

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

ОЦЕНКА ОТДАЛЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ КОМБИНИРОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ТИОКТОВОЙ КИСЛОТЫ С МЕТОТРЕКСАТОМ НА МОДЕЛИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Л. Н. Залялютдинова, А. Н. Гайнетдинова, Д. И. Абдулганиева, Л. Р. Ульянина¹

Представлены результаты изучения длительной комбинированной терапии метотрексатом (1 мг/кг, внутривенно, 1 раз в неделю, 3 мес) и тиоктовой кислотой (11 мг/кг, внутривенно, ежедневно, 1 мес) животных с моделированным адьювантным артритом в сравнении с монотерапией тиоктовой кислотой и метотрексатом. Критерием эффективности терапии служили выживаемость крыс, данные плетизмометрических показателей лапок, лабораторных показателей периферической крови, рентгенологического исследования суставов. Оценку функционального состояния ЦНС крыс проводили на 45 день эксперимента с использованием поведенческих тестов “открытое поле” и “приподнятый крестообразный лабиринт”. Комбинированное применение препаратов нормализует эмоциональное реагирование у животных в условиях модели ситуативной тревожности. Показано, что комбинированное применение тиоктовой кислоты с метотрексатом повышает эффективность терапии адьювантного артрита, значительно подавляя вторичное аутоиммунное воспаление, нормализуя показатели периферической крови и увеличивая выживаемость животных по сравнению с 3-месячной монотерапией метотрексатом.

Ключевые слова: адьювантный артрит; тиоктовая кислота; метотрексат; крысы; терапия.

В настоящее время в комплексной терапии различных заболеваний широко применяются антиоксиданты. Особый интерес представляет универсальный антиоксидант тиоктовая (липоевая) кислота (ТК), которая способна поддерживать как липидный, так и водный антиокислительный статус клетки. ТК регенерирует эндогенные антиоксиданты, осуществляет прямое поглощение свободных кислородных и азотных радикалов, защищает организм от их повреждающего действия на ДНК, белки, фосфолипиды клеточных мембран. ТК обеспечивает хелатацию ионов металлов, которые, в свою очередь, катализируют реакции, продуцирующие свободные радикалы [8, 11]. Ранее установлено, что тиоктовая кислота проявляет анальгезирующее, жаропонижающее и противовоспалительное действие, в том числе на модели адьювантного артрита (АА) [3, 4, 9]. При этом она малотоксична и лишена побочных эффектов, характерных для нестероидных противовоспалительных средств [8, 11]. АА — признанная экспериментальная модель для изучения эффективности средств, применяемых для лечения ревматоидного артрита (РА) [10]. Эффективность ТК на модели АА явилась предпосылкой для углубленного изучения ее в комбинации с препаратом базисной терапии РА метотрексатом.

Цель настоящего исследования — оценка отдаленных результатов комбинированного применения ТК с метотрексатом по сравнению с монотерапией этими лекарственными средствами АА у крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 48 крысах линии Wistar массой (200 ± 20) г. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с правилами, утвержденными ГОСТ Р 53434-2009, по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Исследования проведены с соблюдением правил биоэтики — гуманного обращения с животными в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите лабораторных животных (Страсбург, 1986 г.). Все исследования одобрены локальным Этическим комитетом Казанского ГМУ.

АА моделировали субплантарным введением в правую заднюю лапу опытных и контрольных крыс 0,1 мл полного адьюванта Фрейнда (Sigma) в 1 день эксперимента [5]. После возникновения вторичного воспаления на 15 сут эксперимента животные были разделены на 5 групп: 1-я контрольная получала дистиллированную воду внутривенно по 1 мл на 100 г массы; 2-я контрольная — крахмальную взвесь в эквиваленте через зонд в желудок. 3-й опытной группе вводили метотрексат внутривенно в дозе 1 мг/кг 1 раз в неделю в течение 3 мес [7]; 4-й опытной группе — сус-

¹ ГБОУ ВПО “Казанский государственный медицинский университет” Министерства здравоохранения Российской Федерации, Россия, 420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 49.

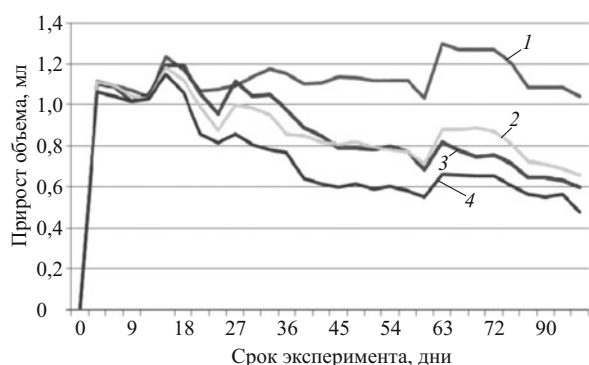


Рис. 1. Динамика прироста объема лап контрольных и опытных крыс с адьювантным артритом; * далее различия достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$).

1 – Контроль, 2 – ТК, 3 – метотрексат, 4 – ТК + метотрексат.

пензию ТК в дозе 11 мг/кг (0,01 от DL_{50}) в крахмальной слизи внутривентрикулярно ежедневно в течение 30 дней [9]; 5-й опытной — суспензию ТК в крахмальной слизи в дозе 11 мг/кг ежедневно в течение 30 дней и метотрексат в дозе 1 мг/кг 1 раз в неделю в течение 3 мес. 6-я группа — интактная (здоровые крысы). В экспериментах использовали отечественную субстанцию ТК — липоевую кислоту и метотрексат отечественного производства.

На протяжении эксперимента с определенной периодичностью выраженность воспалительной реакции у контрольных и опытных крыс определяли при помощи плетизмометра “Ub Ugo Basile 37140”. Критерием эффективности терапии служили выживаемость опытных крыс, данные плетизмометрических показателей объема лапок, лабораторных показателей периферической крови, рентгенологического исследования суставов. Общий анализ крови проводили на гематологическом анализаторе “Medonic”. Рентгенография обеих задних лап животных проведена на рентген-аппарате КРТ “ОКО”. Снимки были консультированы за-

ведующим отделения лучевой диагностики ГАУЗ “Республиканская клиническая больница МЗ РТ” Б. П. Нагорных. Оценку функционального состояния ЦНС крыс проводили на 45 день эксперимента по окончании применения ТК с использованием общепринятых поведенческих тестов “открытое поле” и “приподнятый крестообразный лабиринт” [5, 7]. Забой животных осуществляли под поверхностным эфирным наркозом в специальной камере в теплом помещении.

Результаты исследований подвергнуты статистической обработке с использованием критерия Шапиро — Уилка, расчета статистики средних величин, t -критерия Стьюдента и U -критерия Манна — Уитни, χ^2 . Критерием достоверности различий являлось значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В различные сроки наблюдения после введения полного адьюванта Фрейнда формировались первичная и вторичная воспалительная реакция на задних лапах опытных и контрольных крыс. Первичная реакция сопровождалась увеличением объема лапы в среднем на $(1,05 \pm 0,04)$ мл в контроле. На 15 день эксперимента у животных этих групп наблюдалось вторичное воспаление, объем прироста отечной лапы крыс контрольной группы составил $(1,2 \pm 0,02)$ мл. Прирост объема лап животных в контрольных группах, которые получали дистиллированную воду и крахмальную слизь, достоверно не отличался ни в начале, ни в динамике, ни в конце эксперимента. Прирост объема лапы в контроле принимали за 100 % (рис. 1). С 30 дня эксперимента у контрольных животных формировались вторичные изменения — усиление и распространение отека на вышележащие суставы, появление пальпируемых подкожных узелков на хвосте. В дальнейшем в контроле региональные вторичные изменения проявлялись сохраняющимся отеком до уровня тазобедрен-

Таблица 1. Показатели периферической крови животных с адьювантным артритом, леченных метотрексатом, ТК и их комбинацией в конце эксперимента

Показатель	Интактные	Контроль (АА)	Метотрексат, 1 мг/кг	ТК, 11 мг/кг	ТК + метотрексат
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	$7,08 \pm 0,13$	$6,67 \pm 0,13$	$7,36 \pm 0,09^{**}$	$6,92 \pm 0,19$	$6,51 \pm 0,23^{***}$
Гемоглобин, г/л	$141,38 \pm 1,33$	$122,50 \pm 2,59^*$	$137,25 \pm 1,77^{**}$	$132,86 \pm 3,11^{*/**}$	$138,17 \pm 1,81^{**}$
Тромбоциты, $\times 10^9/л$	$681,00 \pm 10,55$	$812,00 \pm 33,29^*$	$492,80 \pm 21,77^{*/**}$	$593,86 \pm 61,78^{**}$	$570,33 \pm 62,12^{**}$
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	$6,98 \pm 0,47$	$13,25 \pm 0,89^*$	$4,61 \pm 0,74^{*/**}$	$6,57 \pm 0,86^{**}$	$6,96 \pm 0,13^{**/**}$
Эозинофилы, %	$2,50 \pm 0,46$	$5,00 \pm 0^*$	$3,50 \pm 0,50$	$2,43 \pm 0,42^{**}$	$4,00 \pm 0,73$
Палочкоядерные нейтрофилы, %	$1,50 \pm 0,18$	$9,00 \pm 0,57^*$	$6,25 \pm 0,73^*$	$1,57 \pm 0,29^{**}$	$1,50 \pm 0,22^{**/**}$
Сегментоядерные нейтрофилы, %	$20,50 \pm 0,86$	$46,00 \pm 2,88^*$	$21,00 \pm 1,61^{**}$	$17,86 \pm 2,01^{**}$	$17,83 \pm 2,19^{**}$
Лимфоциты, %	$59,88 \pm 1,41$	$36,50 \pm 3,75^*$	$60,50 \pm 2,13^{**}$	$66,43 \pm 2,16^{*/**}$	$62,50 \pm 1,64^{**}$
Моноциты, %	$15,62 \pm 0,32$	$3,50 \pm 0,28^*$	$8,75 \pm 0,37^{*/**}$	$11,71 \pm 1,32^{*/**}$	$14,17 \pm 1,27^{**/**}$

* $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой;

** $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой;

*** $p < 0,05$ по сравнению с группой, получавшей метотрексат.



Рис. 2. а) Снимок лап здоровой крысы. б) Снимок патологически измененных лап контрольной нелеченной крысы. в) Снимок лап крысы, получавшей метотрексат. г) Снимок лап крысы, получавшей ТК. д) Снимок лап крысы, получавшей комбинированную терапию.

ных суставов, стойкой деформацией и ограничением движения в суставах лап. В данной группе выявлена некротизация кожного покрова лап, которая сопровождалась выделением серозно-геморрагической жидкости, регистрировалось также снижение прироста массы тела к концу опыта и гибель животных.

Монотерапия метотрексатом на протяжении всего опыта сопровождалась уменьшением массы тела животных, диареей, потерей волосяного покрова. Применение метотрексата приводило к достоверному снижению отека на 30 сут от начала его введения, подавляя выраженность воспалительной реакции на 30,6 % ($p < 0,05$), по сравнению с контролем [2]. По окончании 3-месячного курса терапии метотрексатом выраженность воспалительной реакции уменьшилась на 42,3 % ($p < 0,05$), по сравнению с контролем (рис. 1).

Месячный курс терапии ТК приводил к уменьшению отека на 29,1 % ($p < 0,05$) на 45 день эксперимента [2], в конце эксперимента — на 30,4 %, по сравнению с контролем (рис. 1).

Комбинированное применение препаратов приводило к достоверному подавлению выраженности вто-

ричного воспаления лап крыс на 19,9 % уже на 7 сут начала лечения. Дальнейшее введение препаратов сопровождалось повышением эффективности проводимой терапии, что выражалось в подавлении воспаления на 45 сут эксперимента на 47,3 % ($p < 0,05$) [2]. После завершения 3-месячного курса комбинированной терапии выраженность отека уменьшилась на 51,2 % ($p < 0,05$), по сравнению с контролем, что достоверно лучше, чем при монотерапии метотрексатом ($p < 0,05$) (рис. 1).

На 48 и 105 сут эксперимента была проведена рентгенография задних конечностей всех животных [2]. На рис. 2 представлены рентгенограммы задних лап исследуемых крыс на 105 день эксперимента.

Ранее нами показано, что на 45 день эксперимента у нелеченных крыс с АА в периферической крови выявлены лейкоцитоз, анемия, увеличение СОЭ по сравнению с показателями здоровых крыс. Все исследованные показатели периферической крови крыс, получавших ТК в течение 1 мес, статистически не отличались от показателей здоровой группы. Месячная терапия метотрексатом приводила к уменьшению количества

Таблица 2. Показатели поведения животных, получающих терапию ТК, метотрексатом и их комбинацией в тесте “открытое поле” на 45 день эксперимента

Показатель	Интактные	Контроль (АА)	Метотрексат, 1 мг/кг × 4 – 31	ТК, 11 мг/кг × 30 – 31	ТК + метотрексат
Горизонтальная двигательная активность (количество горизонтальных пересечений)	28,25 ± 1,53	19,29 ± 1,99*	20,86 ± 1,02*	27,00 ± 2,50**	27,13 ± 2,92**/**
Количество вертикальных стоек	9,25 ± 0,64	5,71 ± 1,28*	6,86 ± 1,09*	9,13 ± 1,29**	8,75 ± 0,88**
Количество заглядываний в отверстия	16,63 ± 2,94	10,57 ± 1,73*	11,57 ± 0,95*	15,25 ± 1,77**	15,00 ± 1,28**/**
Ориентировочно-исследовательская активность	25,88 ± 2,88	16,28 ± 1,93*	18,43 ± 1,57*	24,38 ± 2,17**	23,75 ± 1,93**/**
Замирание, с	4,88 ± 1,25	10,57 ± 2,17*	7,14 ± 1,61	4,63 ± 1,06**	4,23 ± 1,12**

* $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой;

** $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой;

*** $p < 0,05$ по сравнению с группой, получающей метотрексат.

лейкоцитов в периферической крови по сравнению с контролем, сохранялось снижение содержания гемоглобина по сравнению со здоровой группой. У группы, получавшей комбинированную терапию, показатели периферической крови не отличались от показателей здоровых животных [2].

В конце эксперимента у нелеченных крыс с АА в периферической крови сохранялись сниженное содержание гемоглобина, лейкоцитоз по сравнению с показателями здоровых крыс, тромбоцитоз, относительные: эозинофилия, палочкоядерный и сегментоядерный нейтрофилез, лимфопения, моноцитопения, а также определялся ревматоидный фактор (табл. 1). В связи с большой вариабельностью уровня СОЭ в исследуемой группе определялась ее медиана, которая составила 10 [10; 10], что статистически выше, чем у интактных животных 1 [1; 1].

Применение метотрексата сопровождалось лейкопенией, тромбоцитопенией, сохранением относительного палочкоядерного нейтрофилеза и моноцитопении по сравнению с нелечеными животными, а содержание эритроцитов, гемоглобина, сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, а также медиана СОЭ — 3 [3; 3] статистически не отличались от таковых у здоровых животных. У группы, получавшей ТК, по сравнению с нелечеными крысами с АА, наблюдалась нормализация количества лейкоцитов, тромбоцитов, относительного содержания эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов, сегментоядерных нейтрофилов. В данной опытной группе отмечено увеличение лимфоцитов, моноцитов, уровня гемоглобина, уменьшение медианы СОЭ — 5 [5; 6], по сравнению с нелечеными животными, однако полной нормализации этих показателей не зарегистрировано. Включение ТК в комбинированную терапию АА способствует нормализации показателей периферической крови леченных животных и корригирует тромбоцитопению и лейкопению, вызываемые метотрексатом (табл. 1). Ревматоидный фактор не был выявлен в 3-й, 4-й и 5-й опытных группах.

В тесте “открытое поле” у нелеченных крыс с АА выявлено снижение горизонтальной, вертикальной двигательной и исследовательской активности и повышение тревожности. Показатели горизонтальной, ори-

ентировочно-исследовательской активности, число болюсов дефекации и груминг у животных, получавших метотрексатом, не отличались от показателей группы контроля, за исключением времени замирания. Изученные показатели поведенческих реакций крыс, леченных ТК, статистически не отличались от показателей здоровых крыс. Сочетание ТК и метотрексата способствовало нормализации горизонтальной, ориентировочно-исследовательской активности животных с АА, устраняло тревожность крыс (табл. 2).

В связи с большой вариабельностью числа дефекаций в исследуемых группах определялась медиана, которая у интактных крыс составила 0 [0; 0], в группе, получавшей ТК, — 0 [0; 0,5], в группе комбинированного применения метотрексата и ТК — 0 [0; 1]. Медиана данного исследуемого показателя в контрольной группе составила 2 [2; 3], в группе, получавшей метотрексат, — 1 [1; 2], что достоверно больше, чем у интактных крыс, животных, леченных ТК и получавших комбинированную терапию. Время груминга также отличалось вариабельностью и медиана составляла в группе интактных животных 5,5 [5; 6,5], в группе, получавшей ТК, — 5,5 [5; 6], в группе комбинированного применения метотрексата и ТК — 5 [5; 6,5]. Медиана груминга в контрольной группе составляла 8 [8; 9], в группе, получавшей метотрексат, — 7 [6; 8], что также было достоверно больше, чем у интактных крыс, а также у животных, леченных ТК, и получавших комбинированную терапию.

В тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” у интактных крыс латентное время составляло 24,5 с [22,5; 26,5], число заходов в открытые рукава — 1,5 [1; 2], число дефекаций — 0 [0; 0], время пребывания в открытых рукавах — 41,5 с [34; 50,5], время груминга — 4 с [3,5; 5,5]. У нелеченных животных достоверно увеличивалось латентное время — 36 с [35; 36], число дефекаций — 2 [1; 2], время груминга — 7 с [7; 8]. Уменьшалось число заходов в открытые рукава — 0 [0; 1] и время пребывания в них — 18 с [17; 27] относительно интактных животных. Такое поведение контрольных животных в условиях модели ситуационной тревожности указывает на наличие тревожности. Применение метотрексата не влияло на латентное время — 35 с [33; 42] и число заходов в открытые рукава — 1

Таблица 3. Выживаемость животных с АА в контрольных и опытных группах в разные сроки эксперимента

День опыта	Интактные крысы		Крысы с моделированным АА							
			Контроль		Метотрексат		ТК		Метотрексат + ТК	
	Погибло/выжило	Выживаемость, %	Погибло/выжило	Выживаемость, %	Погибло/выжило	Выживаемость, %	Погибло/выжило	Выживаемость, %	Погибло/выжило	Выживаемость, %
1	0/8	100	0/16	100	0/8	100	0/8	100	0/8	100
45	0/8	100	2/14	87,5	1/7	87,5	0/8	100	0/8	100
90	0/8	100	8/8	50*	3/5	62,5	1/7	87,5	1/7	87,5
105	0/8	100	10/6	37,5*	3/5	62,5	1/7	87,5**	2/6	75

* $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой;

** $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

[0; 1], время груминга — 5 с [5; 7], однако достоверно увеличивало время пребывания в открытых рукавах — 35 с [32; 37], уменьшало число дефекаций — 0 [0; 1], по сравнению с показателями нелеченных крыс. У группы, получавшей ТК, латентное время составляло 28 с [23,5; 31,5], число заходов в открытые рукава — 2 [1; 2], число дефекаций — 0 [0; 0,5], время пребывания в открытых рукавах — 41 с [35; 47], время груминга — 4,5 с [2; 5], в данной группе не выявлено отличий от показателей интактных крыс. У крыс, получавших комбинированную терапию метотрексатом с ТК, исследуемые показатели не отличались от таковых для здоровых животных. У данной группы латентное время составляло 26,5 с [24; 33], число заходов в открытые рукава — 1 [1; 2], число дефекаций — 0 [0; 1], время пребывания в открытых рукавах — 37,5 с [30,5; 52], время груминга — 4,5 с [3; 5,5].

В разные сроки эксперимента развитие АА сопровождалось гибелью опытных животных. Основная масса животных погибла с 54 по 63 день в период обострения заболевания. К 90 дню опыта в контроле погибло 50 % животных, в группе метотрексат — 37,5 %, в группе крыс, получавших ТК, — 12,5 %, в группе комбинированного воздействия — 12,5 %. В конце эксперимента гибель животных в контрольной группе составила 67,5 % относительно интактной группы, в опытной группе, получавшей метотрексат, — 37,5 %, ТК — 12,5 %, в группе комбинированного воздействия — 25 % (табл. 3).

Течение АА характеризовалось симптомами, схожими с симптомокомплексом РА у человека. Как правило, при моделировании АА при изучении противовоспалительных свойств потенциальных лекарственных веществ состояние животных и эффективность терапии исследуются в течение 1 мес [7]. Нами проведено исследование длительного применения лекарственных средств и оценка их эффекта на 105 день эксперимента. Проявления АА у контрольной группы соответствовали классической картине формирования АА [10] с периодом обострения и дальнейшим прогрессированием патологии вплоть до гибели значительной части животных. Показатели периферической крови также свидетельствовали о развитии генерализованного воспалительного процесса у контрольных крыс, что проявлялось в виде анемии, лейкоцитоза с агранулоцитозом и лимфоцитопенией, увеличением СОЭ и тромбоцитоза, а также определялся ревматоидный фактор, что свидетельствует о тяжести, прогрессировании патологического процесса при АА. Рентгенологическая картина суставов соответствовала ярко выраженному патологическому процессу в суставах (рис. 2). Анализ поведения крыс в тестах “открытое поле” и “приподнятый крестообразный лабиринт” показал, что в контроле была снижена горизонтальная двигательная, ориентировочно-исследовательская активность, установлен высокий уровень тревожного поведения. Результаты наших исследований по оценке

двигательной активности животных с АА коррелируют с результатами [6]. Монотерапия метотрексатом в исследуемой дозе подавляла аутоиммунное воспаление, однако не нормализовала поведение животных в тестах “открытое поле” и “приподнятый крестообразный лабиринт”. Метотрексат оказывал угнетающее действие на кроветворение, вызывал облысение, диарею, снижение массы тела. При рентгенологическом исследовании выявлены патологические изменения хрящевой и костной ткани. В отличие от контрольных крыс, у которых регистрировалось сужение всех суставных щелей конечностей, у животных, леченных метотрексатом, имелись сужения лишь межфаланговых суставов всех пальцев (рис. 2).

Применение ТК уменьшало аутоиммунное воспаление, показатели периферической крови улучшались по сравнению с контрольной группой, но полной их нормализации не происходило. Рентгенологическая картина соответствовала патологическим изменениям хрящевой и костной ткани при АА, но, в отличие от контроля, имелись сужения суставных щелей только межфаланговых и плюснефаланговых суставов (рис. 2). ТК полностью корригировала тревогу, восстанавливала двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность экспериментальных животных, увеличивала выживаемость животных с АА в 2,3 раза по сравнению с контролем.

Комбинированная терапия метотрексатом и ТК была более эффективна по сравнению с монотерапией, что проявлялось в более выраженном подавлении аутоиммунного воспаления, нормализации показателей периферической крови с улучшением рентгенологической картины суставов экспериментальных животных, у которых были менее выражены региональный остеопороз, сужение суставных щелей, наблюдались лишь единичные кистовидные просветления (рис. 2). Поведение животных данной группы, оцененное в тестах “открытое поле” и “приподнятый крестообразный лабиринт”, не отличалось от поведения здоровых крыс.

Результаты экспериментальных исследований подтверждаются данными наших клинических наблюдений, свидетельствующих об эффективности применения ТК в терапии РА [1].

ВЫВОД

Комбинированное применение ТК с препаратом базисной терапии РА метотрексатом значительно улучшает отдаленные результаты фармакотерапии моделированного адьювантного артрита.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Н. Гайнетдинова, Л. Н. Залялютдинова, Д. И. Абдулганиева и др., *XXII Российский национальный конгресс “ЧЕЛОВЕК И ЛЕКАРСТВО”*, Москва (2015), 160 – 161.
2. А. Н. Гайнетдинова, Л. Н. Залялютдинова, Д. И. Абдулганиева и др., *Практ. мед.*, 2(4), 19 – 23 (2015).
3. Л. Н. Залялютдинова, Н. М. Насыбуллина, Е. Ю. Захматова и др., *Медико-социальная экология личности: состояние и*

- перспективы, Материалы II международной конференции, Минск (2004), сс. 168 – 169.*
4. Л. Н. Залялютдинова, А. Я. Сабирова, Д. А. Насыбуллина, *Инновация РАН-2010. Материалы ежегодной научно-практической конференции, Казань (2010), сс. 243 – 246.*
 5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, Часть первая, А. Н. Миронов (ред.), Москва (2012).*
 6. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005).*
 7. С. С. Наумов, К. В. Ломоносова, Э. Б. Арушанян, *Мед. вестник Северного Кавказа, № 3, 274 – 278 (2015).*
 8. A. O. Abdel-Zaher, R. H. Abdel-Hady, M. M. Mahmoudetal, *Toxicology, 243(3), 261 – 270 (2008).*
 9. E. Zvereva, L. Zalyalyutdinova, R. Zverev, R. Garaev, *Fundamental pharmacology and pharmacy — clinical practice, Materials of the 2-nd Russian-Chinese international scientific conferences on pharmacology, Perm (2006), pp. 65 – 67.*
 10. K. Yudoh, K. Shishido, H. Murayama, et al., *Int. J. Nanomedicine, № 4, 217 – 225 (2009).*
 11. S. Park, U. Karunakaran, N. H. Jeoung, et al., *Cur. Med. Chem., 21(32), 3636 – 3645 (2014).*

Поступила 20.06.16

RESULTS OF LONG-TERM COMBINED ADMINISTRATION OF THIOCTIC ACID AND METHOTREXATE IN ANIMALS WITH ADJUVANT ARTHRITIS MODEL

L. N. Zalyalyutdinova, A. N. Gainetdinova, D. I. Abduganieva, and L. R. Ul'yanina

Kazan State Medical University, ul. Butlerova 49, Kazan, Tatarstan, 420012 Russia

The article presents the results of studying long-term combined administration of methotrexate (1 mg/kg i.p., once per week for 3 months), and thioctic acid (11 mg/kg i.p., daily for 1 month) in rats with simulated adjuvant arthritis (AA) in comparison to separate monotherapy with thioctic acid and methotrexate. The criteria of effective treatment were (i) survival of test animals, (ii) paw plethysmometry indices, (iii) laboratory parameters of peripheral blood, and (iv) x-ray examination of joints. The functional state of the central nervous system of rats was evaluated on 45th day using standard behavioral tests, including open-field and elevated-plus-maze tests. The combined treatment completely normalized the emotional response of animals in the model of situational anxiety. The combined administration of methotrexate and thioctic acid significantly improved results of the long-term treatment of simulated AA, produced 1.58-times stronger suppression of secondary autoimmune inflammation, and increased survival as compared to 3-month methotrexate monotherapy.

Keywords: adjuvant arthritis; thioctic acid; methotrexate; rats; combined therapy.