

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ МАРУНИ ДІВОЧОЇ (*TANACETUM PARTHENIUM L.*) НА СТАН СУГЛОБІВ ЩУРІВ З МОДЕЛЬОВАНИМ АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ

Вступ. Удосконалення фармакотерапії ревматоїдного артриту залишається актуальним завданням сучасної фармакології. Одним з напрямків його вирішення є пошук і розробка засобів із протизапальними та хондропротекторними властивостями на основі рослинної сировини.

Мета дослідження – оцінити ефективність густого екстракту з трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium L.*) за умов хронічного запалення (ад'ювантного артриту) в щурів за даними гістологічного дослідження.

Методи дослідження. Проводили гістологічні дослідження стану суглобів щурів з модельованим ад'ювантом Фрейнда (0,1 мл одноразово підшкірно в основу хвоста) артритом. Відсепаровані від шкіри та м'язів суглоби фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, після промивання у проточній воді декальцинували в 5 % розчині азотної кислоти протягом 14–16 днів. Після проведення по спиртах висхідної концентрації тканини заливали в целоїдин-парафін за стандартною методикою. З блоків виготовляли фронтальні зрізи завтовшки 6–8 мк, щонайменше по 3 зрізи з кожного суглоба. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Усі етапи виготовлення мікропрепаратів було проведено згідно з рекомендаціями OARSI (Osteoarthritis Research Society International). Мікроскопічні дослідження виконували під мікроскопом "Granum Trino R 6003" (DSM-310). Статистичну обробку отриманих цифрових даних проводили із застосуванням непараметричних критеріїв (Statistics 6, Mann-Whitney U Test, Fisher test).

Результати й обговорення. Введення ад'юванта Фрейнда щурам призводило до розвитку в них морфологічних ознак артриту гомілковостопних суглобів: проліферативного синовіту; формування пануса; деструктивно-дистрофічних змін хрящової тканини; запальної інфільтрації в періартикулярних тканинах. Нестероїдний протизапальний засіб "Диклофенак натрію" проявляв виражений нормалізувальний вплив на морфологічні зміни в суглобах щурів при ад'ювантному артриті. Деструкція хряща була відсутня, гіперплазія тканин, що його покривають, траплялася в 6 разів рідше, ніж у нелікованих тварин. Спостерігали залишкові явища в періартикулярних тканинах. Застосування екстракту маруни дівочої сприяло зниженню кількості щурів із деструкцією суглобового хряща у 2,6 раза порівняно з групою контрольної патології та кількості тварин з вираженим запальним процесом у синовіальній оболонці й періартикулярних тканинах у 3 рази.

Висновки. Встановлено здатність екстракту маруни дівочої знижувати виразність деструкції суглобового хряща, запального процесу в синовіальній оболонці та періартикулярних тканинах щурів з моделлю ад'ювантного артриту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ад'ювантний артрит у щурів; маруни дівочої (*Tanacetum parthenium L.*) екстракт густий; диклофенак натрію; стан суглоба.

ВСТУП. Ревматоїдний артрит (РА) є глобальною хворобою, поширеною в усьому світі незалежно від раси, статі, етнічної приналежності, національності, віку [1]. Поширеність РА становить 460 випадків на 100 тис. населення [2]. Актуальність проблеми РА зумовлена і соціальним аспектом, а саме високою частотою поширеності цієї хвороби в популяції з типовим розвитком у хворих тимчасової та стійкої непрацездатності [3–5]. Ревматоїдний артрит характеризується запаленням та набряком синовіальної

© І. В. Кириченко, О. Я. Міщенко, 2022.

оболонки суглоба з подальшим руйнуванням суглобових структур [6]. Пацієнти з активним РА також мають системне запалення, яке пов'язане з різними супутніми захворюваннями, перш за все серцево-судинними, які сприяють підвищенню захворюваності та смертності в цій групі порівняно із загальною популяцією [7]. Механізми, що лежать в їх основі, залежать від цитокінів та інших циркулюючих імунних компонентів [8–10]. Ревматоїдний артрит асоціюється також із метаболічним синдромом, психосоціальним дефіцитом, включаючи психіатричні захворю-

вання, остеопороз, і збільшенням захворюваності на рак [11]. Біль, в тому та інвалідність, пов'язані з РА, призводять до значного зниження якості життя, пов'язаної зі здоров'ям [11].

Системне запалення та автоімунні реакції при РА починаються задовго до початку виявленого запалення суглобів [12]. Запалення при РА також пов'язане з характерними змінами мезенхімальної тканини. Фібробластоподібні синовіоцити, які зазвичай містяться в синовіальній кістці, проліферують і змінюють свій фенотип. У запаленій синовіальній клітині контакт між ними і Т-клітинами призводить до індукції різноманітних медіаторів запалення і молекул адгезії, включаючи інтерлейкін-6, фактор некрозу пухлини, інтерферон- γ , молекули внутрішньоклітинної адгезії-1 та судинні молекули клітинної адгезії-1. Змінені фібробластоподібні синовіоцити проникають у хрящі суглоба і виробляють різноманітні протеази, які сприяють руйнуванню суглоба [13]. Фармакотерапія РА включає симптоматичне лікування із застосуванням нестероїдних протизапальних препаратів, глюкокортикостероїдів та лікування, що модифікує захворювання [14, 15]. Незамінними засобами симптоматичного лікування РА залишаються нестероїдні протизапальні препарати, що зумовлено їх високою ефективністю щодо знеболювання та зниження запальних процесів. Однак систематичне і, нерідко, безконтрольне приймання препаратів цієї групи спричиняє розвиток тяжких ускладнень, що суттєво збільшує летальність пацієнтів з РА. Вибір нестероїдних протизапальних препаратів для лікування захворювань суглобів також обмежується їх хондротоксичністю [16].

Незважаючи на значні досягнення та наявність широкого асортименту протизапальних засобів, удосконалення фармакотерапії захворювань опорно-рухового апарату залишається актуальним завданням сучасної фармакології. Одним з напрямків його вирішення є пошук і розробка засобів із протизапальними та хондропротекторними властивостями на основі рослинної сировини [17]. З цієї точки зору, привертає увагу маруна дівоча (*Tanacetum parthenium* L.) родини Айстрові (Asteraceae). Основними показаннями до застосування трави цієї рослини в народній медицині є мігрень, гінекологічні захворювання та запальні захворювання сполучної тканини [18]. Хімічний склад маруни дівочої представлений фенольними сполуками – гідроксикоричними кислотами (хлорогенова, дикафеоїлхінна, цикорієва та ін.), флавоноїдами, сесквітерпеновими лактонами (партенолід, артеканін, хризантемін тощо), ефірними оліями (камфора, камфен, р-цимен, борніл ацетат

та ін.). Це біологічно активні сполуки з потенційними протизапальними й анальгетичними властивостями [18].

Визначені в попередніх дослідженнях виразні протизапальні й анальгетичні властивості маруни дівочої екстракту густого (ЕМД), який отримали науковці Національного фармацевтичного університету в умовах фітохімічної лабораторії під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Т. М. Гонтової, на моделях гострого запалення стали підґрунтям для дослідження його ефективності за умови експериментально-го ад'ювантного артриту в щурів.

Мета дослідження – оцінити ефективність густого екстракту з трави маруни дівочої (*Tanacetum parthenium* L.) за умови хронічного запалення (ад'ювантного артриту) в щурів за даними гістологічного дослідження.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. З трави маруни дівочої було отримано екстракт густий, який стандартизовано за вимогами Державної Фармакопеї України [19].

Модель ад'ювантного артриту є найпоширенішою в експериментальній фармакології моделлю системного запалення, яке супроводжується ураженням тканин суглобів, і найбільш близько відтворює патогенез та морфофункціональні зміни при колагенових захворюваннях у людей [20, 21]. З огляду на це, в дослідженні було використано саме таку експериментальну модель.

Досліди проведено на білих нелінійних щурах-самцях, отриманих з віварію Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету, згідно із Загальними етичними принципами експериментів на тваринах, що узгоджуються з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р., зі змінами, внесеними в 1998 р.) [22]. Тварин утримували відповідно до діючих правил по пристроях, обладнанню та віварію при температурі повітря в приміщенні 21–24 °С, вологості не більше 60–65 %, на стандартному харчуванні й воді – ad libitum [23]. Перед початком експерименту щури протягом 7 днів проходили акліматизацію в умовах кімнати для проведення випробувань. Проєкт плану дослідження схвалила комісія з питань біоетики Національного фармацевтичного університету.

Ад'ювантний артрит викликали шляхом одноразового підшкірного введення в основу хвоста щурів-самців масою 200–220 г 0,1 мл повного ад'юванта Фрейнда. Через 7 днів повторювали введення повного ад'юванта Фрейнда у

підшову правої задньої кінцівки тварин [24]. Щурів було поділено на 4 групи: інтактний контроль, інтактні тварини (n=6); контрольна патологія, тварини, яким на тлі патології вводили дистильовану воду в дозі 1 мл/100 г (n=8); тварини, яким на тлі патології вводили тест-зразок ЕМД у дозі 50 мг/кг (n=6); тварини, яким на тлі патології вводили препарат порівняння “Диклофенак натрію” (виробництва ПрАТ “Фармацевтична фірма Дарниця”, серія EG30919), що проявляє виразну протизапальну й анальгетичну дію та є найбільш використовуваним неселективним інгібітором циклооксигенази-1 і циклооксигенази-2, у середньоєфективній дозі 8 мг/кг (n=6). Враховуючи тяжкість патології, досліджуваний екстракт експериментальним тваринам вводили у максимально ефективній дозі 50 мг/кг, яку визначено в результаті скринінгу на моделі гострого карагенінового запалення (неопубліковані дані). Досліджувані засоби вводили з першого дня експерименту і впродовж чотирьох тижнів щодня внутрішньошлунково 1 раз на добу: ЕМД – у вигляді водного розчину, препарат порівняння – у вигляді 1 % суспензії крохмалю.

Після виведення тварин з експерименту на 28-му добу було здійснено забір матеріалу. Відсепаровані від шкіри та м'язів суглоби фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, після промивання у проточній воді декальцинували в 5 % розчині азотної кислоти протягом 14–16 днів. Після проведення по спиртах висхідної концентрації тканини заливали в целоїдин-парафін за стандартною методикою. З блоків виготовляли фронтальні зрізи завтовшки 6–8 мк, щонайменше по 3 зрізи з кожного суглоба. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозинном. Усі етапи виготовлення мікропрепаратів було проведено згідно з рекомендаціями OARSI (Osteoarthritis Research Society International) [25].

Аналіз морфометричних показників становить важливий аспект моделювання патології, бо дозволяє проводити більш об'єктивний моніторинг змін. Ми здійснювали морфометричні вимірювання на мікропрепаратах за допомогою програми Top View та визначали: товщину хряща як відстань від поверхні хряща до лінії остеохондрального сполучення (вимірювали в 3 точках лише на ділянках, де хрящ зберігав свою цілісність); щільність розташування хондроцитів на умовній одиниці площі. За чотирибальною шкалою оцінювали такі показники, як [26]: клітинна проліферація в періартикулярних тканинах: 0 балів – відсутність ознаки; 1 бал – кілька дрібних вогнищ; 2 бали – екстенсивні осередкові інфільтрати; 3 бали – екстенсивні інфільтрати, що інвазують капсулу з утворенням агрегатів; ерозія хряща: 0 балів – відсутність ознаки;

1 бал – поверхневі осередкові uszkodження більш ніж в одній ділянці; 2 бали – локалізовані глибокі руйнування; 3 бали – глибокі екстенсивні ерозії в кількох осередках; формування пануса: 0 балів – відсутність ознаки; 1 бал – панус формується на 1–2 ділянках; 2 бали – панус формується не більше ніж у 4 ділянках з інфільтрацією або плоским розростанням по суглобовій поверхні; 3 бали – формування пануса більш ніж у 4 місцях або дуже екстенсивне формування у 2 місцях; проліферація синовії: 0 балів – відсутність ознаки; 1 бал – помірна проліферація, синовіоцити розташовані у 2–4 ряди; 2 бали – синовіоцити утворюють 4 шари і більше, відсутність або помірна інвазія кістки та/або хряща; 3 бали – виражена проліферація, що призводить до інвазії хряща та стертості суглобової поверхні.

Мікроскопічні дослідження виконували під мікроскопом “Granum Trino R 6003” (DSM-310). Статистичну обробку отриманих цифрових даних проводили із застосуванням непараметричних критеріїв (Statistics 6, Mann-Whitney U Test, Fisher test).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Суглобова поверхня кісток гомілковостопного суглоба інтактних щурів покрита гіаліновим хрящем, що має характерну зональну будову та виражений вертикальний анізоморфізм. Морфологія клітин змінюється: від сплосчених дрібних клітин у поверхневій зоні, округлих хондроцитів з високим ядерно-цитоплазматичним відношенням в ізогенних групах проміжної зони до великих, з гіпертрофічним фенотипом клітин у зоні мінералізації хряща, що прилягає до субхондральної кістки. Межа із зоною кальцифікованого хряща добре виділяється завдяки більш базофільному забарвленню. Забарвлення міжклітинної речовини гіалінового хряща рівномірне. Суглобова поверхня гладка, без видимих uszkodжень (рис. 1, а). Середня товщина суглобового хряща інтактних щурів становить 228,6 мк, щільність розташування клітин у ньому дорівнює 32,25 од. на умовній одиниці площі (табл.).

Синовіальні оболонки ареоларного типу виступають у суглобову порожнину як клиноподібні складки, не контактуючи з хрящовою поверхнею. Синовіоцити з овальними ядрами групуються досить близько один до одного, як правило, утворюючи 1–2 шари, на деяких ділянках лежать 2–3 рядами. Основу синовіальної оболонки становить сполучна тканина, досить бідна на клітини, але з багатою мікроциркулярною мережею (рис. 2, а). Субхондральна кістка має типову для губчастої кістки будову. В осередках переплетених трабекул міститься активний поліморфноклітинний кістковий мозок.

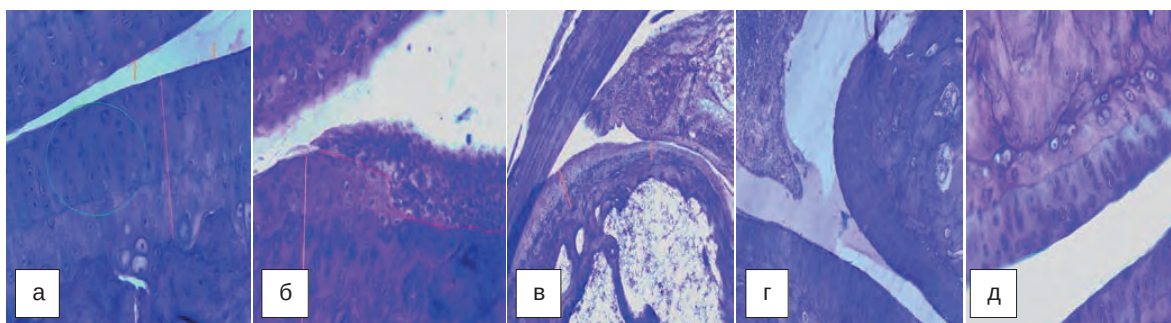


Рис. 1. Гомілковостопний суглоб: а – інтактного щура: гіаліновий хрящ суглобової поверхні (лінія) нормальної будови, виразно видно зональність розташування хрящових клітин, щільність клітин значна (лінія), хрящова поверхня гладка, без вад (стрілки), гематоксилін та еозин, $\times 400$; б, в – щура з групи контрольної патології: б – щільний панус, що наповзає на хрящ, добре видно межу (лінія), під панусом відсутні поверхневі та проміжні шари хряща, гематоксилін та еозин, $\times 400$; в – звуження суглобового хряща під панусом, гематоксилін та еозин, $\times 100$; г – щура, лікованого екстрактом маруни дівочої: суглобовий хрящ без видимих ознак деструкції, зі збереженою клітинною зональністю, гематоксилін та еозин, $\times 400$; д – щура, лікованого диклофенаком натрію: нормальна будова суглобового хряща, гематоксилін та еозин, $\times 400$.

Таблиця – Морфометричні показники гомілковостопних суглобів щурів

Показник	Група тварин			
	інтактний контроль (n=6)	контрольна патологія (n=8)	ЕМД, 50 мг/кг (n=6)	диклофенак натрію, 8 мг/кг (n=6)
Товщина хряща, мк	228,60 \pm 7,65	161,85 \pm 10,19*	199,60 \pm 8,52* [#]	200,98 \pm 9,51* [#]
Щільність розташування хондроцитів (на умовній одиниці площі)	32,25 \pm 1,44	20,17 \pm 0,99*	26,77 \pm 1,00* [#]	27,50 \pm 1,32* [#]
Відсоток тварин, в яких виявлено:				
– синовіт	0	100*	33,3* [#]	16,6 [#]
– гіперплазію синовіальної оболонки, панус	0	87,5*	33,3* [#]	16,6 [#]
– деструкцію та дистрофію хряща	0	87,5*	33,3* [#]	0 [#]

Примітки:

- * – достовірно щодо інтактного контролю ($p < 0,05$).
- # – достовірно щодо контрольної патології ($p < 0,05$).
- n – кількість тварин у групі.

Періартикулярні тканини – без ознак запалення (рис. 3, а), м'язові волокна рівномірно забарвлені, поперечна смугастість у них добре виражена.

Дослідження гомілковостопних суглобів щурів з групи контрольної патології показало, що артрити були індуковані в 100 % тварин. Незважаючи на деякі гістопатологічні відмінності, в усіх спостерігали якісно однаковий патологічний процес, що характеризувався розвитком проліферативних і запальних реакцій у капсулі й порожнині суглоба, появою гіперпластичних, деструктивних та дистрофічних явищ. Були уражені як сам хрящ, так і періартикулярні тканини, зокрема, м'якотканинні структури – синовіальні оболонки, зв'язки та м'язи.

Насамперед слід відзначити гострі запальні та проліферативні процеси, що розвиваються в синовії. У всіх тварин відмічають синовіт з лейкоцитарною інфільтрацією синовіальних оболонок і потовщенням вистилаючого шару за раху-

нок проліферації синовіоцитів, що лежать у 5–6 шарів і більше (рис. 2, б). Гіперплазовані синовіальні оболонки ворсинками виступають у просвіт суглоба.

Синовіальні оболонки інфільтровані переважно лімфоцитами, плазмоцитами і макрофагами, однак часто трапляються скупчення округлих епітеліоїдних клітин та поодинокі гігантські багатоядерні остеокластоподібні клітини, занурені в колагенову строму. Ці активовані макрофаги, лімфоцити, фібробласти можуть стимулювати ангіогенез, що пояснює підвищену васкуляризацію синовії щурів даної групи.

Судини синовіальної мембрани розширені та повнокровні, часто містять гнійні емболі. Розвиваються васкуліти не тільки з лейкоцитарною інфільтрацією, але і з розплавленням судинної стінки, а в окремих випадках – з некрозами ділянок синовії (рис. 2, в).

Синовіальні оболонки – це не лише первинне місце для запальних реакцій, а й ефektorний

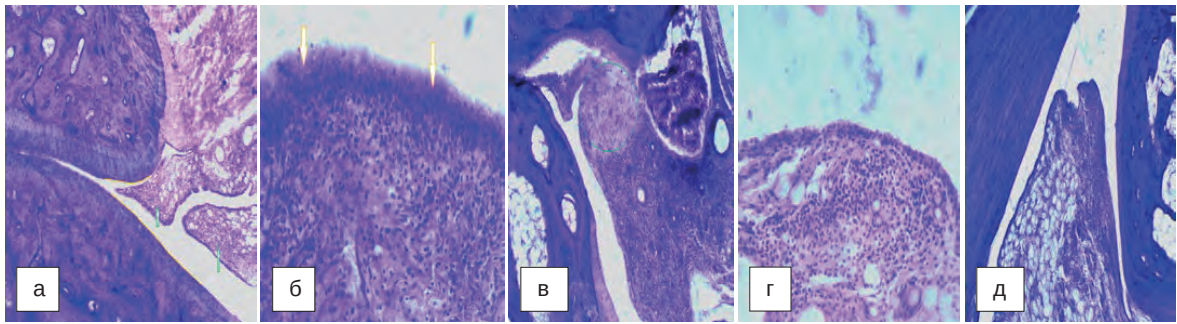


Рис. 2. Гомілковостопний суглоб: а – інтактного щура: синовіальні оболонки ареолярного типу (стрілки) виступають у порожнину клиноподібними складками, не торкаючись хрящової поверхні (лінії), клітинність синовії помірна, гематоксилін та еозин, $\times 100$; б, в – щура з групи контрольної патології: б – гіперплазія крайових синовіоцитів (стрілки), формування грануляційної тканини; в – некротично змінена ділянка синовіальної мембрани, гематоксилін та еозин, $\times 100$; г – щура, лікованого екстрактом маруни дівочої: помірно виражений продуктивний синовіт, гематоксилін та еозин, $\times 400$; д – щура, лікованого диклофенаком натрію: синовіальна оболонка без ознак синовіту, гематоксилін та еозин, $\times 150$.

орган, який при розвитку продуктивного синовіту здатний формувати агресивний панус. Клітини пануса мігрують у хрящ, що викликає подальшу ерозію його тканин. Тому основне місце незворотних ушкоджень хрящової тканини розташоване по лінії контакту між гіперплазованою синовіальною мембраною та хрящем (рис. 1, б, в).

У 87,5 % тварин панус наростає латерально на суглобову поверхню, інвазуючи її, з'їдаючи, призводячи до втрати поверхневих та проміжних хондроцитів. Іноді він має більш щільну грубу структуру і демаркаційна лінія між ним і хрящем добре визначається (див. рис. 1, б). В інших випадках панус легкою сіткою покриває суглобову поверхню, глибоко проникаючи в неї, зливаючись так, що межу між тканинами стає важко помітити (див. рис. 2, в). Тільки видно, як поверхневі хондроцити дегенерують, набуваючи морфології фібробластів. Результатом агресії пануса є і руйнування поверхневих зон хряща, і зникнення цілих ділянок (особливо латеральних). Іноді від дегенеруючого хряща залишаються лише фрагменти, оточені гіперплазованою та запаленою синовією. Поблизу таких панусів

виявляють ділянки суглобового хряща з найбільш вираженими деструктивними та дистрофічними змінами. Суглобова поверхня часто нерівна, з'їдена, розплавлена, узури іноді сягають середини хрящової пластинки. Результатом є втрата специфічної, зональної організації хряща, помітне зниження щільності хондроцитів (20,17 хондроцитів на умовній одиниці площі при 32,25 у контролі) та стоншення хрящової пластинки майже на 30 % (див. табл.). З боку субхондріальної кістки утворюються кісткові напливи, що несуть із собою новостворені судини, які сприяють кальцифікації хряща.

Періартикулярні тканини інфільтровані запальними клітинними елементами і проростають вертикальними новоствореними судинами (рис. 3, б), відзначають мікроциркуляторні порушення. Іноді запальний інфільтрат проникає у м'язові тканини, руйнуючи їх структуру (рис. 3, в).

У 66,6 % тварин введення ЕМД запобігає деструкції хрящової тканини. Під час спостережень відзначали незначну проліферацію синовіальних клітин та розкидані дрібні осередки інфільтрації синовіальної тканини запальними

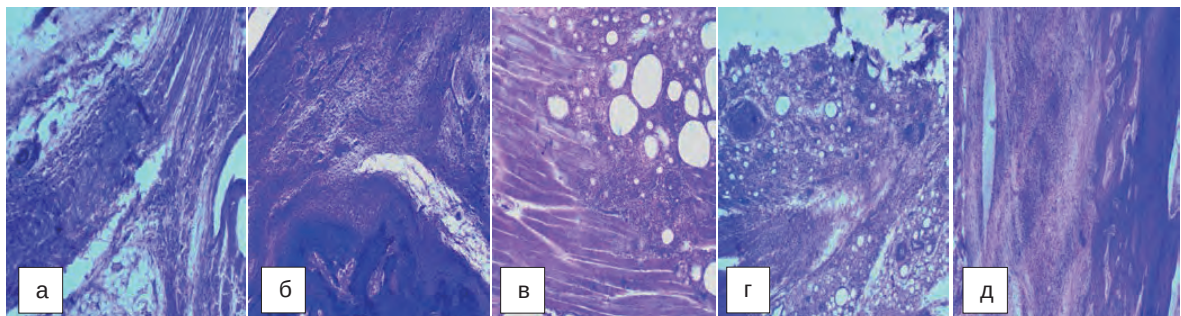


Рис. 3. Гомілковостопний суглоб: а – інтактного щура: відсутня клітинна інфільтрація в періартикулярних тканинах, гематоксилін та еозин, $\times 100$; б, в – щура з групи контрольної патології: запальна реакція в періартикулярних тканинах (б), у тому числі м'язовій (в), гематоксилін та еозин, $\times 400$; г – щура, лікованого екстрактом маруни дівочої: помірно інфільтровані періартикулярні тканини, гематоксилін та еозин, $\times 400$; д – щура, лікованого диклофенаком натрію: періартикулярні тканини з дифузною клітинною інфільтрацією, гематоксилін та еозин, $\times 150$.

клітинами. Формування пануса, що асоціюється з деструкцією хряща, не виявлено. Через відсутність вираженої запальної реакції тканин, що покривають, цілісність хрящового покриття збережена, зональність виражена, щільність розташування клітинних елементів вища за показники в групі контрольної патології на 33 % і становить 26,77 клітин. Товщина хряща також збільшується (рис. 1, г, див. табл.).

У третини тварин спостерігають продуктивний синовіт із формуванням пануса, хоч і не такого масивного, як у нелікованих щурів. Серед клітин, що інфільтрують синовіальну мембрану, переважають поліморфноядерні лейкоцити, гігантські клітини не трапляються (рис. 2, г). У половини цих щурів суглобові поверхні нормальні, крім незначної ерозії хрящової поверхні синовіальним панусом з краю суглоба. В інших тварин суглобовий хрящ піддається деструкції на великих ділянках, втрачаючи зональність та поверхневі хондроцити.

Запальні процеси в періартикулярних тканинах виражені менш гостро порівняно з нелікованими щурами, судини, як правило, без порушень.

Ймовірно, механізм протизапальної дії досліджуваного екстракту маруни дівочої, крім пригнічення синтезу простагландинів, включає вплив на прозапальні цитокіни, що показано в роботах інших дослідників [18], та здатність відновлювати функціональність фагоцитарної активності макрофагально-моноцитарної системи. До того ж, можливим є імуносупресивний ефект екстракту щодо клітин-індукторів розвитку аутоімунних захворювань, до яких належить ад'ювантний артрит, за рахунок продукування інтерлейкіну-10 та, ймовірно, інших цитокінів.

Тривале введення препарату порівняння – нестероїдного протизапального засобу “Диклофенак натрію” повністю запобігає розвитку деструктивно-дистрофічних процесів у хрящовій тканині 100 % тварин. Суглобовий хрящ має рівну поверхню, хондроцити розташовуються рівномірно серед однорідної міжклітинної речовини (рис. 1, д). Морфометричні показники, такі,

як товщина хряща та щільність розташування хрящових клітин, наближаються до інтактних показників. Щільність становить 27,5 екземпляра, що вище за показники нелікованих щурів на 36 %, а товщина хряща в середньому дорівнює 201 мк, що на 24 % більше, ніж у нелікованих тварин (див. табл.).

У 83,3 % спостережень відсутні ознаки синовіту. Синовіальна оболонка за клітинним складом представлена синовіоцитами і фібробластами, які більш численні, ніж в інтактних тварин, але не є запальними клітинами (рис. 2, д). В одного щура синовіальна мембрана більш щільна, містить великі, іноді багатоядерні, епітеліоїдні клітини та розширені кровонаповнені судини. Синовія виступає в порожнину суглоба і починає наповзати на суглобову поверхню, яка ще інтактна. Під впливом диклофенаку натрію у двох тварин із шести відзначено залишкові запальні явища в періартикулярних тканинах – дифузну інфільтрацію лейкоцитарними клітинами (рис. 3, г, д).

ВИСНОВКИ. 1. Введення ад'юванта Фрейнда щурам призводить до розвитку в них морфологічних ознак артриту гомілковостопних суглобів: проліферативного синовіту; формування пануса; деструктивно-дистрофічних змін хрящової тканини; запальної інфільтрації в періартикулярних тканинах.

2. Нестероїдний протизапальний засіб “Диклофенак натрію” проявляє виражений нормалізуючий вплив на морфологічні зміни в суглобах щурів при ад'ювантному артриті. Деструкція хряща відсутня, гіперплазія тканин, що його покривають, трапляється в 6 разів рідше, ніж у нелікованих тварин. Спостерігають залишкові явища в періартикулярних тканинах.

3. Застосування екстракту маруни дівочої сприяє зниженню кількості щурів із деструкцією суглобового хряща у 2,6 раза порівняно з групою контрольної патології та кількості тварин з вираженим запальним процесом у синовіальній оболонці та періартикулярних тканинах у 3 рази.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Global, regional and national burden of rheumatoid arthritis 1990–2017: A systematic analysis of the global burden of disease study 2017 / S. Safiri, A. A. Kolahi, D. Hoy [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2019. – **78**. – P. 1463–1471.

2. The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review / K. Almutairi,

J. Nossent, D. Preen [et al.] // *Rheumatol. Int.* – 2021. – **41** (5). – P. 863–877. DOI: 10.1007/s00296-020-04731-0.

3. What do we know about rheumatoid arthritis patients support needs for self-management? A scoping review / R. M. Zuidema, H. Repping-Wuts, A. W. M. Evers [et al.] // *International Journal of Nursing Studies.* – 2015. – **52**. – P. 1617–1624.

4. Smolen J. S. Rheumatoid arthritis / J. S. Smolen, D. Aletaha, I. B. McInnes // *Lancet*. – 2016. – **388**. – P. 2023–2038.
5. Zou S. R. Five balances in the management of rheumatoid arthritis / S. R. Zou // *Journal of Biosciences and Medicines*. – 2017. – **5**. – P. 10–21.
6. Gibofsky A. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A Synopsis / A. Gibofsky // *Am. J. Manag. Care*. – 2014. – **20**. – S128–S135.
7. Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: results of an international, cross-sectional study (COMORA) / M. Dougados, M. Soubrier, A. Antunez [et al.] // *Ann. Rheum. Dis*. – 2014. – **73** (1). – P. 62–68.
8. Mechanisms leading from systemic autoimmunity to joint-specific disease in rheumatoid arthritis / A. I. Catrina, C. I. Svensson, V. Malmstrom [et al.] // *Nature Reviews Rheumatology*. – 2017. – **13**. – P. 79–86.
9. Firestein G. S. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis / G. S. Firestein, I. B. McInnes // *Immunity*. – 2017. – **46** (2). – P. 183–196.
10. Mechanisms involved in triggering rheumatoid arthritis / A. I. Catrina, V. Joshua, L. Klareskog, M. V. Malmstro // *Immunol. Rev*. – 2016. – **269**. – P. 162–174.
11. Potential mechanisms leading to the abnormal lipid profile in patients with rheumatoid arthritis versus healthy volunteers and reversal by tofacitinib / C. Charles-Schoeman, R. Fleischmann, J. Davignon [et al.] // *Arthritis Rheumatol*. – 2015. – **67**. – P. 616–625.
12. Demoruelle M. K. When and where does inflammation begin in rheumatoid arthritis? / M. K. Demoruelle, K. D. Deane, V. M. Holers // *Curr. Opin. Rheumatol*. – 2014. – **26** (1). – P. 64–71.
13. McInnes I. B. The pathogenesis of rheumatoid arthritis / I. B. McInnes, G. Schett // *N. Eng. J. Med*. – 2011. – **365** (23). – P. 2205–2219.
14. Radu A.-F. Management of rheumatoid arthritis: An overview / A.-F. Radu, S. G. Bungau // *Cells*. – 2021. – **10**. – P. 28–57. – Access mode : <https://doi.org/10.3390/cells10112857>
15. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update / J. S. Smolen, R. B. M. Landewé, J. W. J. Bijlsma [et al.] // *Ann. Rheum. Dis*. – 2020. – **79**. – P. 685–699.
16. Crofford L. J. Use of NSAIDs in treating patients with arthritis / L. J. Crofford // *Arthritis Res. Ther*. – 2013. – **15**. – S2.
17. Hajja G. Medicinal plants in the prevention and treatment of rheumatoid arthritis / G. Hajja, A. Bahloul // *MOJ Bioequiv. Availab*. – 2018. – **5** (1). – P. 60–64.
18. Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.): A systematic review / A. Pareek, M. Suthar, G. S. Rathore, V. Bansal // *Pharmacognosy Reviews*. – 2011. – **5** (9). – P.103–110.
19. Перспективи комплексного використання трави маруни дівочої для створення екстрактів з анагетичною та протизапальною дією / [Т. М. Гонтова, Е. Е. Котова, І. В. Кириченко та ін.] // *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (Харків, 19–20 верес. 2019 р.) : у 2 т. / редкол. : А. А. Котвіцька та ін. – Харків : НФаУ, 2019. – **1**. – С. 279–280.*
20. Serra C. I. Animal models of osteoarthritis in small mammals / C. I. Serra, C. Soler // *Vet. Clin. Exot. Anim*. – 2019. – **22**. – P. 211–221. – Access mode : <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2019.01.004>
21. Choudhary N. Experimental animal models for rheumatoid arthritis / N. Choudhary, L. K. Bhatt, K. S. Prabhavalkar // *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. – 2018. – **40** (3). – P. 193–200, DOI: 10.1080/08923973.2018.1434793
22. Директива Совета ЕС о сближении законов, постановлений и администрирование положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС) // *Надлежащая производственная практика лекарственных средств / под ред. Н. А. Ляпунова, В. А. Загория, В. П. Георгиевского, Е. П. Безуглой. – К. : Морион, 1999. – С. 508–545.*
23. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
24. Bendele A. M. Animal models of rheumatoid arthritis. Perspective Article / A. Bendele // *J. Musculoskel Neuron Interact*. – 2001. – **1** (4). – P. 377–385.
25. The OARSI histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat / N. Gerwin, A. M. Bendele, S. Glasson [et al.] // *Osteoarthritis Cartilage*. – 2010. – **18**, Suppl. 3. – P. S24–34.
26. Anti-arthritis activity of ethanol extract of *Fagopyrum cymosum* with adjuvant-induced arthritis in rats / S. Lingling, W. Pingtao, G. Junhao [et al.] // *Pharmaceutical Biology*. – 2013. – **51** (6). – P. 783–789.

REFERENCES

1. Safiri, S., Kolahi, A.A., Hoy, D. (2019). Global, regional and national burden of rheumatoid arthritis 1990–2017: A systematic analysis of the global burden of disease study 2017. *Ann. Rheum. Dis.*, 78, 1463–1471.
2. Almutairi, K., Nossent, J., Preen D. (2021). The global prevalence of rheumatoid arthritis: a meta-analysis based on a systematic review. *Rheumatol. Int.*, 41 (5), 863–877. DOI: 10.1007/s00296-020-04731-0.
3. Zuidema, R.M., Repping-Wuts, H., Evers, A.W.M. (2015). What do we know about rheumatoid arthritis patients support needs for self-management? A scoping review. *International Journal of Nursing Studies*, 52, 1617–1624.

4. Smolen, J.S., Aletaha, D., & McInnes, I.B. (2016). Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 388, 2023-2038.
5. Zou, S.R. (2017). Five balances in the management of rheumatoid arthritis. *Journal of Biosciences and Medicines*, 5, 10-21.
6. Gibofsky, A. (2014). Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A synopsis. *Am. J. Manag. Care*, 20, S128-S135.
7. Dougados, M., Soubrier, M., & Antunez, A. (2014). Prevalence of comorbidities in rheumatoid arthritis and evaluation of their monitoring: Results of an international, cross-sectional study (COMORA). *Ann. Rheum. Dis.*, 73 (1), 62-68.
8. Catrina, A.I., Svensson, C.I., & Malmstrom, V. (2017). Mechanisms leading from systemic autoimmunity to joint-specific disease in rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 13, 79-86.
9. Firestein, G.S., & McInnes, I.B. (2017). Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Immunity*, 46 (2), 183-196.
10. Catrina, A.I., Joshua, V., Klareskog, L., & Malmstro, M.V. (2016). Mechanisms involved in triggering rheumatoid arthritis. *Immunol. Rev.*, 269, 162-174.
11. Charles-Schoeman, C., Fleischmann, R., & Davignon, J. (2015). Potential mechanisms leading to the abnormal lipid profile in patients with rheumatoid arthritis versus healthy volunteers and reversal by tofacitinib. *Arthritis Rheumatol.*, 67, 616-625.
12. Demoruelle, M.K., Deane, K.D., Holers, V.M. (2014). When and where does inflammation begin in rheumatoid arthritis? *Curr. Opin. Rheumatol.*, 26 (1), 64-71.
13. McInnes, I.B., & Schett, G. (2011). The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N. Eng. J. Med.*, 365 (23), 2205-2219.
14. Radu, A.-F., & Bungau, S.G. (2021). Management of rheumatoid arthritis: An overview. *Cells*, 10, 2857. Retrieved from: <https://doi.org/10.3390/cells10112857>
15. Smolen, J.S., Landewé, R.B.M., & Bijlsma, J.W.J. (2020). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann. Rheum. Dis.*, 79, 685-699.
16. Crofford, L.J. (2013). Use of NSAIDs in treating patients with arthritis. *Arthritis Res. Ther.*, 15, S2.
17. Hajja, G., & Bahlouli, A. (2018). Medicinal plants in the prevention and treatment of rheumatoid arthritis. *MOJ Bioequiv Availab.*, 5(1), 60-64.
18. Pareek, A. Suthar, M., Rathore, G.S., Bansal, V. (2011). Feverfew (Tanacetum parthenium L.): A systematic review. *Pharmacognosy Reviews*, 5 (9), 103-110.
19. Gontova, T.M., Kotova, E.E., Kirichenko, I.V. (2019). Prospects for the integrated use of maroon herb to create extracts with analgesic and anti-inflammatory action. *Modern pharmacy: History, realities and prospects of development: Materials of scientific practice. conf. with participation, dedicated to the 20th anniversary of the founding of the Day of Pharmaceutical Worker of Ukraine*. Kharkiv, September 19-20: in 2 volumes. Kharkiv: NUPH [in Russian].
20. Serra, C.I., & Soler, C. (2019). Animal models of osteoarthritis in small mammals. *Vet. Clin. Exot. Anim.*, 22, 211-221. Retrieved from: <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2019.01.004>
21. Choudhary, N., Bhatt, L.K., & Prabhavalkar, K.S. (2018). Experimental animal models for rheumatoid arthritis. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 40, 3, 193-200, DOI: 10.1080/08923973.2018.1434793
22. Lyapunov, N.A., Zagoriy, V.A., Georgievsky, V.P., Bezugla, E.P. (eds.) (1999). *EU Council Directive on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the EU for the protection of animals used for experimental and other scientific purposes (86/609/EEC)*. Good Manufacturing Practice for Medicinal Products. Kyiv: Morion [in Russian].
23. Kozhemiakin, Yu.M., Khromov, O.S., Filonenko, M.A., & Saifetdynova, H.A. (2002). *Scientific and practical recommendations for keeping laboratory animals and working with them*. Kyiv: Avitsena [in Ukrainian].
24. Bendele, A.M. (2001). Animal models of rheumatoid arthritis. Perspective Article. *J. Musculoskel. Neuron. Interact.*, 1 (4), 377-385.
25. Gerwin, N., Bendele, A.M., & Glasson, S. (2010). The OARS histopathology initiative – recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat. *Osteoarthritis Cartilage*, 18, Suppl 3, S24-34.
26. Lingling, S., Pingtao, W., & Junhao, G. (2013). Anti-arthritis activity of ethanol extract of *Fagopyrum cymosum* with adjuvant-induced arthritis in rats. *Pharmaceutical Biology*, 51 (6), 783-789 [in Ukrainian].

I. V. Kyrychenko, O. Ya. Mishchenko
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

RESEARCH OF THE INFLUENCE OF TANACETUM EXTRACT (*TANACETUM PARTHENIUM L.*) ON THE CONDITION OF RAT JOINTS WITH SIMULATED ADJUVANT ARTHRITIS

Summary

Introduction. Improving the pharmacotherapy of rheumatoid arthritis (RA) remains an urgent task of modern pharmacology. One of the ways to solve this problem is to find and develop tools with anti-inflammatory and chondroprotective properties based on plant materials

The aim of the study – to evaluate the effectiveness of a thick extract of the marigold herb (*Tanacetum parthenium* L.) in chronic inflammation (adjuvant arthritis) in rats according to histological examination.

Research Methods. Histological examination of the joints of rats with simulated Freund's adjuvant (0.1 ml once subcutaneously at the base of the tail) arthritis. The joints separated from the skin and muscles were fixed in 10 % neutral formalin solution, after washing in running water decalcified in 5 % nitric acid solution for 14–16 days. After ascending, the tissue concentration was poured into celloidin-paraffin according to standard methods. Frontal sections 6–8 μm thick were made from the blocks, at least three sections from each joint. The sections were stained with hematoxylin and eosin. All stages of micropreparation were performed in accordance with OARSI (Osteoarthritis Research Society International) recommendations. Microscopic examination was performed under a microscope Granum Trino R 6003 (DSM-310). Statistical processing of the obtained digital data was performed using the non-parametric criterion (Statistics 6, Mann-Whitney U Test, Fisher test).

Results and Discussion. The introduction of Freund's adjuvant to rats leads to the development of morphological signs of arthritis of the ankle joints: proliferative synovitis; formation of pannus; destructive-dystrophic changes of cartilage tissue; inflammatory infiltration in periarticular tissues. The nonsteroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium has a pronounced normalizing effect on morphological changes in rat joints in adjuvant arthritis. Cartilage destruction is absent, hyperplasia of the covering tissues occurs six times less often than in untreated animals. Residual effects in periarticular tissues are noted. The use of chestnut extract reduced the number of animals with destruction of articular cartilage by 2.6 times compared with control pathology and the number of animals with severe inflammation in the synovial membrane and periarticular tissues by 3 times.

Conclusions. The ability of maroon extract to reduce the severity of articular cartilage destruction, inflammation in the synovial membrane and periarticular tissues in rats with a model of adjuvant arthritis.

KEY WORDS: adjuvant arthritis in rats; *Tanacetum parthenium* L. thick extract; diclofenac sodium; joint condition.

Отримано 27.01.22

Адреса для листування: О. Я. Міщенко, Національний фармацевтичний університет, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації, майдан Захисників України, 17, Харків, 61001, Україна, e-mail: oksanamishch2021@gmail.com.