**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ**

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ
ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»**

## **ПАВЛЮК-ГАВРИЛОВА ГАННА ВАСИЛІВНА**

УДК: 615.273.55:616-039.811/814

**ОСОБЛИВОСТІ ФАРМАКОДИНАМІКИ ДИКЛОФЕНАКУ ТА НІМЕСУЛІДУ ЗА УМОВ КОМБІНОВАНОГО ЗАСТОСУВАННЯ З АМЛОДИПІНОМ НА МОДЕЛІ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ**

14.03.05 – фармакологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

**Київ – 2016**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у відділі фармакології протизапальних та аналгезуючих засобів Державної установи «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

**Науковий керівник** доктор медичних наук

**Серединська Наталія Миколаївна,**

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», завідуюча відділом фармакології протизапальних та аналгезуючих засобів

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор

 **Волощук Наталія Іванівна,**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова МОЗ України,

завідувач кафедри фармакології

доктор медичних наук, професор

**Борткевич Олег Петрович**

провідний науковий співробітник відділу некоронарогенних хвороб серця та клінічної ревматології ДУ «Національний науковий центр «Інститут кардіології імені академіка М.Д. Стражеска» НАМН України

Захист відбудеться 19 жовтня 2016 р. о 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» за адресою 03680, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» за адресою 03680, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14.

Автореферат розісланий «13» вересня 2016 року.



**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради,**

**кандидат біологічних наук Данова І.В.**

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Унікальне поєднання знеболювального, протизапального та жарознижувального ефектів у нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) забезпечує їм одне з перших місць за частотою клінічного застосування при больових синдромах різного ґенезу та обґрунтовує доцільність їхнього призначення за ревматоїдного артриту (РА) та інших захворювань суглобів та сполучної тканини (Каратеев, 2013; Насонов, 2013; J. Anderson et al., 2012).

Ревматоїдний артрит (РА) є однією з основних медичних та соціально-економічних проблем сучасної ревматології. Він має широку розповсюдженість як серед осіб працездатного та похилого віку, так і серед дітей, характеризується тяжкістю перебігу, численними та тяжкими ускладненнями, хронізацією патологічного процесу (J.J. Cush et al., 2010; J.T. Birch, S. Bhattacharya, 2010; B. Heidary, 2011). За відсутності ефективного лікування РА призводить до швидкої інвалідизації, що є результатом множинних уражень основних складових апарата опори та руху з виникненням конкордантних та дискордантних деформацій, і скорочення тривалості життя пацієнтів.

Пацієнти з РА мають підвищений ризик розвитку кардіоваскулярної патології, в тому числі і артеріальної гіпертензії (АГ). Це може бути спричинено як больовим синдромом, так і застосуванням терапевтичних засобів, зокрема НПЗП (R. Knevel et al., 2010; J. Lindhardsen et al., 2012; [L](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Salamon%20L%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22965673). [Salamon](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Salamon%20L%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22965673) еt al., 2013)*.* РА нерідко виникає на тлі АГ (D.J. Graham et al., 2005; Harrison D.G. et al., 2011; S. Trelle еt al., 2011). Згідно даних літератури, НПЗП притаманний прогіпертензивний ефект і більш, ніж у половини хворих на РА, які застосовують НПЗП, реєструється АГ або дестабілізація артеріального тиску (АТ). Тому у світі відмічається найширше поєднане (комбіноване) застосування НПЗП з гіпотензивними препаратами (А.Е. Каратеев и др., 2009; Л.М. Пасиешвили, 2011; Д.С. Новикова и др., 2014).

Проблеми фармакологічної корекції РА зумовлені, зокрема, недостатніми знаннями сучасної медицини щодо етіологічних факторів та механізмів розвитку захворювання, а також недостатньою ефективністю та безпечністю лікарських засобів, що рекомендуються для терапії (D.L. Scott еt al., 2010; I.B. McInnes, G. Schett, 2011; Е.Л. Насонов, 2014). Вибір ефективного та безпечного НПЗП за РА потребує глибоких знань про механізм дії, фармакодинамічні та фармакокінетичні властивості, а також знань щодо безпечності і збереження ефективності за взаємодії з препаратами інших фармакотерапевтичних груп.

Не менш важливою проблемою, яка наразі ще далека до свого вирішення, є кардіотоксичність НПЗП, що зумовлена відсутністю необхідного обсягу інформації щодо механізмів розвитку цього явища, особливо на тлі тривалого застосування НПЗП, а також за наявності коморбідної патології. Вибір антигіпертензивного засобу для комбінованого застосування з НПЗП ускладнений через те, що гіпотензивні препарати різних груп (діуретики, бета-блокатори, інгібітори АПФ) втрачають власну терапевтичну активність і можуть змінювати специфічну фармакологічну ефективність НПЗП.

Можна припустити, що для усунення прогіпертензивної дії НПЗП будуть ефективними блокатори повільних потенціалочутливих кальцієвих каналів дигідропіридинового ряду (БКК), що знижують АТ без участі простагландинів, не спричинюють аритмогенного ефекту. Найширше застосування в кардіологічній практиці як гіпотензивний препарат отримав амлодипін (АМ). Він призводить до поступового зниження АТ без зміни частоти серцевих скорочень (ЧСС), є метаболічно нейтральним і таким, що зменшує ендотеліальну дисфункцію завдяки нормалізуючому впливу на NO-систему. АМ, як і НПЗП, призначається тривало пацієнтам різного віку, в тому числі – дитячого та похилого, у яких найчастіше запальні захворювання супроводжуються ускладненнями у функціонуванні серцево-судинної системи, або, навпаки, на тлі захворювань серцево-судинної системи виникають запальні процеси (М. Luque еt al., 2006; Ю.А. Карпов, 2010; В.П. Лупанов, 2010; О.А. Цветкова, 2011; М.В. Лебедева и др., 2013).

Дослідження оптимальної та безпечної терапії за комбінованого застосування НПЗП та антигіпертензивних препаратів передбачає вирішення декількох питань, зокрема: чи однаковий ступінь зміни АТ за застосування різних за селективністю по відношенню до ЦОГ НПЗП разом з гіпотензивними препаратами; як змінюється специфічна фармакологічна активність НПЗП за умов комбінованого застосування з цими препаратами; чи зберігається і як змінюється специфічна фармакологічна активність гіпотензивних засобів, зокрема, БКК дигідропіридинового ряду, за застосування з різними за селективністю до ЦОГ НПЗП. В літературі немає єдиної думки щодо переважного вибору того чи іншого НПЗП та БКК з урахуванням їхньої взаємодії та збереження достатнього рівня ефективності та безпечності на тлі РА. Наведені аргументи свідчать про актуальність досліджень щодо терапевтичної ефективності гіпотензивних та протизапальних засобів за комбінованого застосування, щодо кардіобезпечності НПЗП, різних за селективністю до ЦОГ, на тлі РА.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана в межах двох планових науково-дослідних тем ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»: «Оцінити особливості фармакодинаміки нестероїдних протизапальних лікарських засобів за умов їх комбінованого застосування з антагоністами кальцію дигідропіридинового ряду на моделі ревматоїдного артриту» (№ держреєстрації 0111U002469) та «Ефективність і безпечність нестероїдних протизапальних препаратів та антагоністів кальцію дигідропіридинового ряду за умов їх комбінованого застосування на моделі ревматоїдного артриту, поєднаного з артеріальною гіпертензією» (№ держреєстрації 0114U001344).

**Мета роботи.** Вивчити ефективність та кардіобезпечність комбінованого застосування диклофенаку та німесуліду з амлодипіном на тлі експериментального ревматоїдного артриту у щурів.

**Завдання дослідження:**

1. Визначити інтегральні показники життєдіяльності у білих щурів з ад’ювантним артритом (АА) за умов комбінованого застосування диклофенаку (ДК) і німесуліду (НМ) з АМ.
2. Визначити динаміку змін АТ, ритму та ЧСС на тлі АА за умов тривалого комбінованого застосування неселективного інгібітора ЦОГ ДК і селективного інгібітора ЦОГ-2 НМ з АМ.
3. Встановити можливість корекції за допомогою АМ кардіотоксичного ефекту НПЗП на тлі АА.
4. Порівняти ступінь і тривалість аналгетичної активності ДК та НМ за монотерапії та за взаємодії з АМ на фоні різних періодів розвитку АА.
5. Визначити пронабрякову активність ДК та НМ у різні періоди АА за тривалого введення за монотерапії та за комбінованого застосування з АМ.

*Об’єкт дослідження*. Ефективність і кардіобезпечність ДК та НМ за умов комбінованого застосування з АМ на тлі АА.

*Предмет дослідження*. Кардіотропна, протизапальна, знеболююча активність та інтегральні показники функціонування різних органів і систем за дії ДК, НМ та АМ на тлі АА.

*Методи дослідження.* Фармакологічні (дослідження аналгетичної активності та протинабрякової дії препаратів; клінічні спостереження), токсикологічні (вивчення токсичної дії ДК на тлі АА), методи експериментальної кардіології (визначення АТ та ЧСС), математичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** В роботі вперше досліджено динаміку змін функціональних показників роботи серцево-судинної системи за умов АА та його корекції ДК, НМ та їх комбінації з АМ. Результатами досліджень встановлено, щоДК та НМ призводять до розвитку гіпертензії за умов тривалого щоденного застосування на тлі АА. НМ, на відміну від ДК, посилює гіпертензивний ефект повного ад’юванта Фрейнда (АФ). АМ проявляє гіпотензивну активність за умов АА та зберігає її за комбінованого застосування з НПЗП. АМ за умов монотерапії, а також за комбінованого застосування з ДК або з НМ значно зменшує частоту розвитку гіпертензії у гострий період та період маніфестації АА. Досліджувані лікарські засоби за монотерапії не впливають на ритм та ЧСС на тлі АА. Комбіноване застосування НПЗП з АМ на фоні розвитку АА призводить до зростання тахікардії.

У порівняльному аспекті досліджені особливості фармако- та токсикодинаміки НПЗП, різних за селективністю до ЦОГ – ДК та НМ – за умов комбінованого застосування з АМ на тлі АА. Встановлено, що знеболювальна активність НМ перевищує аналгезуючу дію ДК за АА, а найвища аналгетична активність досліджених НПЗП проявляється на піку запального процесу.

Виявлена виразна аналгетична активність АМ, особливо значуща на піку запальної реакції та у період її згасання, на тлі АА у щурів.

Комбіноване застосування ДК з АМ та НМ з АМ призводить до посилення знеболювальної дії НПЗП, вочевидь, за рахунок аналгетичної активності самого антагоніста кальцію. Протибольова активність комбінованої дії НМ з АМ суттєво вища за таку, що реєструється за впливу ДК з АМ.

Встановлено, що протинабрякова активність ДК у гострий період та період маніфестації АА вища за протинабрякову дію НМ; у період згасання патологічного процесу протинабрякова активність НМ перевищує таку, що властива ДК.

Виявлена протинабрякова активність АМ на тлі АА, причому антиексудативна дія АМ та НМ у гострий період та період маніфестації АА аналогічні за ступенем, у період згасання патологічного процесу протинабрякова дія АМ перевищує таку, що властива і ДК, і НМ. Даний результат обґрунтовує можливість застосування лише АМ з метою усунення запальної реакції та знеболення при слабкому чи помірному больовому синдромі у період згасання патологічного процесу, що може убезпечити від прояву побічної дії НПЗП (в т.ч. – кардіотоксичної), зменшуючи тривалість їхнього застосування.

Результати досліджень дозволили встановити, що за умов комбінованого застосування АМ посилює протинабрякову дію ДК впродовж всього терміну спостереження, а НМ – лише у період згасання патологічного процесу. Протинабряковий ефект за умов комбінованого застосування ДК з АМ на тлі АА вищий, ніж за комбінованого застосування НМ з АМ.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати проведених досліджень засвідчили доцільність використання для комбінованої терапії АА препаратів груп НПЗП і БКК з метою зменшення як власне больового і запального процесів, так і кардіотоксичного впливу НПЗП.

На тлі АА з метою найменшого негативного впливу на серцево-судинну систему, зокрема, на АТ, слід надавати перевагу застосуванню ДК, а не НМ. За неможливості використання ДК (через захворювання ШКТ, або через високий ризик НПЗП-індукованої гастротоксичної дії) можливе та рекомендоване застосування НМ за умови постійного моніторингу рівня АТ. Збереження специфічної фармакологічної активності АМ як гіпотензивного засобу за комбінованого застосування з НПЗП дозволяє рекомендувати його для зменшення або подолання кардіотоксичного впливу НПЗП, зокрема, специфічних інгібіторів ЦОГ-2.

Вперше виявлені знеболююча та протизапальна дії АМ обґрунтовують можливість його застосування як у комбінації з ДК або НМ у гострий період та у періоди маніфестації та згасання АА, так і в якості засобу монотерапії за згасання запального процесу або у період ремісії.

Знеболювальна дія АМ доводить можливість його застосування на тлі слабкого чи помірного болю у період згасання ревматоїдного процесу або у період ремісії та недоцільності застосування НПЗП з цією метою, що дозволить убезпечити від побічної дії, зокрема, ДК та НМ за умов їхнього тривалого застосування та уникати поліпрагмазії і, як наслідку, зростання кількості та ступеня виразності побічних ефектів. Отримані результати можуть бути використані та підтверджені за проведення клінічних досліджень, мета яких повинна бути спрямованою на оптимізацію схем лікування РА.

Особливого значення набуватимуть питання щодо оптимізації вибору НПЗП та гіпотензивних засобів за умов поєднаної патології, наприклад, за умов РА та АГ. Актуальність цього питання зумовлює доцільність рекомендацій щодо необхідності проведення подальших експериментальних досліджень з вивчення ефективності та безпечності інших лікарських засобів фармакотерапевтичних груп – НПЗП та гіпотензивних – для комбінованої терапії коморбідного стану, зокрема, РА та гіпертензії.

Результати проведених досліджень внесені до Інформаційних листів: «Кардіотропна дія нестероїдних протизапальних лікарських засобів за умов комплексного застосування з антагоністом кальцію дигідропіридинового ряду» (№312-2013.- МОЗ України, Укрмедпатентінформ) і «Аналгетична активність блокатора кальцієвих каналів дигідропіридинового ряду за комбінованого застосування з нестероїдними протизапальними засобами на тлі експериментального ревматоїдного артриту» (№194-2015.- МОЗ України, Укрмедпатентінформ), що можуть бути враховані клініцистами.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно проведений патентно-інформаційний пошук, аналіз літератури за темою дисертації, освоєні методи дослідження аналгезуючої, протизапальної та кардіотропної дії лікарських засобів, здійснено відпрацювання відповідних методик щодо клінічних спостережень за тваринами, перорального введення препаратів. Разом з науковим керівником визначена наукова проблема, поставлені мета та завдання дослідження, розроблена програма наукових досліджень, сформульовані висновки та практичні рекомендації. Дисертантом за консультативної допомоги та технічної участі співробітників відділів фармакології протизапальних та аналгезуючих засобів та фармакології серцево-судинних засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» досліджено протизапальну, аналгетичну та кардіотоксичну дію ДК, НМ і АМ на тлі АА у щурів. Самостійно Павлюк-Гавриловою Г.В. проведено оцінку інтегральних показників функціонування органів та систем за умов комбінованого застосування НПЗП та АМ на АА у щурів. Автором дисертації проведені опрацювання, аналіз та узагальнення результатів дослідження, здійснена підготовка матеріалів до публікацій. Павлюк-Гаврилова Г.В. підготувала результати досліджень для розгляду на Проблемній комісії «Фармакологія» з метою отримання рекомендації щодо включення їх у 2 Інформаційні листи про нововведення в системі охорони здоров’я.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та висновки дисертаційної роботи були представлені на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і студентів з міжнародною участю (м. Запоріжжя, 2015), на VIII та XII міжнародних конференціях «Развитие науки в XXI веке» (м. Харків, 2015 р. та 2016 р. відповідно), на міжнародній конференції «Наука в епоху дисбалансу» (м. Київ, 25 січня 2016 р.). За матеріалами міжнародних конференцій опубліковані статті у збірниках наукових праць, що цитуються у наукометричній базі (РИНЦ). Результати дисертаційного дослідження доповідалися на наукових семінарах в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України (протоколи № 9 від 19 грудня 2013 р., № 10 від 18 грудня 2014 р. та № 4 від 21 травня 2015 р.), на засіданнях Проблемної комісії «Фармакологія» (протоколи № 3 від 29.05.2013 р., № 4 від 26.05.2013 р. та № 2 від 24.06.2015 р.). Вагомі результати досліджень опубліковані у двох Інформаційних листах (№ 312-2013 р. та (№ 194-2015 р.).

**Публікації**. За матеріалами дисертації опубліковано 11 друкованих праць: 4 статті у фахових виданнях України, 1 стаття у закордонному журналі, 3 статті – у збірниках статей, що цитуються у наукометричній базі (РИНЦ), тези доповіді на науково-практичному форумі, 2 Інформаційні листи про нововведення в системі охорони здоров’я.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків та списку використаних джерел. Загальний обсяг дисертації – 151 сторінка машинописного тексту. Робота ілюстрована 12 таблицями. Перелік використаних джерел містить 251 найменування (116 кирилицею,135 латиницею).

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальна робота була виконана на статевозрілих нелінійних білих щурах обох статей з вихідною масою 164,3±5,1 г. Здорові тварини було отримано із віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», що утримувалися на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води при сталій температурі повітря (20±2°С) та вологості (50-60)% за світлового режиму «день-ніч». Всі експериментальні процедури проводились у відповідності до міжнародних вимог про гуманне ставлення до тварин, окреслених Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях. Правила евтаназії та утилізації загиблих тварин відповідали вимогам умов доклінічної практики [О.В. Стефанов та ін., 2002].

*Формування груп щурів для дослідження та моделювання АА.* Дорослих білих щурів обох статей утримували в пластикових клітках групами. Після акліматизації (14 діб) тварин розподіляли на групи: перша група інтактних тварин; друга група – контрольна (тварини з АА); тваринам третьої, четвертої та п’ятої груп на тлі розви­тку АА вводили ДК, НМ та АМ відпо­відно; щурам шостої та сьомої груп на тлі АА вводили ДК з АМ або НМ з АМ відповідно.Патологічний процес викликали підшкірним уведенням в підошовну частину задньої кінцівки повного АФ в об’ємі 0,1 мл (А.С. Саратиков, А.И. Венгеровский, Т.П. Прищеп, 1983; A.M. Bendele, 2001). Тваринам 3-5 груп після одноразової ін’єкції АФ, щоденно, 1 раз на добу, впродовж 60 діб уводили в шлунок через спеціальний металевий зонд ДК, НМ, АМ в умовно-терапевтичних дозах 8,0, 15,0 та 1,5 мг/кг відповідно у вигляді завису в 1% крох­мальному клейстері. Тварини 5-7 груп отримували АМ упродовж 7 діб (1 раз на добу) до вве­дення АФ. За комбінованого застосування НПЗП з АМ препарати вводили по-черзі, з інтервалом у 60 хв. Спостереження за тваринами проводили в динаміці протягом 60 діб після введення АФ.

*Дослідження кардіотоксичної, аналгетичної, протинабрякової дії ліків та інтегральних показників життєдіяльності у щурів на тлі АА.*Функціональний стан серцево-судинної системи, клінічні прояви патологічного процесу, протибольова та протинабрякова активність досліджувалися в динаміці у терміни, що відповідали певним етапам розвитку патологічного процесу. Так, реєстрація досліджуваних показників відбувалася до застосування АФ – вихідні дані, через 7, 14, 28, 42 та 60 діб після введення АФ. Саме на 7-14 доби спостерігається максимум розвитку місцевої реакції на уведення АФ, 14-35-42 доби є термінами, коли відбувається генералізація АА, період від 42 до 60 доби характеризується як згасання патологічного процесу. Реєстрували леталь­ність тварин; зміну температури та маси тіла, коефіцієнти маси внутрішніх органів. Оцінка клінічних проявів за умов розвитку власне АА і на фоні моно- та комбінованої терапії АА відбу­валася за показниками зовнішнього виду тварин, стану суглобів, рухової активності, зміною поведінки, зоосо­ціальних відносин, здатності реагувати на зовнішні подразники, за проявом деяких вегетативних функцій.

Кардіотропний вплив НПЗП та АМ оцінювали за АТ та ЧСС (сфігмоманометр, фірми Ugo Basil (Італія), що визначені клініцистами як критеріальні точки оцінки впливу лікарських засобів на серцево-судинну систему.

Знеболювальна активність лікарських засобів досліджувалася за тестом tail flick (подразнення проксимальної частини хвоста здійснювалося шляхом фокусування інфрачервоного променя) і оцінювалася за показником порогу больової чутливості на анальгезиметрі «Tail-Flick Unit» фірми Ugo Basil (Італія) з подальшим формуванням груп тварин з вихідним порогом больової чутливості від 4 до 12 с. Тварини з порогом больової чутливості, що нижче від 4 с та вище 12 с до експерименту не залучалися (Н.М. Серединська, М.А. Мохорт, Л.М. Киричок, 2014). Протинабрякову дію НПЗП оцінювали за величиною об’єму стопи, у яку було уведено АФ, на волюмометрі фірми Ugo Basil (Італія), процентом зміни цього показника під впливом ДК, НМ, АМ або за умов комбінованого застосування одного з НПЗП з антагоністом кальцію, а також за показником протинабрякової активності (ПНА).

*Математичні методи.* Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk (W). Дані представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної похибки репрезентативності середнього значення. Вірогідність між середніми значеннями у двох вибірках визначали за критерієм Стьюдента при нормальному розподілі. Статистично значущими вважали відмінності при рівні значущості не менше 0,05.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

*Інтегральні показники життєдіяльності у щурів за комбінованого застосування НПЗП з антагоністом кальцію дигідропіридинового ряду на тлі АА.* За умов розвитку АА впродовж 60 діб після однократного введення АФ не спостерігалося загибелі тварин (табл. 1). За умов застосування ДК загибель трьох тварин (з 35) на тлі розвитку АА була зареєстрована впродовж перших 7 діб; впродовж наступних 7 діб загинуло ще 5 тварин, а до 21 доби спостереження – ще 3 щури. Загальна кількість загиблих тварин склала 11 щурів (або 31 %). Таким чином, застосування ДК на тлі АА призводило до загибелі тварин з АА. За самостійного застосування НМ або АМ на тлі АА не зареєстровано загибелі тварин впродовж 60 діб спостереження. Водночас, відмічено підвищення агресивності, настороженості та рухової активності тварин, які лікувалися НМ. Застосування АМ з ДК призводило до різкого зростання смертності щурів на тлі АА: 82 % тварин загинуло на 60 добу спостереження. До смертності 7,5 % щурів призводило застосування АМ разом з НМ.

Визначено, що за комбінованого застосування НПЗП з АМ посилюється побічна дія або токсичність ліків зазначених фармакотерапевтичних груп. Механізм даної негативної взаємодії препаратів двох груп невідомий і потребує ретельного дослідження. Можливо, це зумовлено видовою чутливістю тварин, можливо – токсичною дією метаболітів, що утворюються в результаті трансформації препаратів в організмі, або взаємодією саме АМ (його метаболітів) з НПЗП. Не виключено, що даний ефект проявляється через тривале щоденне застосування середньої ефективної дози ДК (8,0 мг/кг) та неможливість вчасної елімінації токсичних метаболітів цього препарату. За показником виживання більш безпечним на тлі АА є застосування селективного блокатора ЦОГ-2 НМ, ніж ДК, що узгоджується з даними літератури (Е.Л. Насонов, 2003; Н.І. Волощук, 2009; А.В. Родионов, 2013).

*Таблиця 1*

**Летальність# тварин з ад’ювантним артритом
за умов застосування ДК, НМ та АМ**

|  |  |
| --- | --- |
| Група тварин | Термін дослідження, доба |
| Вихі-днідані | 7 | 14 | 21 | 28 | 42 | 60 | Всьогозагинуло в групі |
| АА% загибелі | 50 | 0/50 | 0/50\* | 0/50 | 0/50 | 0/50 | 0/50 | 0/50 |
|  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| АА+ДК% загибелі | 35 | 3/35 | 5/32 | 3/27 | 0/27 | 0/27 | 0/27 | 11/35 |
|  | 8,6 | 15,6 | 11,1 | 0 | 0 | 0 | 31 |
| АА+НМ% загибелі | 35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 |
|  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| АА+АМ% загибелі | 35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 | 0/35 |
|  | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| АА+ДК+АМ% загибелі | 40 | 1/40 | 8/39 | 4/31 | 9/27 | 9/16 | 2/7 | 33/40 |
|  | 2,5 | 20,5 | 12,9 | 33,3 | 56,3 | 28,6 | 82,5 |
| АА+НМ+АМ% загибелі | 40 | 0/40 | 0/40 | 1/40 | 0/39 | 2/39 | 0/37 | 3/40 |
|  | 0 | 0 | 2,5 | 0 | 5,1 | 0 | 7,5 |

Примітка.

# – відношення кількості загиблих тварин до кількості тварин у групі.

Німесулід, на відміну від Диклофенаку, сприяє значущому приросту маси тіла щурів (на 52,1 % відносно вихідних даних). Уведення АФ призводило до суттєвого зростання коефіцієнта маси тимуса впродовж 42 діб спостереження, за згасання патологічного процесу цей показник знижувався до вихідних значень. Обидва НПЗП запобігали зростанню коефіцієнта маси тимуса, АМ сприяв його нормалізації у гострий період розвитку АА і не проявляв активності у період маніфестації запального процесу. За умов комбінованого застосування ДК з АМ спостерігалася нормалізація коефіцієнта маси тимуса впродовж 28 діб, в подальші терміни АМ не впливав на даний показник. Комбіноване застосування НМ у з АМ не призводило до нормалізації коефіцієнта маси тимуса. Отримані дані є свідченням того, що НПЗП коригують масу органу, що відповідає за імунний статус, на тлі АА. Похідним дигідропіридинів така властивість притаманна лише у гострий період патологічного процесу, а сумісне застосування дигідропіридинів та НПЗП не призводило до нормалізації коефіцієнта маси тимуса; навпаки, АМ нівелював коригуючий вплив НПЗП, зокрема, НМ на тимус.

*Кардіотропна дія НПЗП за комбінованого застосування з АМ.* Результати даного розділу роботи надали відповідь на запитання: чи проявляють кардіотоксичний ефект різні за селективністю до ЦОГ ДК та НМ на тлі АА; чи змінюється (і якщо так, то яким чином) кардіотропний ефект НПЗП за комбінованого застосування з АМ; чи зберігає АМ гіпотензивну дію на тлі АА як за умов моно- так і за комбінованого застосування з НПЗП; чи можливе (доцільне) застосування ДК з АМ та НМ з АМ (табл. 2).

У тварин контрольної групи на тлі АА зареєстровано значне підвищення АТ на (15-19) % у всі терміни спостереження (табл. 2). Застосування диклофенаку на тлі АА не призводило до посилення гіпертензивного ефекту АФ, водночас, не усувало гіпертензивну дію, спричинену уведенням патогенного агента. До суттєвого підвищення АТ по відношенню до вихідних значень впродовж всього періоду спостереження призводив НМ, а після 28 доби – до більш значного зростання цього показника не лише по відношенню до вихідних величин, а й до того рівня, що відмічався у тварин контрольної групи, тобто НМ сприяв розвитку гіпертензивної реакції на тлі АА. Специфічну фармакологічну активність як антигіпертензивний засіб проявляв АМ на фоні АА.

Сумісне застосування ДК з АМ не призводило до нормалізації АТ у гострий період патологічного процесу (до 14 доби спостереження), а надалі – сприяло впродовж всього терміну спостереження стабілізації АТ на рівні вихідних значень, і, значить, вірогідно знижувало цей показник по відношенню до значень, що реєструвалися у тварин контрольної групи. Зазначені результати досліджень дозволяють констатувати, що комбіноване застосування ДК та АМ значно зменшувало ступінь гіпертензивної реакції у період генералізації та згасання експериментального РА. Комбіноване застосування НМ з АМ призводило до суттєвого підвищення АТ крові, і впродовж всього терміну спостереження реєструвалася гіпертензивна реакція, але в гострий період розвитку патологічного процесу (14 діб) вона була менш значущою, ніж при застосуванні лише НМ (р≤0,05 по відношенню до значень у тварин, які отримували НМ в якості монотерапії).

Вочевидь, саме АМ сприяв зменшенню ступеня гіпертензії, яка відмічалася за лікування АА лише НМ. Це обґрунтовує доцільність сумісного застосування зазначених препаратів (інгібітору ЦОГ-2 та АМ), особливо у гострий період захворювання, за необхідності використання в якості нестероїдного протизапального засобу саме НМ (або саме інгібіторів ЦОГ-2), якщо неможливо (ризиковано) використання інгібіторів ЦОГ-1 (наприклад, через підвищений ризик виникнення НПЗП-асоційованої гастропатії).

*Таблиця 2*

**Артеріальний тиск крові (M ± m, мм рт. ст.) у щурів за умов моно- та комбінованого застосування НПЗП та антагоністів кальцію на тлі ад’ювантного артриту**

|  |  |
| --- | --- |
| Група | Термін спостереження, доба |
| вихідні дані | 7 | 14 | 28 | 42 | 60 |
| ААnр | 89,1±1,580 | 97,5±1,580≤0,05 | 97,9±1,780≤0,05 | 97,2±1,540≤0,05 | 97,2±2,040≤0,05 | 89,5±3,140≥0,05 |
| АА+ДКnрр1 | 83,6±1,145 | 94,5±2,325≤0,05≥0,05 | 92,8±1,725≤0,05≤0,05 | 92,2±2,425≤0,05≥0,05 | 96,9±1,925≤0,05≥0,05 | 89,9±2,625≤0,05≥0,05 |
| АА+НМnрр1 | 84,1±3,445 | 99,1±2,613≤0,05≥0,05 | 97,3±1,613≤0,05≥0,05 | 93,0±2,513≤0,05≥0,05 | 99,3±2,413≤0,05≥0,05 | 96,3***±***3,013≤0,05≤0,05 |
| АА+АМnрр1 | 84,3±2,945 | 90,3±2,813≥0,05≤0,05 | 89,4±1,513≥0,05≤0,05 | 91,5±2,113≥0,05≤0,05 | 90,1±3,013≥0,05≤0,05 | 85,0±3,713≥0,05≥0,05 |
| АА+ДК+АМnрр1р2р3 | 83,1±2,745 | 93,5±2,317≤0,05≥0,05≥0,05≥0,05 | 91,5±2,017≤0,05≤0,05≥0,05≥0,05 | 85,3±1,914≥0,05≤0,05≤0,05≤0,05 | 86,5±3,414≥0,05≤0,05≤0,05≥0,05 | 85,8±3,214≥0,05≥0,05≥0,05≥0,05 |
| АА+НМ+АМn рр1р2р3 | 82,4±1,545 | 90,6±2,818≤0,05≥0,05≤0,05≥0,05 | 89,4±2,618≤0,05≤0,05≤0,05≥0,05 | 90,0±2,518≤0,05≥0,05≥0,05≥0,05 | 93,2±1,918≤0,05≥0,05≥0,05≥0,05 | 91,7±2,918≤0,05≥0,05≥0,05≥0,05 |

Примітки:

1. р – ступінь достовірності змін відносно вихідних значень у тварин даної групи;
2. р1 – ступінь достовірності змін відносно значень у тварин контрольної (АФ) групи;
3. р2 – ступінь достовірності змін відносно значень у тварин, які отримували відповідний НПЗП (ДК або НМ) на тлі РА;
4. р3 – ступінь достовірності змін відносно значень у тварин, які отримували АМ на тлі РА.

За реєстрації АТ у кожної окремої тварини впродовж терміну спостереження визначено, що на тлі АА не у всіх тварин спостерігалося підвищення цього показника. Зростання АТ на 10 % і більше вже через 14 діб після уведення АФ відзначалося у 85 %тварин (табл. 3).

Зазначені результати узгоджуються з даними клінічної літератури (S. Trelle, 2011; Новикова Д.С. и др., 2014) про те, що не у всіх хворих на РА розвивається АГ. Фактично, впродовж гострого періоду та періоду генералізації патологічного процесу у значно більшої кількості тварин відбувалося підвищення АТ, а у період згасання патологічного процесу кількість тварин з гіпертензивною реакцією суттєво знижувалася. НМ у періоди генералізації та згасання АА призводив до значного збільшення, а ДК та, в більшій мірі, АМ (що є передбачуваним та фармакологічно зумовленим) – до зменшення у всі періоди розвитку патологічного процесу кількості тварин, у яких реєструвалася гіпертензивна реакція у відповідь на уведення повного АФ. Сумісне застосування АМ з ДК значно зменшувало кількість тварин з гіпертензією, не лише відносно значень, що відмічалися за введення АФ, а й до величин, що були характерними для групи тварин, яким вводили лише ДК (р<0,05). Кількість тварин, у яких знижувався АТ крові за умов застосування НМ з АМ зростала відносно до тварин, яким застосовували лише НМ на тлі уведення АФ (p<0,05), і особливо значущою ця позитивна зміна була впродовж 28 діб спостереження.

*Таблиця 3*

**Кількість тварин (%) з підвищеним артеріальним тиском крові на тлі ад’ювантного артриту за умов застосування ДК, НМ та АМ**

|  |  |
| --- | --- |
| Група тварин | Термін спостереження, доба |
| 14 | 28 | 42 | 60 |
| АА | 85 | 81 | 67 | 32 |
| АА+ДК | 50 | 63 | 60 | 30 |
| АА+НМ | 84 | 69 | 85 | 75 |
| АА+АМ | 61 | 53 | 46 | 23 |
| АА+ДК+АМ | 46 | 18 | 50 | 25 |
| АА+НМ+АМ | 42 | 44 | 81 | 65 |

Комбіноване застосування ДК з АМ є більш доцільним та безпечним щодо упередження розвитку гіпертензії, ніж НМ з АМ. За умов застосування саме НМ у поєднанні з антигіпертензивним засобом групи антагоністів кальцію слід пам’ятати, що ризик розвитку гіпертензії за ступенем виразності та за кількістю тварин, у яких вона виникатиме, значно підвищується через 28 діб патологічного процесу.

На тлі АА у щурів статистично значимі зміни (зниження) ЧСС відзначалися через (42-60) діб після застосування АФ. На тлі АА на ритм та ЧСС не впливали ні АМ, ні НПЗП, які застосовувалися за умов монотерапії, впродовж першої половини терміну спостереження, тоді як надалі досліджувані лікарські засоби, в найбільшій мірі – НМ, призводили до достовірного зниження ЧСС. Комбіноване застосування НМ з АМ або ДК з АМ на фоні розвитку ад’ювантної хвороби призводило до посилення впливу АФ на ЧСС. НПЗП та антагоністи кальцію (АМ) не спричинювали аритмогенного ефекту на тлі експериментального РА.

Результати даного розділу роботи дозволили констатувати, що неселективний інгібітор ЦОГ ДК, на відміну від селективного блокатора ЦОГ-2, не посилює гіпертензивну дію АФ; АМ проявляє (зберігає) специфічну фармакологічну активність як антигіпертензивний препарат за умов АА; досліджувані НПЗП не нівелюють антигіпертензивний ефект АМ.

Експериментально обґрунтована можливість комбінованого застосу­вання НМ та АМ за необхідності використання в якості нестероїдного протизапального засобу власне селективного інгібітора ЦОГ-2. Комбіноване використання саме цих препаратів виправдане за неможливості застосування неселективних НПЗП, наприклад, через ризик розвитку НПЗП-асоційованих гастропатій або через наявність захворювань ШКТ.

*Знеболювальна активність НПЗП за комбінованого застосування з АМ на тлі АА.* Вплив патогенного агента характеризувався зниженням порогу больової чутливості у щурів, починаючи з перших діб після ураження; цей показник на 14 добу спостереження був нижчим на 49,2 %, ніж у інтактних тварин (табл. 4). Суттєве зниження порогу больової чутливості спостерігалося впродовж всього терміну і відновлення цього показника не відбулося навіть після згасання патологічного процесу: на 60 добу від початку дослідження він залишався зниженим на 18,2 % по відношенню до такого, що реєструвався у інтактних тварин.

Застосування ДК призводило до підвищення порогу больової чутливості у тварин з АА на (30-126,9) % у різні терміни спостереження (р<0,05). Саме на піку запального процесу, коли відбувалося зниження порогу больової чутливості на 49,2 % у тварин контрольної групи, ДК проявляв найвищу аналгетичну активність, змінюючи цей показник на 126,9 % (р<0,05). Зростання порогу больової чутливості відбувалося й за умов дії НМ на (7,2-93,9) % у різні періоди патологічного процесу у порівнянні до даного показника у тварин з АА. Найсуттєвіший аналгезуючий вплив НМ реєструвався також на піку запального процесу – 14 доба після уведення АФ. Аналгетичний ефект НМ був більш значущим, ніж ДК, на 28 добу спостереження (р≤0,05).

Не описані в літературі властивості АМ щодо його знеболювальної активності засвідчили результати проведених досліджень: підвищення порогу больової чутливості на (62,6-20,1) % у щурів з експериментальним РА у період маніфестації запального процесу – (14-28) доба спостереження відповідно. Знеболювальна активність АМ проявлялася й у період згасання патологічного процесу, і вона була на рівні знеболювальної дії ДК та НМ.

*Таблиця 4*

**Динаміка порогу больової чутливості (M±m, с)
та ступінь його зміни (%) у щурів на тлі ад’ювантного артриту
за умов лікування ДК, НМ та АМ**

|  |  |
| --- | --- |
| Група, кількість тварин (n), % | Термін спостереження, доба |
| вихідні дані | 7 | 14 | 28 | 42 | 60 |
| Інтактні, n% (до вих. даних) | 6,73±0,58105 | 7,32±0,67458,8 | 7,74±0,524515,0 | 7,32±0,61458,8 | 7,88±0,724517,1 | 8,43±0,684525,3 |
| АА,n% (до інтактних) | 6,73±0,65105 | 6,42±0,4921-12,3 | 3,93±0,47\*21-49,2 | 5,47±0,47\*21-25,3 | 5,68±0,58\*21-15,2 | 5,90±0,62\*21-18,2 |
| АА+ДК,n% (до контролю) | 6,71±0,3040 | 8,83±0,53 **#**37+37,5 | 8,92±0,90 **#**30+126,9 | 7,71±0,62 **#**27+40,9 | 8,7±0,67 **#**27+29,7 | 9,63±0,62 **#**27+39,6 |
| АА+НМ,n% (до контролю) | 6,74±0,4838 | 6,8±0,9030+7,2 | 7,62±0,90 **#**30+93,9 | 10,1±0,60 **#**30+84,7 | 9,2±0,41**#**30+36,5 | 10,5±0,60 **#**30+52,2 |
| АА+АМ,n% (до контролю) | 6,71±0,3038 | 5,67±0,6030-11,7 | 6,39±0,56 **#**28+62,6 | 6,57±0,6528+20,1 | 7,86±0,4028+17,7 | 9,42±0,60 **#**28+36,5 |
| АА+ДК+АМ,n% (до контролю) | 6,61±0,3055 | 11,2±0,68 **#**∆□53+74,5 | 11,9±1,2 **#**∆□41+202,8 | 10,3±0,58 **#**∆□22+88,3 | 11,6±1,65 **#**□14+73,7 | 10,3±0,40 **#**9+49,3 |
| АА+НМ+АМ,n % (до контролю) | 6,64±0,5850 | 8,6±0,44 **#**□50+33,9 | 12,3±1,2 **#**∆□48+212,9 | 10,7±1,3 **#**□46+95,6 | 14,2±1,21 **#**∆□46+112,6 | 12,1±1,70 **#**46+75,4 |

Примітки (тут і в наступній таблиці):

1.\* – р≤0,05 по відношенню до даних у інтактних тварин.

2. **#** – р≤0,05 по відношенню до даних у тварин контрольної групи.

3.∆ – р≤0,05 по відношенню до даних у тварин за умов монотерапії ДК чи НМ.

4.□ – р≤0,05 по відношенню до даних у тварин за умов монотерапії АМ.

Саме цей аспект може бути, очевидно, врахованим за умов призначення лікарських засобів досліджуваних фармакотерапевтичних груп. Вірогідно, у період ремісії пацієнтам з РА зі слабким або помірним больовим синдромом, яким показане (або є необхідним) застосування антагоністів кальцію дигідропіридинового ряду, зокрема АМ, недоцільно застосовувати НПЗП з метою знеболення. Вочевидь, аналгетична активність АМ може бути достатньою для усунення або, принаймні, зменшення ступеня слабкого чи помірного болю за умов РА. Використання цієї особливості фармакологічної дії АМ дозволить скоротити термін застосування НПЗП, знизити ризик їхньої побічної дії.

Комбіноване застосування препаратів ДК з АМ призводило до суттєвого зростання порогу больової чутливості у щурів, починаючи з перших діб спостереження. Найбільш значущими ці зміни на (202,8-88,3) % були у період генералізації патологічного процесу. Суттєве зростання порогу больової чутливості за сумісного застосування ДК з АМ реєструвалося не лише по відносно даного показника у тварин контрольної групи, а й відносно такого у тварин, які отримували у якості засобів монотерапії ДК та АМ. До суттєвого зростання порогу больової чутливості призводило комбіноване застосування НМ з АМ. Знеболювальний ефект від комбінованого застосування НПЗП та антагоніста кальцію був більш значущим (р<0,05) за умов терапії НМ з АМ, ніж ДК з АМ. Комбіноване застосування ДК з АМ та НМ з АМ призводить до посилення знеболювальної дії НПЗП, вочевидь, за рахунок аналгетичної активності самого АМ.

*Протинабрякова активність НПЗП за комбінованого застосування з АМ на тлі АА.* За умов патологічного процесу реєструвалося суттєве зростання об’єму ушкодженої стопи у щурів: на 7 добу показник збільшився на 102 % по відношенню до значення, притаманного інтактним тваринам (р<0,05), і залишався суттєво більшим навіть у період згасання патологічного процесу (на 56 %). Приріст об’єму стопи (∆) зріс через 7 діб після ураження на 98,2 % і залишався підвищеним на 75,5 % у кінцевий термін спостереження (60 доба; табл. 5). Найсуттєвішу протинабрякову дію ДК проявляв впродовж 28 діб спостереження, зменшуючи об’єм стопи на (14,7-19,2) % по відношенню до даного показника, що реєструвався у тварин контрольної групи (р<0,05). ПНА ДК знижувалася з (38-49) % у гострий період АА до 13 % у період згасання патологічного процесу. Зміни об’єму стопи за умов монотерапії НМ суттєво відрізнялися від таких, що відмічалися за дії ДК у гострий період та у період маніфестації захворювання. ПНА НМ була стабільно нижчою за активність ДК впродовж 28 діб спостереження і становила 19 %. У період згасання патологічного процесу ПНА НМ перевищувала таку, визначену для ДК, досягаючи значень 28 %. Дана особливість протизапальної дії НМ не описана в доступній літературі і може бути використана для оптимізації схеми лікування пацієнтів з РА за умов підтвердження цих даних у клініці.

 *Таблиця 5*

**Об’єм (M±m, у.о.), приріст (∆) об’єму стопи у щурів
та протинабрякова активність (%) за умов моно- та комбінованої терапії ДК, НМ і АМ на тлі ад’ювантного артриту**

|  |  |
| --- | --- |
| Група, кількість тварин (n) | Термін спостереження, доба |
| 7 | 14 | 28 | 42 | 60 |
| Інтактні, n,M±m | 81,06±0,09 | 81,16±0,10 | 81,17±0,11 | 81,37±0,12 | 81,28±0,13 |
| АА, nM±m% (відносно інт.) | 302,14±0,12\*+102 | 302,25±0,15\*+94 | 302,15±0,15\*+84 | 302,12±0,16\*+55 | 302,0 ±0,15\*+56 |
| АА+ДК, n% до ААПНА, % | 33″-19,238 **#** | 23″-14,749 **#** | 23″-18,641 **#** | 16″-8,524 **#** | 10″-4,513 **#** |
| АА+НМ, n% до ААПНА, % | 30-9,319 | 30-8,819 | 30-11,626 | 30-9,928 | 30-6,017 |
| АА+АМ, n% до ААПНА, % | 27-7,916 | 27-13,355 **#** | 27-11,626 | 27-13,238 | 27-15,543 ∆ |
| АА+ДК+АМ, n % до АА% до ДК% до АМПНА, % | 14-29,9+13+2345 **#** | 7-17,8+3,6+5,137 **#** | 5-20,5+2,3+10,045 **#** | 5-17,5+9,8+4,950 ∆□ | 5-16,5+12,6+1,046 ∆ |
| АА+НМ+АМ, n% до АА% до НМ% до АМПНА, % | 14-14,5+5,7+7,129 | 7-8,0+0,97+6,023 | 7-12,1+0,5+0,527 | 7-17,0+7,9+4,348 ∆□ | 7-16,0+10,6+0,645 ∆ |

Примітка. ″ – зменшення кількості тварин у групі зумовлене загибеллю тварин за дії ДК.

 Надзвичайно важливим є вперше встановлений факт досить високої ПНА, що властива АМ, яка впродовж 28 діб після введення АФ, фактично, не відрізнялася від такої, притаманної НМ. З розвитком АА зростала ПНА АМ: у різні періоди спостереження вона становила (16-55) %, причому у період згасання патологічного процесу вона перевищувала таку, що притаманна і ДК, і НМ. Доречно зазначити, що ПНА АМ у період згасання АА супроводжувалася зростанням його знеболювальної активності.

Комбіноване застосування ДК з АМ призводило до суттєвого зменшення об’єму стопи на (29,9-20,5) % у різні терміни спостереження. У гострий період ад’ювантної хвороби (до 14 доби) АМ посилював ПНА ДК (на 18 %, р<0,05). У період згасання патологічного процесу застосування ДК разом з АМ також було доцільнішим, що аргументоване більш значним зменшенням об’єму стопи: на (16,5-17,5) % по відношенню до нелікованих тварин, а також посиленням ПНА власне ДК у (2-2,5) рази (р<0,05).

Виразне зростання протинабрякової ефективності за комбінованого застосування НМ з АМ по відношенню до групи контрольних тварин спостерігалося у період згасання патологічного процесу, коли АМ збільшував ПНА НМ в (1,7-2,6) рази (р<0,05).

Результати проведених досліджень з вивчення протинабрякової дії ДК, НМ та АМ на тлі експериментального РА за умов їх моно- та комбінованого застосування дозволяють стверджувати, що: найсуттєвішу протизапальну (протинабрякову) дію ДК проявляв впродовж 28 діб спостереження; ПНА ДК значно знижувалася у період згасання патологічного процесу; у період генералізації експериментального РА більш виражена ПНА властива ДК, ніж НМ, а у період згасання патологічного процесу ПНА НМ зростає; АМ притаманна протинабрякова активність на тлі АА; АМ за умов комбінованого застосування посилював протинабрякову дію ДК впродовж всього терміну спостереження, а НМ – лише у період згасання патологічного процесу; протинабряковий ефект за лікування експериментального РА шляхом комбінованого застосування ДК з АМ зростав у більшій мірі, ніж за умов застосування НМ з АМ.

**ВИСНОВКИ**

Експериментально обґрунтовано підхід до оптимізації фармакологічної корекції ревматоїдного артриту шляхом комбінованого тривалого застосування НПЗП, різних за селективністю до циклооксигенази, та блокаторів кальцієвих каналів дигідропіридинового ряду. Доведено збереження специфічної фармакологічної активності Амлодипіну як гіпотензивного засобу за комбінованого застосування з Диклофенаком та Німесулідом. Виявлені невідомі фармакологічні властивості Амлодипіну, що проявляються за ревматоїдного артриту.

1. Щоденне тривале (впродовж 60 діб) застосування Диклофенаку у дозах (2-6) мг/кг на тлі ад’ювантного артриту не викликає загибелі тварин, натомість у дозі 8 мг/кг маси тіла тварини препарат призводить до загибелі 31 % тварин. Амлодипін за комбінованого застосування з Диклофенаком значно підвищує смертність тварин (до 82 %). Комбіноване застосування Німесуліду з Амлодипіном на тлі ад’ювантного артриту за показником виживання є більш безпечним, ніж Диклофенаку з Амлодипіном. Німесулід, на відміну від Диклофенаку, сприяє значущому приросту маси тіла щурів (на 52,1 % відносно вихідних даних). Амлодипін суттєво зменшує вплив Німесуліду на приріст маси тіла (на 41 %).

2. Ад’ювантний артрит у щурів, індукований повним ад’ювантом Фрейнда, супроводжується розвитком гіпертензії у 85 % тварин, що характеризується підвищенням артеріального тиску крові на (15-19) % (р<0,05) впродовж періодів розвитку патологічного процесу. Німесулід, на відміну від Диклофенаку, значно посилює гіпертензивний ефект повного ад’юванта Фрейнда на (10-18) % (р<0,05) у період згасання патологічного процесу. Амлодипін проявляє та зберігає гіпотензивну активність за комбінованого застосування з НПЗП і зменшує частоту розвитку гіпертензії на (24-28) % (р<0,05) у гострий період та період маніфестації ад’ювантного артриту. Ризик розвитку артеріальної гіпертензії у період згасання патологічного процесу за умов застосування Німесуліду з Амлодипіном значно зростає відносно комбінованого застосування Диклофенаку з Амлдипіном.

3. Диклофенак та Німесулід на тлі ад’ювантного артриту і власне повний ад’ювант Фрейнда не призводять до суттєвих та закономірних змін ритму і частоти серцевих скорочень; за комбінованого тривалого (впродовж 60 діб) застосування НПЗП з Амлодипіном реєструється тахікардія у гострий період та період генералізації патологічного процесу.

4. Найвищу аналгетичну активність Диклофенак та Німесулід проявляють на піку запального процесу, збільшуючи ПБЧ на 126,9 % та 94 % (р<0,05) відповідно, однак у період маніфестації та згасання ад’ювантної хвороби знеболювальна активність Німесуліду вища за таку, що притаманна Диклофенаку. Вперше виявлена аналгетична активність Амлодипіну, особливо значуща на піку запальної реакції та у період її згасання, що характеризується зростанням ПБЧ на (17,7-62,6) % (р<0,05). Комбіноване застосування НПЗП з Амлодипіном призводить до суттєвого посилення знеболювальної дії протизапальних препаратів. Протибольова активність комбінованої дії Німесуліду з Амлодипіном суттєво вища (на
8-52 % у різні періоди патологічного процесу) за таку, що реєструється за впливу Диклофенаку з Амлодипіном.

5. Протинабрякова активність Диклофенаку у гострий період та період маніфестації ад’ювантної хвороби вища за протинабрякову дію Німесуліду у 2-2,6 рази (р<0,05); у період згасання патологічного процесу протинабрякова активність Німесуліду перевищує на (17-30) % таку, що властива Диклофенаку. Вперше виявлена протинабрякова активність Амлодипіну, що за ступенем аналогічна Німесуліду у гострий період та період маніфестації ад’ювантної хвороби, у період згасання патологічного процесу протинабрякова дія Амлодипіна на (10-26) % (р<0,05) перевищує таку, що властива і Диклофенаку, і Німесуліду. За комбінованого застосування Амлодипін посилює протинабрякову дію Диклофенаку впродовж всього терміну спостереження на (26-33) %, а Німесуліду – лише у період згасання патологічного процесу на (20-28) % (р<0,05). Протинабряковий ефект за застосування Диклофенаку з Амлодипіном на тлі ад’ювантного артриту вищий, ніж за застосування Німесуліду з Амлодипіном.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ
ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Павлюк Г. В. Динаміка інтегральних показників життєдіяльності білих щурів з експериментальним ревматоїдним артритом за умов моно- та комплексного застосування нестероїдних протизапальних лікарських засобів і антагоніста кальцію / М. А. Мохорт, Н. М. Серединська, Л. М. Киричок, Т. П. Притула, С. О. Мисливець, Г. В. Павлюк, І. В. Геращенко // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2012. – № 4 (29). – С. 32–39. *(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, аналіз даних, в т.ч. – статистичний, щодо показників виживання тварин, зміни коефіцієнтів маси органів та маси тіла, підготовка матеріалів до друку).*
2. Павлюк Г. В. Порівняльна характеристика кардіотропної дії диклофенаку та німесуліду за умов ад’ювантного артриту у щурів / М. А. Мохорт, Н. М. Серединська, З. П. Омельяненко, В. С. Хоменко, Т. А. Бершова, Г. В. Павлюк // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2012. – № 5 (30). – С. 44–49. *(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень та аналіз кардіотропного впливу НПЗП за показниками артеріального тиску крові та ритму і частоти скорочень серця, підготовка матеріалів до друку).*
3. Павлюк Г. В. Порівняльна оцінка протизапальної активності німесуліду, диклофенаку та амлодипіну за ад’ювантного артриту / Н. М. Серединська, Л. М. Киричок, М. А. Мохорт, Г. В. Павлюк // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2013. – № 2 (33). – С. 65–69. *(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень з визначення протинабрякової дії препаратів, підготовка матеріалів до друку).*
4. Павлюк Г. В. Анальгетическая активность Амлодипина при адъювантном артрите / Н. Н. Серединская, А. В. Павлюк, Л. М. Киричок // Cur. Med. – 2013. – Vol. 56, N 4. – P. 28–31. *(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень та аналіз даних щодо знеболювальної дії Амлодипіну за показником порогу больової чутливості, підготовка матеріалів до друку).*
5. Павлюк Г. В. Кардіотропна дія інгібіторів ЦОГ-1 та ЦОГ-2 за умов їх комплексного застосування з антагоністом кальцію дигідропіридинового ряду на моделі ревматоїдного артриту / Н. М. Серединська, Г. В. Павлюк // Ж-л НАМН України. – 2013. – Т. 19, № 3. – С. 297–306. *(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка матеріалів до друку).*
6. Павлюк Г. В. Анальгезуюча та протизапальна дія диклофенаку за умов комбінованого застосування з амлодипіном на тлі експериментального артриту / Г. В. Павлюк // Сб. статей VIII Междунар. конф. «Развитие науки в XXI веке». – г. Харьков, 28 ноября 2015.– С. 118–123.
7. Павлюк Г. В. Аналгезуюча дія німесуліду за умов комбінованого застосування з амлодипіном на тлі експериментального ревматоїдного артриту / Г. В. Павлюк, Н. М. Серединська // Зб. наук. праць «Велес»: мат. міжнар. конф. «Наука в епоху дисбалансів». – 3 частина. – К.: Центр наук. публікацій, 25 січня 2016. – С. 120–125. *(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, підготовка матеріалів до друку).*
8. Павлюк-Гаврилова Г. В. Порівняльна оцінка антиексудативної дії німесуліду та амлодипіну за умов їх комбінованого застосування на тлі ад’ювантного артриту / Г. В. Павлюк-Гаврилова // Сб. статей XII Междунар. конф. «Развитие науки в XXI веке». – 5 часть. – г. Харьков, 16 апреля 2016. – С. 51–55.
9. Інформаційний лист «Кардіотропна дія нестероїдних протизапальних лікарських засобів за умов комплексного застосування з антагоністом кальцію дигідропіридинового ряду» / Мохорт М. А., Серединська Н. М., Киричок Л. М., Павлюк Г. В. // МОЗ України, Укр. центр наукової мед. інформації та патентно-ліцензійної роботи. – 2013. – № 312. – 2013.– 6 с.
10. Інформаційний лист «Аналгетична активність блокатора кальцієвих каналів дигідропіридинового ряду за комбінованого застосування з нестероїдними протизапальними засобами на тлі експериментального ревматоїдного артриту» / Серединська Н. М., Ядловський О. Є., Павлюк Г. В., Бершова Т. А., Киричок Л. М. // МОЗ України, Укр. центр наукової мед. інформації та патентно-ліцензійної роботи. – 2015. – № 194. – 2015. – 5 с.
11. Павлюк Г. В. Знеболювальна дія Диклофенаку натрію за умов комбінованого застосування з Амлодипіном за експериментального ревматоїдного артриту / Г. В. Павлюк // Зб. тез Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015».– м. Запоріжжя,14-15 травня 2015. – С. 33.

**АНОТАЦІЯ**

**Павлюк-Гаврилова Г.В.** **Особливості фармакодинаміки диклофенаку та німесуліду за умов комбінованого застосування з амлодипіном на моделі ревматоїдного артриту.** –Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». – Київ, 2016.

Дисертація присвячена дослідженню кардіотоксичного впливу, особливостей фармакодинаміки НПЗП, різних за селективністю до циклооксигенази, за умов тривалого застосування на тлі ревматоїдного артриту. Встановлено, щоДиклофенак та Німесулід призводять до розвитку гіпертензії за умов тривалого щоденного застосування, причому Німесулід, на відміну від Диклофенаку, посилює гіпертензивний ефект повного ад’юванта Фрейнда. Показана ефективність антагоніста кальцію дигідропіридинового ряду Амлодипіну як гіпотензивного засобу за комбінованого застосування з Диклофенаком та Німесулідом у щурів з ад’ювантним артритом.

Встановлено, що знеболювальна активність Німесуліду перевищує аналгезуючу дію Диклофенаку за ад’ювантної хвороби. Найвища аналгетична активність досліджених НПЗП проявляється на піку запального процесу.

Виявлена виразна аналгетична активність Амлодипіну, особливо значуща на піку запальної реакції та у період її згасання, на тлі ад’ювантної хвороби у щурів. Доведено, що Амлодипін посилює аналгетичну активність НПЗП.

Виявлена протинабрякова активність Амлодипіну на моделі ревматоїдного артриту, причому антиексудативна дія Амлодипіну та Німесуліду у гострий період та період маніфестації ад’ювантної хвороби аналогічні за ступенем, у період згасання патологічного процесу протинабрякова дія Амлодипіну перевищує таку, що властива і Диклофенаку, і Німесуліду. За умов комбінованого застосування Амлодипін посилює протинабрякову дію Диклофенаку впродовж всього терміну спостереження, а Німесуліду – лише у період згасання патологічного процесу.

Протибольова активність комбінованої дії Німесуліду з Амлодипіном суттєво вища за таку, що реєструється за впливу Диклофенаку з Амлодипіном.

Протинабряковий ефект за умов комбінованого застосування Диклофенаку з Амлодипіном на тлі ад’ювантного артриту вищий, ніж за комбінованого застосування Німесуліду з Амлодипіном.

**Ключові слова:** диклофенак, німесулід, амлодипін, комбіноване застосування, ревматоїдний артрит.

**АННОТАЦИЯ**

**Павлюк-Гаврилова А.В. Особенности фармакодинамики диклофенака и нимесулида при комбинированном применении с амлодипином на модели ревматоидного артрита.** –Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины».
– Киев, 2016.

Диссертация посвящена исследованию кардиотоксического действия, особенностей фармакодинамики НПВП, разных по селективности к циклооксигеназе, при длительном применении на фоне ревматоидного артрита.

Ежедневное длительное (на протяжении 60 суток) применение Диклофенака в дозах (2-6) мг/кг на фоне адъювантного артрита не вызывает гибели животных, тогда как в дозе 8 мг/кг массы тела животного препарат приводит к гибели 31 % крыс. Амлодипин при комбинированном применении с Диклофенаком значительно повышает смертность животных (до 82 %). Комбинированное применение Нимесулида с Амлодипином на фоне адъювантного артрита по показателю выживания более безопасно, чем Диклофенака с Амлодипином.

Установлено, чтоДиклофенак и Нимесулид вызывают гипертензию при длительном ежедневном применении, при этом Нимесулид, в отличие от Диклофенака, усиливает гипертензивный эффект полного адъюванта Фрейнда.

Показана эффективность антагониста кальция дигидропиридинового ряда Амлодипина как гипотензивного препарата при комбинированном применении с Диклофенаком и Нимесулидом у крыс с адъювантным артритом.

Амлодипин как при монотерапии, так и при комбинированном применении с Диклофенаком или с Нимесулидом существенно уменьшает частоту развития гипертензии в острый период и период манифестации экспериментального ревматоидного артрита. Диклофенак, Нимесулид и Амлодипин при монотерапии не влияют на ритм и частоту сердечных сокращений на фоне адъювантного артрита. Комбинированное применение НПВП с Амлодипином на фоне развития адъювантной болезни приводит к тахикардии.

Обезболивающая активность Нимесулида превышает аналгезирующий эффект Диклофенака при адъювантной болезни. Наиболее выраженная аналгетическая активность НПВП проявляется на пике воспалительного процесса.

Выявлен аналгетический эффект Амлодипина, особенно значимый на пике воспалительной реакции и в период ее угасания. Амлодипин усиливает аналгетическую активность НПВП.

Обезболивающее действие Амлодипина предопределяет возможность его применения на фоне слабой или умеренной болевой реакции в период угасания ревматоидного процесса или в период ремиссии и свидетельствует о нецелесообразности применения НПВП с целью аналгезии. Это позволит предотвратить развитие побочных эффектов, в частности, Диклофенака и Нимесулида при их длительном применении и избежать полипрагмазии.

Аналгезирующая активность при комбинированном действии Нимесулида с Амлодипином существенно выше, чем при действии Диклофенака с Амлодипином на фоне адъювантного артрита.

Установлено, что противоотечная активность Диклофенака в острый период и в период манифестации адъювантной болезни выше, чем противоотечный эффект Нимесулида; в период угасания патологического процесса противоотечное действие Нимесулида превышает активность Диклофенака.

Выявлено противоотечное действие у Амлодипина на модели ревматоидного артрита, причем антиэкссудативная эффективность Амлодипина и Нимесулида в острый период и период манифестации адъювантной болезни аналогичны, а в период угасания патологического процесса противоотечное действие Амлодипина превышает действие и Диклофенака, и Нимесулида.

При комбинированном применении Амлодипин усиливает противоотечное действие Диклофенака в течение срока наблюдения, а Нимесулида – лишь в период угасания патологического процесса.

Противоотечный эффект при комбинированном применении Диклофенака с Амлодипином на фоне адъювантного артрита выше, чем при применении Нимесулида с Амлодипином.

**Ключевые слова:** диклофенак, нимесулид, амлодипин, комбинированное применение, ревматоидный артрит.

**ABSTRACT**

**Hanna Pavliuk-Havrylova, Features of pharmacodynamics of Diclofenac and Nimesulide provided by the concomitant administration with Amlodipine on model of rheumatoid arthritis.** – Manuscript.

Dissertation for candidate's degree by specialty 14.03.05 – Pharmacology. – State Institution «Institute of Pharmacology and Toxicology AMS of Ukraine». – Kyiv, 2016.

This dissertation focuses on the research of cardiotoxic effects, pharmacodynamics features of NSAIDs with different selectivity of cyclooxygenase, under conditions of administration against the background of rheumatoid arthritis. It is determined that Diclofenac and Nimesulide lead to the development of hypertension in conditions of prolonged daily use, and Nimesulide, unlike diclofenac increases the hypertensive effect of complete Freund's adjuvant. The efficiency of Amlodipine (dihydropyridine calcium antagonist) as antihypertensive medicine for the combined use of Diclofenac and Nimesulide in rats with adjuvant arthritis is shown.

It is established that the analgesic activity of Nimesulide exceeds the analgesic effect of Diclofenac in adjuvant disease. The highest analgesic activity of investigated NSAIDs appears at the peak of inflammation.

Analgesic expressive activity of Amlodipine is revealed, especially at the peak of significant inflammatory reaction and during its extinction, against adjuvant disease in rats. It is proved that Amlodipine enhances the analgesic activity of NSAIDs.

Amlodipine antiedematous activity is revealed in models of rheumatoid arthritis. An antiexudative effect of Amlodipine and Nimesulide in acute period and period of demonstrations in adjuvant disease is similar in their level. In the waning effect of the pathological process antiedematous effect of Amlodipine exceeds the one inherent to Diclofenac, and to Nimesulide. Upon condition of concomitant administration of Amlodipine enhances the antiedematous effect of Diclofenac throughout the observation period and Nimesulide – only in the waning pathological process.

Analgesic activity of the combined action of Nimesulide and Amlodipine is substantially higher than the one that is registered under the influence of Diclofenac with Amlodipine.

Antiedematous effect is higher upon condition of the concomitant administration of Diclofenac with Amlodipine on the background of experimental rheumatoid arthritis than the combined use of Nimesulide with Amlodipine.

**Key words:** diclofenac, nimesulide, amlodipine, concomitant administration, rheumatoid arthritis.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,**

**СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

АА – ад’ювантний артрит;

АМ – Амлодипін (Amlodipinum);

АПФ – ангіотензинперетворюючий фермент;

АФ – повний Ад’ювант Фрейнда;

АТ – артеріальний тиск крові, мм рт. ст.;

БКК – блокатори кальцієвих каналів;

ДК – Диклофенак (Diclofenac);

НМ – Німесулід (Nimesulid);

НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати;

ПБЧ – поріг больової чутливості;

ПНА – протинабрякова активність;

РА – ревматоїдний артрит;

ЦОГ- 1 – циклооксигеназа-1;

ЦОГ-2 – циклооксигеназа-2;

ЧСС – частота серцевих скорочень, удар/хв;

ШКТ – шлунково-кишковий тракт.