). С. 40-45.
6. Носивец Д.С. Экспериментальные модели патологии хрящевой ткани. Запорожский медицинский журнал. 2019. Т. 21, № 4 (115). С. 554-560.
7. Носівець Д.С. Вплив нестероїдних протизапальних засобів на руховий, дослідницький та емоційний статус щурів у тесті «відкрите поле» за умов експериментального гіпотиреозу й остеоартрозу. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2019. Т. 13, № 2. С. 98-104.
8. Носівець Д.С. Можливість сумісного використання L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроітину сульфату при гіпотиреозі. Вісник проблем біології і медицини. 2019. Т. 1 (150), № 2. С. 172-176.
9. Носівець Д.С., Кошарний В.В., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Дослідження впливу комбінованного застосування L-тироксину (левотироксину), диклофенаку натрію та хондроітину сульфату на гістологічну структуру хрящової тканини. Morphologia. 2019. Т. 13, № 2. С. 71-75. (*Особистий внесок дисертанта: концепція та дизайн дослідження, збір даних,аналіз літературних джерел, проведення експерименту, статистична обробка отриманих результатів, формулювання висновків, аналіз та інтерпретація даних, написання та редагування статті*).
10. Носівець Д.С. Дослідження впливу хондроітину сульфату на прояви остеоартрозу внаслідок гіпотиреозу.Вісник проблем біології і медицини. 2019. Т. 152, № 3. С. 161-165.
11. Носівець Д.С. Вплив нестероїдних протизапальних засобів на рівень маркеру CTX II за умов експериментального гіпотиреозу та остеоартрозу. Український журнал медицини, біології та спорту. 2019. Т. 4, № 6 (22). С. 67-73.
12. Носівець Д.С. Біофармацевтичний аналіз взаємодії L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроітину сульфату, як компонентів фармакотерапії проявів остеоартрозу внаслідок гіпотиреозу. Медичні перспективи. 2019. Т. XXIV, № 3. С. 10-14.
13. Носівець Д.С. Вплив нестероїдних протизапальних засобів та парацетамолу на стан кісткової тканини за умов експериментального гіпотиреозу та остеоартрозу. Вісник проблем біології і медицини. 2019. Т. 153, № 4. С. 130-133.
14. Носівець Д.С. Показники порогу больової чутливості при експериментальному остеоартрозі та гіпотиреозі. Медичні перспективи. 2019. Т. XXIV, № 4. С. 25-29.
15. Носівець Д.С. Оцінка впливу хондроітину сульфату на морфометричні параметри колінного суглобу, больовий поріг та біохімічні показники у щурів при експериментальному остеоартрозі. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020. Т. 5, № 2 (24). С. 77-83.
16. Носівець Д.С., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Вплив диклофенаку натрію на спонтанну поведінкову активність щурів за умов остеоартрозу при супутньому гіпотиреозі. Запорожский медицинский журнал. 2020. Т. 22, № 1 (118). С. 107-111. (*Особистий внесок дисертанта: концепція та дизайн дослідження, збір даних, проведення експерименту, статистична обробка отриманих результатів, формулювання висновків, аналіз та інтерпретація даних, написання та редагування статті*).
17. Носівець Д.С. Вплив нестероїдних протизапальних засобів та парацетамолу на рівень інтерлейкінів сироватки крові щурів за умов експериментального гіпотиреозу та остеоартрозу. Вісник проблем біології і медицини. 2020. Т. 155, № 1. С. 175-179.
18. Носівець Д.С., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Зміни вмісту металопротеїназ сироватки крові щурів під впливом нестероїдних протизапальних засобів і парацетамолу на фоні експериментального остеоартрозу та гіпотиреозу. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2020. Т. 14, № 1. С. 36-42. (*Особистий внесок дисертанта: концепція та дизайн дослідження, збір даних,проведення експерименту, статистична обробка отриманих результатів, формулювання висновків, аналіз та інтерпретація даних, написання та редагування статті*).
19. Носівець Д.С. Вплив нестероїдних протизапальних засобів та парацетамолу на рівень С-реактивного протеїну сироватки крові щурів при експериментальних еквівалентах гіпотиреозу та остеоартрозу. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020. Т. 5, № 6 (28). С. 79-83.
20. Мамчур В.Й., Носівець Д.С. Факторы эффективности и безопасности при клиническом применении готового лекарственного препарата хондроитина сульфата. Neurology and neurosurgery. Eastern Europe. 2020. Т. 10, № 1. С. 150-156. (*Особистий внесок дисертанта: аналіз літературних джерел та отриманих результатів, збір даних, формулювання висновків, аналіз та інтерпретація даних, написання та редагування статті*).
21. Носівець Д.С. Фактор некрозу пухлин, як маркер визначення фармакологічної активності нестероїдних протизапальних засобів та парацетамолу при гіпотиреозі та остеоартрозі. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020. Т. 5, № 3 (25). С. 129-134.
22. Nosivets D.S. Changes in the level of interleukin-8 in the blood serum of rats with experimental osteoarthritis and hypothyroidism. **Ukr. Biochem. J. 2020. Vol. 92, N 6. Р. 178-182.**
23. Носівець Д.С., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Аналгетична активність нестероїдних протизапальних засобів і парацетамолу за експериментального остеоартрозу та гіпотиреозу. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2020. Т. 14, № 6. С. 413-421. (*Особистий внесок дисертанта: концепція та дизайн дослідження, збір даних,проведення експерименту, статистична обробка отриманих результатів, формулювання висновків, аналіз та інтерпретація даних, написання та редагування статті*).
24. Носівець Д.С. Дослідження рівня кісткової лужної фосфатази сироватки крові щурів при експериментальних еквівалентах гіпотиреозу та остеоартрозу на фоні призначення нестероїдних протизапальних засобів та парацетамолу. Український журнал медицини, біології та спорту. 2021. Т. 6, № 1 (29). С. 32-36.
25. Носівець Д.С. Дослідження впливу комбінації L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату на біль при остеоартрозі внаслідок гіпотиреозу. Вісник проблем біології і медицини. 2021. Т. 159, № 1. С. 97-101.
26. Nosivets D., Montell E., Opryshko V. Histological changes following the administration of two different chondroitin sulfate products in experimental osteoarthritis models in rats. European Journal of Clinical and Experimental Medicine. 2021. Vol. 19 (1). Р. 23-32. (*Особистий внесок дисертанта: вибір концепції та задач роботи, збір даних, проведення експерименту, отримання, аналіз та інтерпретація даних, статистичний аналіз, написання та редагування статті, аналіз літературних джерел*).
27. Рациональная фармакотерапия болевого синдрома различного генеза комбинированными нестероидными противовоспалительными средствами. Монография / В.И. Мамчур, Д.С. Носивец, С.В. Налетов, В.Г. Гурьянов, В.И. Паламарчук, А.Ж. Оголь. - Киев: ЧАО “Випол”, 2017. - 48 с. (*Особистий внесок дисертанта: концепція та дизайн дослідження, збір даних,проведення експерименту, статистична обробка отриманих результатів, формулювання висновків, аналіз та інтерпретація даних, написання та редагування рукопису*).
28. Патент України на корисну модель UA 137435 U, МПК (2019.01), A61K 31/00, A61P 5/00, A61P 19/00, A61P 29/00. Спосіб лікування остеоартрозу при супутньому гіпотиреозі / Д.С. Носівець, В.І. Опришко, В.Й. Мамчур - u201902425; заявл. 12.03.2019; опубл. 25.10.2019. - Бюл. № 20/2019.
29. Носівець Д.С., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Ефективне застосування комбінованих нестероїдних протизапальних засобів при лікуванні остеоартрозу та супутньому гіпотиреозі. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров’я. - 2019, № 65. - 4 с.
30. Носівець Д.С., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Особливості використання хондроітину сульфату при лікуванні остеоартрозу на тлі гіпотиреозу. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров’я. - 2019, № 66. - 4 с.
31. Носівець Д.С., Мамчур В.Й., Опришко В.І. Раціональне застосування нестероїдних протизапальних засобів та хондропротекторів при лікуванні остеоартрозу на фоні гіпотиреозу. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров’я. - 2019, № 67. - 4 с.
32. Раціональне лікування остеоартрозу суглобів при супутньому гіпотиреозі / Носівець Д.С., Мамчур В.Й., Опришко В.І., Жилюк В.І. - Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров’я. Випуск 6 - К., 2020. Реєстр № 276/6/19. С. 240-241. - 363 с.
33. Носивец Д.С. Применение хондропротекторов при патологии хрящевой ткани. Материалы XIII Северо-Западной научно-практической конференции по ревматологии. СПб., 2013. С. 80-82.
34. Носивец Д.С., Мамчур В.И., Старовойтова Н.А. Особенности фармакотерапии дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательного аппарата при коморбидных состояниях. Материалы XVІ Международной конференции«Современные стратегия и тактика в неврологии» (23-25 апреля 2014 г.). Трускавец, 2014. С. 173-176.
35. Носівець Д.С. Патологія кісткової та хрящової тканин на фоні тиреоїдної дисфункції.Матеріали ХІX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених (27-29 квітня 2015 р.). Тернопіль: Укрмедкнига, 2015. С. 298.
36. Носивец Д.С. Возможные механизмы анальгезии при фармакотерапии хондропротекторами. **Матеріали**науково-практичної конференціїз міжнародноюучастю«Філатовські читання - 2016» (19-20 травня 2016 р.). Одеса, 2016. С. 222.
37. Носивец Д.С. Изменение болевого порога у крыс при экспериментальном остеоартрозе после введения хондроитина сульфата. **Матеріали** V Національного з’їзду фармакологів України (18-20 жовтня 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 101.
38. Носивец Д.С. Механизмы анальгезии при фармакотерапии хондропротекторами. I Международный конгресс ассоциации ревмоортопедов (28-29 сентября 2017 г.): тезисы докладов конгресса / редколлегия: М. А. Макаров [и др.]; Ассоциация ревмоортопедов. Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2017. С. 37-38.
39. Носивец Д.С. Морфометрическая оценка состояния суставов крыс при экспериментальном остеоартрозе на фоне введения хондроитина сульфата. Сучасні аспекти клінічної фармакології на тлі досягнень доказової медицини / **Матеріали** ІХ Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 16-17 листопада 2017 року. – Вінниця, Нілан-ЛТД, 2017. С. 76-83.
40. Носівець Д.С. Фармакологічні аспекти використання нестероїдних протизапальних засобів при остеоартрозі за умов гіпотиреозу.**International scientific and practical conference «Prospects for the development of medicine in EU countries and Ukraine» Wloclawek, Republic of Poland, December 21–22, 2018. Wloclawek: Izdevnieciba «Baltija Publishing», 2018. Р. 44-46.**
41. Носивец Д.С. Биохимические маркеры при патологии хрящевой и костной ткани. Современные аспекты травматологии, ортопедии и реконструктивной хирургии: Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Н.П. Демичева (г. Астрахань, 22-23 марта 2019 г.) / под ред. д-ра мед. наук С.В. Дианова и д-ра мед. наук А.Н. Тарасова. – Астрахань: Изд-во Астраханского государственного медицинского университета, 2019. С. 90-92.
42. Носівець Д.С. Корекція проявів остеоартрозу при супутньому гіпотиреозі. Фізіологічні та біохімічні механізми розвитку і корекціїпатологічних станів: матеріали міжвузівськоїнауково-практичноїконференціїмолодих учених та студентів з міжнародноюучастю (5-6 квітня 2019 р.) / редколегія: А. Л. Загайко, Д. І. Маракушин, В. М. Кравченко [та ін.].Харків: НФаУ, 2019. С. 37.
43. Носівець Д.С. Використання НПЗЗ та хондропротекторів для лікування остеоартрозу на фоні гормональної дисфункції щитоподібної залози. **Матеріали** науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти діагностики та лікування захворювань внутрішніх органів» (11 квітня 2019 р.). Івано-Франківськ, 2019. С. 68-69.
44. Носивец Д.С. Рациональное использование НПВС и хондропротекторов для лечения остеоартроза при сопутствующем гипотиреозе. Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2019: Сборник тезисов докладов LXXIII Международной научно-практической конференциистудентов и молодых учёных / под редакцией А.В. Сикорского, В.Я. Хрыщановича. Минск: БГМУ, 2019. С. 1495.
45. Носивец Д.С. Выбор НПВС для симптоматической терапии проявлений остеоартроза при сопутствующем гипотиреозе. Материалы всероссийской научно-образовательной конференции «Научные достижения и современные технологии в российской травматологии и ортопедии», посвященной памяти профессора А.Н. Горячева. Омск: Издательство «Омскбланкиздат», 2019. С. 48-50.
46. Nosivets D.S. Application of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and hondroprotectors in treatment of osteoarthritis in complex hypothyroidism. International scientific conference «Medicine under the modern conditions of integration development of European countries» (May 10-11, 2019). Lublin: Izdevnieciba «Baltija Publishing», 2019. С. 146-149.
47. Носивец Д.С. Структурные изменения костной и хрящевой ткани при экспериментальном гипотиреозе. III Международный конгресс ассоциации ревмоортопедов: тезисы докладов конгресса / редколлегия: М. А. Макаров [и др.]; Ассоциация ревмоортопедов (Москва, 20-21 сентября 2019 г.). Воронеж: Издательско-полиграфический центр «Научная книга», 2019. С. 83-85.
48. Носивец Д.С. Клинические и экспериментальные аспекты остеоартроза при сопутствующем гипотиреозе. Материалы международной научно-практической конференции «Илизаровские чтения» «Осложнения в ортопедии и травматологии. Клинические и экспериментальные аспекты» (14-15 июня 2019 г.). Курган, 2019. С. 120-122.
49. Носівець Д.С. Профілактика остеоартрозу при функціональній недостатності щитоподібної залози.**Матеріали** науково-практичної конференції з міжнародною участю «Новітні тенденції в діагностиці та лікуванні внутрішніх хвороб» (15-16 жовтня 2019 р.)/ за ред. О.М. Біловола [та ін.]. Харків, 2019. С. 152-153.
50. Носівець Д.С. Аналіз взаємодії лікарських засобів при фармакотерапії остеоартрозу внаслідок гіпотиреозу. Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини / **Матеріали** Х Всеукраїнської науково-практичної конференціїза участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології (7-8 листопада 2019 р.). Вінниця, Нілан-ЛТД, 2019. 272 с. С. 153-154.
51. Носівець Д.С. Сучасні аспекти дослідження стану хрящової та кісткової тканини при остеоартрозі внаслідок гіпотиреозу. Розвиток природничих наук як основа новітніх досягнень у медицині: **матеріали** науково-практичної інтернет-конференції (27 листопада 2019 р.) / за ред. В.І. Федіва – Чернівці: БДМУ, 2019. – 390 с. - **С. 85-86.**
52. Носівець Д.С. Біохімічні зміни маркерів запалення у сироватці крові щурів при призначені НПЗЗ та парацетамолу на тлі остеоартрозу та гіпотиреозу. «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»: матеріали ІV Міжнародної науково-практичної конференції (12-13 березня 2020 року) / у 2-х т. – Харків: НФаУ, 2020. – Т. 2. – 696 с. – (Серія «Наука»). - С. 410-411.
53. Носівець Д.С. Іноваційні заходи лікування проявів остеоартрозу внаслідок функціональної недостатності щитоподібної залози. Сучасний стан та перспективи розвитку природничих дисциплін в медичній освіті: **Матеріали** Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції, м. Кропивницький, 20 березня 2020 р. / за ред. Л. П. Суховірської – Кропивницький, 2020 р. – 196 с. - С. 114-117.
54. Носівець Д.С. Використання комбінованого засобу: диклофенак натрію, хондроїтин сульфат та L-тироксин при остеоартрозі на фоні гіпотиреозу.«Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів»: матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції (11-12 березня 2021 року)– Харків: НФаУ, 2021. – 918 с. – С. 616-618.
55. Носівець Д.С. Іноваційні заходи лікування остеоартриту на фоні гіпофункції щитоподібної залози. Сучасний стан та перспективи розвитку природничих дисциплін в медичній освіті: **Матеріали** ІІ Всеукраїнської науково-практичної інтернет-конференції, м. Кропивницький, 19 березня 2021 р. / за ред. Л. П. Суховірської – Кропивницький, 2021 р. –296 с. - С. 327-239.

# АНОТАЦІЯ

**Носівець Д.С.Фармакологічний аналіз знеболення та хондропротекції за умов експериментального остеоартрозу на тлі гіпотиреозу. – На правах рукопису.**

1. Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, 2021.

У дослідах на щурах встановлено, що гіпотиреоз призводить до гіпоалгезії на тлі остеоартрозу, про що свідчить зменшення порогу больової чутливості на 17% (р<0,05)за коморбідного стану проти 24%(р<0,05) за остеоартрозу.Експериментальні патологічні стани – остеоартроз та гіпотиреоз значно змінюють антиноцицептивну активність лікарських засобів, призводячи до втрати ними аналгезуючих властивостей. За умов остеоартрозу та гіпотиреозу на фоні замісної гормональної терапії L-тироксином встановлено, що за інтенсивністю антиноцицептивної дії дані препарати розташовуються наступним чином: диклофенак натрію (+212%) (р<0,001) ≥ ібупрофен (+144%) (р<0,001) ≥ німесулід (+134%) (р<0,001) ≥ парацетамол (+116%) (р<0,001) ≥ мелоксикам (+104%) (р<0,001) ≥ целекоксиб (+93%) (р<0,001), що відображає найвищу антиноцицептивну активність диклофенаку натрію.

Визначено, що на тлі коморбідного стану – остеоартрозу з гіпотиреозом доцільне комбіноване застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату з метою посилення знеболювального ефекту окремих препаратів, відновлення морфометричних розмірів уражених суглобів, рухової, дослідницької та вегетативної активності щурів і біохімічних маркерів запального процесу. Комбіноване застосування диклофенаку натрію, хондроїтину сульфату та L-тироксину сприяє активній регенерації як хрящової, так і кісткової тканини з формуванням ділянок неоваскулогенезу, а комбіноване застосування L-тироксину, диклофенаку натрію та хондроїтину сульфату можна рекомендувати до використання за клінічного дослідження на тлі остеоартрозу, коморбідного з гіпотиреозом.

*Ключові слова:* гіпотиреоз, остеоартроз, експериментальні моделі, нестероїдні протизапальні засоби, неопіоїдні анальгетики, хондропротектори, диклофенак натрію, хондроїтину сульфат, L-тироксин, больовий поріг, знеболення, фармакотерапія, гіаліновий хрящ, суглоб, взаємодія лікарських засобів.

# SUMMARY

**Nosivets D.S. Pharmacological analysis of analgesia and chondroprotection in experimental osteoarthritis on the background of hypothyroidism. – Manuscript.**

Thesis for the scientific degree of Doctor of Medical Sciences in specialty 14.03.05 – Pharmacology. – SI «Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine», Kyiv, 2021.

The dissertation work is dedicated to pharmacological analysis of the processes of pain relief and chondroprotection for experimental consideration of the optimal use of analgesic and chondroprotective drugs for osteoarthritis with hypothyroidism. The results of the work is a basis for the development of rational approaches to pharmacotherapy of pain and inflammation and providing adequate chondroprotection in patients with osteoarthritis with concomitant hypothyroidism.

On the basis of the study a rational combination of drugs for oral use with analgesic and chondroprotective actions was determined, which includes L-thyroxine 50-100 mg, diclofenac sodium 150 mg and chondroitin sulfate 2 ml per day for comorbid pathology of osteoarthritis and hypothyroidism.

It was found that the analgesic effect of drugs against the background of comorbid pathology and administration of L-thyroxine was more significant. This result is evidence of potentiation of the analgesic effect of the NSAIDs by L-thyroxine against the background of osteoarthritis, comorbid with hypothyroidism, and reflects a significant analgesic effect of diclofenac sodium. In fact, L-thyroxine when combined with diclofenac sodium leads to an increase in the analgesic activity of the latter by 48% (p<0,05). Analgesic activity of paracetamol against the background of administration of L-thyroxine increased by 1,8 times (p<0,05) compared to the data when the antipyretic was administered alone against a background of osteoarthritis.

Based on the analysis of the obtained data, drugs that changed the hormonal background were identified. Such drugs as ibuprofen, meloxicam and nimesulide decreased the TSH level in the blood serum in 1,47, 1,29 and 1,40 times respectively (p<0,05). At the same time their use caused an increase of T4 level in 1,23, 1,27 and 1,26 times accordingly (p<0,05).

The results of the study allowed us to determine that the pharmacological doses showed only a tendency to a decrease in the level of thyroid hormones (T3 and T4) and TSH, in the blood serum when the intragastric administration of the studied drugs (p>0.05), and when therapeutic doses were increased, different data were obtained for the level of influence on the concentration of TSH, T3 and T4 in the blood serum of the rats.

On the basis of the conducted histomorphological investigations it was established that the combined use of diclofenac sodium, chondroitin sulfate and L-thyroxine promotes active regeneration of cartilage and bone tissue with neovasculogenesis areas, reduction of signs of reactive inflammation and synovial fibrosis and formation of young cartilage.

Hypothyroidism leads to hypоalgesia in osteoarthritis, as evidenced by a 17% (p<0,05) decrease in the threshold of pain sensitivity for comorbid condition versus 24% (p<0,05) for osteoarthritis.

Experimental pathological conditions - osteoarthritis and hypothyroidism significantly change antinociceptive activity of drugs, leading to loss of their analgesic properties. Under conditions of osteoarthritis and hypothyroidism on the background of replacement hormonal therapy with L-thyroxine, these drugs are ranked as follows according to the intensity of their antinociceptive action: diclofenac sodium (+212%) (р<0,001) > ibuprofen (+144%) (р<0,001) > nimesulide (+134%) (р<0,001) > paracetamol (+116%) (р<0,001) > meloxicam (+104%) (р<0,001) > celecoxib (+93%)(р<0,001), which reflects the highest antinociceptive activity of diclofenac sodium.

Osteoarthritis and hypothyroidism contribute to the degradation of motor and investigative activity in the rats, and replacement hormonal pharmacotherapy with L-thyroxine contributes to its restoration (р<0,05). The use of diclofenac sodium in combination with L-thyroxine leads to the potentiation of positive effect of L-thyroxine on motor and investigative activity compared to L-thyroxine monotherapy (p<0,05).

The degree of influence on the inflammatory processes in the joint by the measures of the levels of interleukin (IL 1, IL 6 and IL 8), matrix metalloproteinases (MMP-3, MMP-9 and MMP-13), and C-reactive protein and for the intensity of the effect on degenerative-dystrophic processes in the bone tissue (for the level of the marker of collagen degradation type I (CTX I) in the blood serum of the rats) the drugs were ranked as follows: diclofenac sodium > ibuprofen > nimesulide = meloxicam > celecoxib > paracetamol, which reflects the different efficacy of the indicated drugs on pathological manifestations of comorbid pathology.

For the degree of influence on degenerative-dystrophic processes in cartilage tissue, evaluated by the level of collagen degradation marker type II (CTX II) in the blood serum of the rats, the drugs were ranked in the following way: nimesulide > celecoxib > meloxicam > ibuprofen > diclofenac sodium > paracetamol.

According to the degree of influence on the activity of osteoblasts in the bone tissue, which was assessed by the level of bone alkaline phosphatase in the blood serum of the rats, the studied drugs were ranked as follows: diclofenac sodium > ibuprofen > meloxicam > nimesulide > celecoxib > paracetamol.

Against the background of osteoarthritis and hypothyroidism in the rats ibuprofen, meloxicam and nimesulide reduced the TSH level in the rats' blood in 1,47, 1,29 and 1,40 times respectively (p<0,05) and raise the T4 level by 1,23, 1,27 and 1,26 times respectively (p<0,05). Diclofenac sodium and celecoxib decrease the TSH level by 1,16 and 1,15 times (p<0.05) and increase the T4 level by 1,1 and 1,05 times (p>0.05) respectively.

Combined use of L-thyroxine, diclofenac sodium and chondroitin sulfate with the aim of increasing the non-inflammatory effect of single drugs is advisable for comorbid condition - osteoarthritis with hypothyroidism, renewal of morphometric dimensions of the affected joints, rupture, examination and vegetative activity of the gums and biochemical markers of the inflammatory process. The absence of biopharmaceutical interaction between the indicated preparations was established.

Combined use of diclofenac sodium, chondroitin sulfate and L-thyroxine promotes active regeneration of both cartilage and bone tissue with formation of neovasculogenesis areas, and combined use of L-thyroxine, diclofenac sodium and chondroitin sulfate can be recommended for clinical examination of osteoarthritis comorbid with hypothyroidism.

*Key words:* hypothyroidism, osteoarthritis, experimental models, non-steroidal anti-inflammatory drugs, non-opioid analgesics, chondroprotectors, diclofenac sodium, chondroitin sulfate, L-thyroxine, pain threshold, pain relief, pharmacotherapy, hyaline cartilage, joint, drug interaction.

**АННОТАЦИЯ**

**Носивец Д.С. Фармакологический анализ обезболивания и хондропротекции в условиях экспериментальногоостеоартроза на фоне гипотиреоза. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», Киев, 2021.

В опытах на крысах установлено, что гипотиреоз приводит к гипоальгезии на фоне остеоартроза, о чем свидетельствует уменьшение порога болевой чувствительности на 17% (р<0,05) при коморбидном состоянии, против 24% (р<0,05) при остеоартрозе. Экспериментальные патологические состояния - остеоартроз и гипотиреоз значительно изменяют антиноцицептивную активность лекарственных средств, приводя к потере ими анальгезирующих свойств. В условиях остеоартроза и гипотиреоза на фоне заместительной гормональной терапии L-тироксином установлено, что по интенсивности антиноцицептивного действия эти препараты располагаются следующим образом: диклофенак натрия (+212%)(р<0,001) > ибупрофен (+144%)(р<0,001) > нимесулид (+134%)(р<0,001) > парацетамол (+116%)(р<0,001) > мелоксикам (+104%)(р<0,001) > целекоксиб (+93%)(р<0,001), что отражает высокую антиноцицептивную активность диклофенака натрия.

Определено, что на фоне коморбидных состояний - остеоартроза с гипотиреозом целесообразно комбинированное применение L-тироксина, диклофенака натрия и хондроитина сульфата для усиления обезболивающего эффекта отдельных препаратов, восстановления морфометрических размеров пораженных суставов, двигательной, исследовательской и вегетативной активности крыс и биохимических маркеров воспалительного процесса. Комбинированное применение диклофенака натрия, хондроитина сульфата и L-тироксина способствует активной регенерации как хрящевой, так и костной ткани с формированием участков неоваскулогенеза, а комбинированное применение L-тироксина, диклофенака натрия и хондроитина сульфата можно рекомендовать к использованию после клинического исследования на фоне остеоартроза, коморбидного с гипотиреозом.

*Ключевые слова:* гипотиреоз, остеоартроз, экспериментальные модели, нестероидные противовоспалительные средства, неопиоидные анальгетики, хондропротекторы, диклофенак натрия, хондроитина сульфат, L-тироксин, болевой порог, обезболивание, фармакотерапия, гиалиновый хрящ, сустав, взаимодействие лекарственных средств.

# ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЛЗ – лікарський засіб

ЩЗ – щитоподібна залоза

ГІТ – гіпотиреоз

ОА – остеоартроз

ЕГ – експериментальний гіпотиреоз

ЕОА – експериментальний остеоартроз

НПЗЗ – нестероїдні протизапальні лікарські засоби

ХП – хондропротектори

ІЛ – інтерлейкін

ФНП – фактор некрозу пухлин

ММП – матриксні металопротеїнази

СРП – С-реактивний протеїн

КЛФ – кісткова лужна фосфатаза

ГАГ – глікозаміноглікани

CTX-I – маркер С-телопептиду колагену I типу

CTX-II – маркер С-телопептиду колагену II типу

МОК – монойодоцтова кислота

ТТГ – тиреотропин або гормон, стимулюючий щитоподібну залозу

Т3 – вільний трийодтиронин

Т4 – вільний тироксин

ІФА – імуно-ферментний аналіз

ІЩ – інтактні щури

ВС – вихідний стан

Т – L-тироксин (левотироксин)

ХС – хондроїтину сульфат

Д – диклофенак натрію

І – ібупрофен

Мел – мелоксикам

П – парацетамол

Н – німесулід

Ц – целекоксиб