

УДК 616.72-002-085-092.9(045)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-59872025130-36>

Експериментальне обґрунтування синергічного ефекту CO₂ у поєднанні з диклофенаком натрію і хондроїтину сульфатом для застосування в консервативному лікуванні остеоартриту

В. В. Штробля

Ужгородський національний університет. Україна

Osteoarthritis (OA) is a chronic degenerative disease characterized by cartilage destruction, inflammation, and autoimmune processes. The limited effectiveness of current therapies has generated interest in alternative approaches, such as carboxytherapy, which possesses anti-inflammatory and regenerative properties. Objective. To evaluate the effects of carboxytherapy (CO₂) in mono- and combination therapy on a carrageenan-induced model of inflammation in rats by assessing leukocyte differential counts and integral indices. Methods. The study was conducted on 56 white rats divided into 7 groups (n = 8): control (intact and carrageenan-induced), mono- and combination therapy with CO₂ in conjunction with diclofenac or chondroitin. Changes in the leukocyte differential counts and integral indices (NMR, NLR, LSI, LI, IIR) were evaluated. Results. CO₂ monotherapy (Group V) reduced the NMR (Neutrophil-to-Monocyte Ratio) by 25.4 % (15.60 ± 2.95 vs. 20.92 ± 8.89 in Group II, p < 0.001). The Leukocyte Index (LI) increased by 82.2 % (1.471 ± 0.155 vs. 1.791 ± 0.191, p = 0.001). The combination of CO₂ with diclofenac (Group VI) reduced NMR by 68.3 % (6.61 ± 2.72, p < 0.001) and increased LI by 103.1 % (3.637 ± 0.770, p < 0.001). CO₂ combined with chondroitin (Group VII) reduced the NLR (Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio) by 48.6 % (0.290 ± 0.0938, p < 0.001) and increased LI by 121.7 % (3.847 ± 1.421, p < 0.001). In Groups VI and VII, there was a significant decrease in band neutrophils (by 79.2 % and 75.0 %, respectively) and an increase in lymphocytes (by 72.2 % and 70.9 %, p < 0.001). Conclusions. Carboxytherapy modulates the inflammatory response and enhances the immune response. The best results were observed with combined CO₂ therapy with diclofenac or chondroitin, confirming their potential in reducing inflammation and stimulating regeneration. Key words. Carboxytherapy, carbon dioxide, inflammation, neutrophils, lymphocytes, diclofenac, chondroitin sulfate, carrageenan model.

Остеоартрит (ОА) — хронічне дегенеративне захворювання суглобів, патогенез якого пов'язаний із запаленням і дисфункцією імунної системи. У свою чергу, карбокситерапія (CO₂) є перспективним методом лікування остеоартриту завдяки своїм протизапальним і регенеративним властивостям. Мета. Оцінити вплив карбокситерапії як монотерапії та в комбінації з диклофенаком натрію та хондроїтину сульфатом на показники лейкоцитарної формули, інтегральні індекси запалення й імунної відповіді у щурів із карагеніновою моделлю запалення. Методи. Дослідження проведено на 56 білих щурів, поділених на 7 груп (n = 8). Для моделювання запалення використовували карагенін. Групи отримували CO₂ (0,5 мл), диклофенак натрію (4–8 мг/кг), хондроїтину сульфат (3 мг/кг) або їх комбінації. Аналіз лейкоцитарної формули проводили за стандартною методикою; розраховували інтегральні індекси лейкограми (ІСНМ, ІСЛМ, ІСНЛ, ІЗЛ, ЛІ). Дані обробляли за допомогою дисперсійного аналізу (p < 0,05). Результати. Монотерапія CO₂ знизилася ІСНМ на 25,4 % (p < 0,001) та ІСНЛ на 46,9 % (p < 0,001), тоді як комбіноване застосування CO₂ із диклофенаком натрію зменшило ІСНМ на 68,3 % (p < 0,001) і підвищило ЛІ на 103,1 % (p < 0,001). CO₂ із хондроїтину сульфатом знизив ІСНМ на 45,5 % (p = 0,026), а ЛІ зріс на 121,7 % (p < 0,001). Частка лімфоцитів у групі CO₂ + диклофенак натрію збільшилася на 42,9 % (p < 0,001), що вказує на активацію адаптивного імунітету. Висновки. Карбокситерапія ефективно модулює запальні процеси, знижуючи нейтрофільну активність і посилюючи адаптивну імунну відповідь. Комбінація CO₂ із диклофенаком натрію або хондроїтину сульфатом демонструє синергічний ефект, що дозволяє зменшити дози традиційних препаратів і мінімізувати побічні ефекти. Отримані результати підтверджують перспективність використання CO₂-терапії у лікуванні остеоартриту.

Ключові слова. Карбокситерапія, вуглекислий газ, запалення, нейтрофіли, лімфоцити, диклофенак натрію, хондроїтину сульфат, карагенінова модель

Вступ

Остеоартрит (ОА) — це хронічне дегенеративне захворювання суглобів, патогенез якого ще до кінця не вивчено. Його характеризують руйнування хряща, утворення остеофітів і запальні процеси [1]. Раніше ОА вважали хворобою, спричиненою переважно механічним зношуванням суглобів. Проте сучасні дослідження підкреслюють значну роль імунної системи в його розвитку. Інфільтрація імунних клітин у суглоб, продукція запальних медіаторів і автоімунні процеси свідчать про те, що ОА має імунологічну природу [2].

Доведено, що вивільнення прозапальних медіаторів (цитокінів, адипокінів, факторів росту) визначає запальні реакції у тканинах суглобів, які супроводжуються втратою їхньої структури та функції [3].

Дослідження показали, що зміни гематологічних показників, зокрема рівнів лейкоцитів (нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів) та тромбоцитів, а також ширини розподілу еритроцитів і вмісту білків гострої фази, можуть відображати ступінь системної запальної реакції за ОА [4, 5]. На цій основі запропоновано використовувати різні співвідношення клітинних елементів крові, нейтрофілів до лімфоцитів (NLR) або моноцитів до лімфоцитів (MLR), як маркери, які корелюють із перебігом ОА [6]. Дослідження гематологічних показників є зручним, малоінвазивним та економічно доступним способом виявлення системного запалення в разі остеоартриту [4].

Сучасне лікування ОА здебільшого включає хондропротектори, нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), а в разі прогресування — артропластику [7]. Останнім часом усе більше уваги приділяють використанню натуральних речовин, які блокують молекули, залучені в прогресування запалення та руйнування хряща [8]. Сучасна терапія дедалі більше орієнтована на комплексний підхід, доповнений альтернативними методиками лікування [7].

Одним із перспективних напрямів у лікуванні ОА є карбокситерапія — метод, заснований на введенні вуглекислого газу (CO₂). Цей підхід привертає увагу завдяки протизапальним і регенеративним властивостям CO₂ [9]. Механізм дії включає поліпшення мікроциркуляції, стимуляцію метаболізму тканин та активацію регенеративних процесів [10]. Введення CO₂ сприяє розширенню судин, покращує транспорт кисню до тканин і видалення продуктів метаболізму [11, 12].

Передбачається, що CO₂ може чинити протизапальну дію, модулюючи імунну відповідь і сприяючи відновленню ушкоджених тканин [13, 14]. Проте механізми дії CO₂ під час лікування ОА залишаються недостатньо вивченими.

Мета: оцінити вплив карбокситерапії як у вигляді монотерапії, так і в комбінації з традиційними протизапальними препаратами (диклофенаком натрію та хондроїтину сульфатом) на показники лейкоцитарної формули й інтегральні індекси інтоксикації в разі карагенінового запалення у щурів.

Дослідження має на меті з'ясувати, чи здатна карбокситерапія модулювати запальні процеси та сприяти регенерації тканин, а також вивчити її здатність посилювати протизапальну дію традиційних препаратів. Ми припускаємо, що комбінована терапія сприятиме ефективнішій імунній відповіді, зниженню запальної активності й запуску процесів відновлення, що може стати основою для розробки нових терапевтичних підходів у лікуванні остеоартриту.

Матеріал і методи

Дослідження, проведене на базі віварію Полтавського державного медичного університету, схвалено етичними комітетами Полтавського державного університету (протокол № 225 від 21.03.2024 р.) і Ужгородського національного університету (протокол № 9/2 від 7.06.2023 р.). Усі процедури відповідали основним положенням Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях, а також Директиві 2010/63/ЄС Європейського парламенту та Ради ЄС.

Цей фрагмент входить в ініціативну науково-дослідну тему кафедри фармакології, клінічної фармакології та фармації Полтавського державного медичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів для розробки та оптимізації показань до їхнього застосування в медичній практиці» (№ державної реєстрації 0120U103921), а також науково-дослідної теми кафедри загальної хірургії Державного вищого навчального закладу «Ужгородський національний університет» «Моніторинг травматичної хвороби на фоні хронічного стресу» (№ державної реєстрації 0124U002167).

У дослідженні використовували 56 білих щурів (n = 56), масою 285–315 г, із яких 34 (60,7 %) — самиці. Тварин утримували в стандартних умовах віварію за температури (22 ± 2)° С, відносної

вологості (55 ± 5) % та 12-годинному світловому режимі. Вони мали вільний доступ до води та стандартного корму. Тварини були рандомізовані та розподілені на 7 груп по 8 щурів у кожній ($n = 8$): група I — інтактний контроль (фізіологічний розчин); група II — контрольна патологія (карагенін 1 %, 0,1 мл); група III — контрольна патологія + диклофенак натрію (8 мг/кг, внутрішньочеревинно); група IV — контрольна патологія + хондроїтину сульфат (3 мг/кг, внутрішньочеревинно); група V — контрольна патологія + вуглекислий газ (CO_2 , 0,5 мл, п/ш); група VI — контрольна патологія + диклофенак натрію (4 мг/кг) + CO_2 (0,5 мл); група VII — контрольна патологія + хондроїтину сульфат (3 мг/кг) + CO_2 (0,5 мл).

Для моделювання гострого запалення використовували карагенінову модель на щурах. Тваринам субплантарно вводили 1 % розчин карагеніну в об'ємі 0,1 мл. Диклофенак натрію у дозах 8 і 4 мг/кг, і хондроїтину сульфат у дозі 3 мг/кг, вводили внутрішньочеревинно за годину до проведення карагенінового тесту. Підшкірне введення CO_2 здійснювали за допомогою апарата INDAP Insuf (Чеська Республіка) з використанням голки BD Mikrolance 3,30 G $\frac{1}{2}$ 0,3 \times 13 мм у дозі 0,5 мл на тварину за годину до введення карагеніну. Групі інтактного контролю вводили фізіологічний розчин в еквівалентному об'ємі.

Через 6 год після уведення карагеніну щурів піддавали евтаназії під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг), проводили забір крові з серця до його зупинки. Кров фіксували в пробірках із нашаруванням 2-х заміщеною сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти. Для цитологічного дослідження готували мазки крові, які фіксували та фарбували за стандартною методикою Романовського-Гімзи. Їх аналіз проводили за допомогою світлового мікроскопа з імерсійною системою (об'єктив $\times 100$, окуляр $\times 10$). Підраховували кількість лейкоцитів різних видів у полі зору на 100 клітин (клітин/мкл).

Для виявлення інтенсивності запального процесу та загального стану імунної системи розраховували наступні інтегральні лейкоцитарні індекси: ІСНМ (співвідношення нейтрофілів і моноцитів = нейтрофіли/моноцити); ІСЛМ (співвідношення лімфоцитів і моноцитів = лімфоцити/моноцити); ІСНЛ (співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів = (паличкоядерні нейтрофіли + сегментоядерні нейтрофіли)/лімфоцити); ІЗЛ (індекс зсуву лейкоцитів = (еозинофіли + базофіли + сегментоядерні нейтрофіли + паличкоядерні нейтрофіли) / (лімфоцити + моноцити)); ЛІ

(лейкоцитарний індекс = лімфоцити/нейтрофіли); ІІР (індекс імунорезистентності) = (лімфоцити + еозинофіли)/моноцити [15, 16].

Цифрові дані обробляли за допомогою програми Jamovi версії 2.3.21. Результати подано як середні значення \pm стандартне відхилення. Для перевірки нормальності використовували тест Shapiro-Wilk. Порівняння груп виконували застосовуючи t-тест Велча або тест Тьюкі за нормального розподілу, а для ненормальних розподілів — критерій Крускала-Волліса з поправкою Бонферроні. Статистично значущими вважали результати за $p < 0,05$.

Результати

Аналіз результатів (табл. 1 і 2) демонструє модулюючий ефект CO_2 на гемограму, який виявляється у зміні як окремих лейкоцитарних показників, так й інтегральних індексів.

У таблицях наведено відносні показники. Значення подано у відсотках на 100 клітин, а « $< 0,01$ » вказує на рівень, який не перевищує межі виявлення методом аналізу. Статистичне дослідження проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу з наступним апостеріорним тестом Тьюкі. Статистично значущу різницю $***p < 0,001$, $**p < 0,01$, $*p < 0,05$ порівняно з групою контрольної патології (карагенін).

Із метою пошуку нових ефективних методик лікування запальних захворювань проведено дослідження, спрямоване на вивчення протизапальної активності комбінованої терапії традиційних препаратів із використанням CO_2 та аналізу змін у лейкоцитарній формулі й імунних індексах, що дозволило виявити механізми позитивного впливу CO_2 під час його застосування в складі як моно-, так і комплексної терапії з традиційними ліками. Отримані результати можуть сприяти розвитку нових підходів до лікування остеоартриту й інших захворювань, пов'язаних із запальними процесами.

У групі II (карагенін) спостерігалось підвищення рівня нейтрофілів: паличкоядерних — на 12,0 %, сегментоядерних — на 24,4 %, а частка лімфоцитів знизилася на 30,1 % порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,05$). ІСНМ зріс майже втричі (на 190,9 %, $p < 0,001$), ІСНЛ — на 97,2 % ($p < 0,001$), а ІЗЛ — на 118,5 % ($p < 0,001$), що свідчить про активацію гострої фази запалення.

У групі III (диклофенак) спостерігалось зменшення нейтрофільної активності: паличкоядерні нейтрофіли знизилися на 62,8 %, сегментоядер-

ні — на 24,6 %, тоді як частка лімфоцитів зросла на 31,9 % ($p < 0,001$). ІСНМ зменшився на 28,6 % ($p < 0,001$), ІСНЛ — на 47,3 % ($p < 0,001$), а ІЗЛ — на 43,9 % ($p < 0,001$), що свідчить про зниження інтенсивності запалення й активацію адаптивно-го імунітету.

У групі IV (хондроїтину сульфат) відзначено найвищий рівень сегментоядерних нейтрофілів, який зріс на 52,9 % ($p < 0,001$), тоді як лімфоцити

знизилися на 23,3 % ($p < 0,001$) порівняно з групою II. ІСНМ та ІСНЛ залишалися на високому рівні, що вказує на посилення нейтрофільної відповіді, характерної для гострого запалення.

У групі V (монотерапія CO₂) спостерігалось зниження ІСНМ на 25,4 % ($p < 0,001$), ІСНЛ — на 46,9 % ($p < 0,001$), а ІЗЛ — на 43,5 % ($p = 0,015$), що свідчить про зменшення нейтрофільної активності.

Таблиця 1

Вплив карбокситерапії на лейкоцитарну формулу за карагенінового запалення у щурів (M ± SD, n = 8)

Група тварин	Змінено, %	Паличкоядерні нейтрофіли, %	Сегментоядерні нейтрофіли, %	Еозинофіли, %	Моноцити, %	Базофіли, %	Лімфоцити, %
Інтактна	не виявлено (< 0,01) ± 0	не виявлено (< 0,01) ± 0	21,60 ± 3,543	2,13 ± 0,641	3,13 ± 0,991	не виявлено (< 0,01) ± 0	73,00 ± 3,550
II	12,00 ± 0,586	4,38 ± 0,916	24,40 ± 3,623	6,00 ± 1,069	1,75 ± 1,035	0,125 ± 0,354	51,00 ± 2,730
III	5,25 ± 1,035	1,63 ± 0,518***	18,40 ± 1,408**	5,38 ± 1,923	1,50 ± 0,535	0,125 ± 0,354	67,30 ± 1,040***
IV	3,75 ± 1,282	3,50 ± 0,756	37,30 ± 3,732***	14,00 ± 2,507***	3 ± 0,756	не виявлено (< 0,01) ± 0	39,10 ± 2,170***
V	3,00 ± 1,195	2,75 ± 1,165**	33,00 ± 0,926***	6,50 ± 1,309	2,38 ± 0,518	не виявлено (< 0,01) ± 0	52,40 ± 3,160
VI	не виявлено (< 0,01) ± 0	2,50 ± 1,309***	18,30 ± 2,765**	3,38 ± 0,518*	3 ± 1,069	не виявлено (< 0,01) ± 0	72,90 ± 2,590***
VII	0,50 ± 0,535	3,00 ± 0,756*	17,60 ± 5,097**	4,25 ± 1,488	2,50 ± 1,604	не виявлено (< 0,01) ± 0	72,40 ± 4,720***
Вірогідні міжгрупові відмінності	$\chi^2 = 51,20$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 37,90$ $p < 0,001$	F = 118,00 $p < 0,001$	F = 38,40 $p < 0,001$	F = 5,23 P = 0,002	$\chi^2 = 5,09$ $p = 0,532$	F = 224,00 $p < 0,001$
Normality Test (Shapiro-Wilk)	W = 0,836 $p < 0,001$	W = 0,955 $p = 0,036$	W = 0,988 $p = 0,862$	W = 0,968 $p = 0,149$	W = 0,982 $p = 0,589$	W = 0,382 $p < 0,001$	W = 0,991 $p = 0,953$

Примітки: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

Таблиця 2

Вплив карбокситерапії на інтегральні індекси імунної відповіді у щурів у разі карагенінового запалення (M ± SD, n = 8)

Група тварин	ІСНМ	ІСЛМ	ІСНЛ	ІЗЛ	ЛІ	ІП
Інтактна	7,19 ± 2,31	25,4 ± 7,75	0,286 ± 0,0603	0,303 ± 0,0651	3,623 ± 0,738	26,1 ± 7,97
II	20,92 ± 8,89	38,3 ± 17,90	0,564 ± 0,0660	0,662 ± 0,0486	1,791 ± 0,191	43,0 ± 20,24
III	14,94 ± 5,27	50,5 ± 18,20	0,297 ± 0,0220***	0,371 ± 0,0279***	3,376 ± 0,246***	54,9 ± 20,75
IV	14,53 ± 4,78	13,8 ± 3,79	1,048 ± 0,1502***	1,306 ± 0,1472	0,970 ± 0,124	18,7 ± 4,81
V	15,60 ± 2,95	23,0 ± 5,08	0,686 ± 0,0738*	0,776 ± 0,0835	1,471 ± 0,155	25,9 ± 5,67
VI	6,61 ± 2,72***	22,7 ± 5,86	0,286 ± 0,0641***	0,318 ± 0,0587***	3,637 ± 0,770***	23,7 ± 6,04
VII	11,47 ± 8,69*	37,1 ± 22,89	0,290 ± 0,0938***	0,337 ± 0,0843***	3,847 ± 1,421***	39,0 ± 23,44
Вірогідні міжгрупові відмінності	F = 11,40 $p < 0,001$	F = 9,32 $\chi^2 = 25,7$ $p < 0,001$	$\chi^2 = 44,1$ $p < 0,001$	F = 101,00 $p < 0,001$	$\chi^2 = 44,1$ $p < 0,001$	F = 5,63 $p = 0,001$
Normality Test (Shapiro-Wilk)	W = 0,983 $p = 0,594$	W = 0,963 $p = 0,086$	W = 0,942 $p = 0,010$	W = 0,985 $p = 0,687$	W = 0,917 $p < 0,001$	W = 0,973 $p = 0,244$

Примітки: * — $p < 0,05$; *** — $p < 0,001$.

Комбінація CO₂ із диклофенаком натрію (група VI) забезпечила зниження ІСНМ на 68,3 % (p < 0,001), ІСНЛ — на 49,3 % (p < 0,001), а ІЗЛ — на 51,9 % (p < 0,001). ЛІ зріс на 103,1 % (p < 0,001), а частка лімфоцитів — на 42,9 % (p < 0,001), що підтверджує активацію адаптивного імунітету.

У групі VII (CO₂ + хондроїтину сульфат) ІСНМ знизився на 45,5 % (p = 0,026), ІСНЛ — на 48,6 % (p = 0,014), а ІЗЛ — на 49,1 % (p < 0,001). ЛІ зріс на 121,7 % (p < 0,001), а частка лімфоцитів збільшилася на 42,0 % (p < 0,001), що свідчить про зниження запалення й активацію імунної відповіді.

Порівняння груп III (диклофенак натрію) та VI (диклофенак натрію + CO₂) показало, що комбінована терапія значно посилює протизапальний ефект. ІСНМ у групі VI знизився на 55,8 % порівняно з групою III (p < 0,001), ІСНЛ — на 3,7 % (p < 0,001), а ІЗЛ — на 14,3 % (p < 0,001). ЛІ зріс на 7,7 % (p < 0,05), а частка лімфоцитів збільшилася на 8,3 % (p < 0,001). Ці результати свідчать про синергічну дію CO₂ із диклофенаком, яка знижує нейтрофільну активність і підсилює адаптивну імунну відповідь.

Порівняння груп IV (хондроїтину сульфат) та VII (хондроїтину сульфат + CO₂) демонструє подібну тенденцію. ІСНМ у групі VII знизився на 21,1 % порівняно з групою IV (p < 0,05), ІСНЛ — на 72,3 % (p < 0,001), а ІЗЛ — на 25,8 % (p < 0,001). ЛІ збільшився на 194,2 % (p < 0,001), а частка лімфоцитів зросла на 85,2 % (p < 0,001). Ці зміни підтверджують, що додавання CO₂ до хондроїтину посилює протизапальний ефект і значно активізує адаптивну імунну відповідь.

Отримані результати підкреслюють, що CO₂ має важливе значення як у монотерапії, так і в комбінації з протизапальними препаратами, посилюючи їхній ефект і сприяючи зменшенню запальної активності.

Обговорення

Проведені нами дослідження підтверджують, що карбокситерапія (CO₂) є перспективною методикою в модулюванні запальних і регенераторних процесів. Спостереження також показало, що комбіноване застосування CO₂ із диклофенаком натрію або хондроїтину сульфатом є більш ефективним щодо зниження запальної активності та посилення адаптивної імунної відповіді, ніж використання кожного компонента окремо. Найбільший ефект продемонстровано за умов комбінованої терапії CO₂ із диклофенаком, де спостерігалось зниження показника ІСНМ на 68,3 % (p < 0,001) та підвищення ЛІ на 103,1 % (p < 0,001)

порівняно з групою патології. У групі «CO₂ + хондроїтину сульфат» ІСНМ зменшився на 45,5 % (p = 0,026), а ЛІ зріс на 121,7 % (p < 0,001). Важливо, що CO₂ посилює протизапальну дію традиційних препаратів, дозволяючи зменшити їхню дозування у 2 рази і, таким чином, знизити ризик побічних ефектів. Подібний синергічний ефект CO₂ також спостерігався в клінічних дослідженнях за участі пацієнтів із посттравматичними та післяопераційними ураженнями [9]. Механізми дії CO₂ включають зниження активності NF-κB і MAPK, що пригнічує експресію прозапальних цитокінів [17, 18]. Крім того, гіперкапнічний ацидоз інгібує ERK1/2, сприяючи зменшенню запальної відповіді, що підтверджує роль CO₂ у модуляції клітинного метаболізму [19].

CO₂ активно досліджується та застосовується в багатьох галузях медицини, бо сприяє прискоренню загоєння переломів і підвищенню міцності кісток за рахунок стимуляції мікроциркуляції, оксигенації тканин, а також зниженню рівнів прозапальних цитокінів (HIF-1α, IL-1β, IL-6) і підвищенню експресії факторів, які продукують регенерацію (VEGF, TGF-β) [20]. Дослідження P. Chou та співавторів продемонструвало, що використання децелюляризованої матриці, обробленої супер критичним CO₂, у поєднанні зі стовбуровими клітинами значно покращує регенерацію тканин і зменшує запалення. Це підтверджує потенціал CO₂ у стимуляції репаративних процесів [21]. У терапії м'язових ушкоджень застосування CO₂-пасти сприяє підвищенню експресії MyoD і міогеніну, зниженню рівнів IL-1β, IL-6 і TGF-β, а також прискоренню регенерації м'язів через індукцію ефекту Бора [22]. Крім того, використання CO₂ стимулює ангиогенез шляхом регуляції експресії VEGF і TGF-β, що в свою чергу покращує репарацію та відновлення ушкоджених тканин [23, 24]. Таким чином, наявні дані демонструють широкий терапевтичний потенціал застосування вуглекислого газу завдяки його здатності модулювати ключові молекулярні та клітинні процеси, які лежать в основі репаративних механізмів в організмі.

Використання карбокситерапії в ортопедії стає все більш актуальним завдяки її здатності модулювати запальні та регенераторні процеси. Остеоартрит та інші дегенеративні захворювання суглобів часто супроводжуються хронічним запаленням, порушенням кровообігу та прогресуючим ушкодженням хрящової тканини. Оскільки нейтрофіли відіграють центральну роль у патофізіології остеоартриту, модулюючий ефект CO₂ на

їхню активність через вплив на рН та пригнічення NF-κB відкриває нові перспективи для терапевтичного втручання [25]. Крім того, CO₂ посилює протизапальну дію традиційних препаратів, дозволяючи зменшити їх дозування та знизити ризик побічних ефектів. Таким чином, використання карбокситерапії в ортопедії має важливе значення для індивідуалізованого й ефективного лікування остеоартриту та інших дегенеративних захворювань суглобів.

Висновки

Карбокситерапія продемонструвала значний протизапальний ефект на карагеніновій моделі запалення. Застосування CO₂ як монотерапії знизило індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів на 25,4 % ($p < 0,001$), індекс нейтрофілів і лімфоцитів на 46,9 % ($p < 0,001$) та індекс зсуву лейкоцитів на 43,5 % ($p = 0,015$), що свідчить про зменшення нейтрофільної активності.

Комбінація CO₂ із диклофенаком знизила індекс співвідношення нейтрофілів і моноцитів на 68,3 % ($p < 0,001$) та індекс нейтрофілів і лімфоцитів на 49,3 % ($p < 0,001$), водночас підвищивши лейкоцитарний індекс на 103,1 % ($p < 0,001$). Комбінація CO₂ із хондроїтином також продемонструвала позитивний ефект: зниження індексу співвідношення нейтрофілів і моноцитів на 45,5 % ($p = 0,026$), індексу нейтрофілів і лімфоцитів на 48,6 % ($p = 0,014$) та підвищення лейкоцитарного індексу на 121,7 % ($p < 0,001$). Ці результати вказують на посилення протизапальної дії традиційних препаратів за рахунок додавання CO₂.

Застосування CO₂ сприяло підвищенню частки лімфоцитів на 42,9 % ($p < 0,001$) у групі CO₂ + диклофенак натрію і на 42,0 % ($p < 0,001$) у групі CO₂ + хондроїтину сульфат, що свідчить про активацію адаптивної імунної відповіді.

Отримані результати на карагеніновій моделі запалення в тварин підтверджують перспективність комбінованого застосування карбокситерапії із диклофенаком чи хондроїтином для модулювання запальних процесів. Ураховуючи ефективність зниження рівня нейтрофільної активності, покращення інтегральних індексів і стимуляцію адаптивної імунної відповіді, подальші дослідження в клініці є доцільними.

Перспективне використання такої комбінованої терапії може забезпечити більш цілеспрямовану корекцію запального процесу в пацієнтів із дегенеративними захворюваннями суглобів, зокрема артрозом колінного та кульшового суглобів. Це дозволить зменшити дозування тради-

ційних протизапальних препаратів, мінімізувати побічні ефекти й посилити регенеративні процеси в уражених тканинах.

Конфлікт інтересів. Автор декларує відсутність конфлікту інтересів.

Перспективи подальших досліджень. Передбачається проведення доклінічного дослідження на моделі моноїод-ацетат-індукованого остеоартрозу (MIA-OA) для оцінки ефективності карбокситерапії як у монотерапії, так і у комбінації з диклофенаком або хондроїтином. У рамках дослідження буде здійснено оцінку впливу комбінованого застосування CO₂ на основні механізми запалення в суглобах, зокрема: аналіз експресії ключових прозапальних цитокінів (IL-1β, IL-6, TNF-α) для визначення протизапального ефекту комбінованого використання карбокситерапії та її потенційної здатності знижувати рівень хронічного запалення у суглобових тканинах і оцінки рівня трансформуючого фактора росту β (TGF-β), з метою визначення впливу CO₂ та його комбінацій на стимуляцію відновлення хрящової тканини.

Інформація про фінансування. Автор заявляє про відсутність фінансової зацікавленості при підготовці даної статті. Це дослідження не отримало зовнішнього фінансування.

Внесок авторів. Автор виконав усю роботу, пов'язану з підготовкою цієї статті.

Список літератури

- Allen, K. D., Thoma, L. M., & Golightly, Y. M. (2022). Epidemiology of osteoarthritis. *Osteoarthritis and cartilage*, 30(2), 184–195. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2021.04.020>
- Woodell-May, J. E., & Sommerfeld, S. D. (2020). Role of inflammation and the immune system in the progression of osteoarthritis. *Journal of orthopaedic research*, 38(2), 253–257. <https://doi.org/10.1002/jor.24457>
- Mukherjee, A., & Das, B. (2024). The role of inflammatory mediators and matrix metalloproteinases (MMPs) in the progression of osteoarthritis. *Biomaterials and biosystems*, 13, 100090. <https://doi.org/10.1016/j.bbiosy.2024.100090>
- Lee, J. M., Lim, S., Kang, G., Chung, J. Y., Yun, H. W., Jin, Y. J., Park, D. Y., & Park, J. Y. (2024). Synovial fluid monocyte-to-lymphocyte ratio in knee osteoarthritis patients predicts patient response to conservative treatment: a retrospective cohort study. *BMC musculoskeletal disorders*, 25(1), 379. <https://doi.org/10.1186/s12891-024-07475-1>
- Gao, K., Zhu, W., Liu, W., Ma, D., Li, H., Yu, W., Wang, L., Cao, Y., & Jiang, Y. (2019). Diagnostic value of the blood monocyte-lymphocyte ratio in knee osteoarthritis. *The Journal of international medical research*, 47(9), 4413–4421. <https://doi.org/10.1177/0300060519860686>
- Zhou, Q., Liu, J., Xin, L., Hu, Y., & Qi, Y. (2024). Systemic inflammation response index as an emerging biomarker in osteoarthritis patients: a bibliometric and large sample retrospective investigation. *Clinical and experimental rheumatology*, 42(1), 92–103. <https://doi.org/10.55563/clinexprheumatol/tygnk6>
- Lutsenko, R., Moisieva, N., Sydorenko, A., Ostrovska, H., & Kapustianska, A. (2023). Ways to promote the efficiency of herpetic stomatitis treatment. *Medical Perspectives*, 28(2), 71–76. <https://doi.org/10.26641/2307-0404.2023.2.283255>
- Harmalkar, D. S., Sivaraman, A., Nada, H., Lee, J., Kang, H., Choi, Y., ... & Lee, K. (2024). Natural products as IL-6 inhibitors for inflammatory diseases: Synthetic and SAR perspective. *Medicinal research reviews*, 44(4), 1683–1726. <https://doi.org/10.1002/med.22022>
- Ratano, S., Jovanovic, B., & Ouabo, E. C. (2023). Effects of the percutaneous carbon dioxide therapy on post-surgical

- and post-traumatic hematoma, edema and pain. *Journal of orthopaedic case reports*, 13(12), 11–17. <https://doi.org/10.13107/jocr.2023.v13.i12.4058>
10. Brochado, T. M. M., de Carvalho Schweich, L., Di Pietro Simões, N., Oliveira, R. J., & Antonioli-Silva, A. C. M. B. (2019). Carboxytherapy: Controls the inflammation and enhances the production of fibronectin on wound healing under venous insufficiency. *International wound journal*, 16(2), 316–324. <https://doi.org/10.1111/iwj.13031>
 11. El-Domyati, M., El-Din, W. H., Medhat, W., Khaled, Y., & Ibrahim, M. R. (2024). Carboxytherapy versus its combination with fractional CO₂ laser for the treatment of striae distensae: An objective, right-to-left, comparative study. *Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 17(10), E69–E75
 12. Rivers, R. J., & Meininger, C. J. (2023). The tissue response to hypoxia: How therapeutic carbon dioxide moves the response toward homeostasis and away from instability. *International journal of molecular sciences*, 24(6), 5181. <https://doi.org/10.3390/ijms24065181>
 13. Elimban, V., Xu, Y. J., Bhullar, S. K., & Dhalla, N. S. (2023). Modification of peripheral blood flow and angiogenesis by CO₂ water-bath therapy in diabetic skeletal muscle with or without ischemia. *Biomedicines*, 11(12), 3250. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123250>
 14. Elimban, V., Xu, Y. J., Bhullar, S. K., & Dhalla, N. S. (2020). Temperature-dependent effects on CO₂ water bath therapy induced changes in blood flow and vascularity in hind limb ischemia. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 98(4), 228–235. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2019-0537>
 15. Voloshchuk, O. M., Luchyk, T. V., & Kopylchuk, G. P. (2021). Indicators of immunoreactivity in rats under conditions of different nutrition regimen. *The animal biology*, 23(1), 12–17. <https://doi.org/10.15407/animbiol23.01.012>
 16. Voloshchuk, O. M. (2024). Peculiarities of immunoreactivity in rats under conditions of toxic damage by acetaminophen against the background of protein deficiency. *Biological systems*, 23(1), 24–30. <https://doi.org/10.31861/biosystems2024.01.024>
 17. Gałgańska, H., Jarmuszkiewicz, W., & Gałgański, L. (2023). Carbon dioxide and MAPK signalling: towards therapy for inflammation. *Cell communication and signaling : CCS*, 21(1), 280. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01306-x>
 18. Gałgańska, H., Jarmuszkiewicz, W., & Gałgański, L. (2021). Carbon dioxide inhibits COVID-19-type proinflammatory responses through extracellular signal-regulated kinases 1 and 2, novel carbon dioxide sensors. *Cellular and molecular life sciences (CMLS)*, 78(24), 8229–8242. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-04005-3>
 19. Casalino-Matsuda, S., Berdnikovs, S., Wang, N., Nair, A., Gates, K., Beitel, G., & Sporn, P. (2021). Hypercapnia selectively modulates LPS-induced changes in innate immunity and DNA replication-related gene transcription in macrophages. *Interface Focus*, 11. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2020.0039>
 20. Oda, T., Iwakura, T., Fukui, T., et al. (2020). Effect of continuous transcutaneous CO₂ application on fracture healing in rats. *Journal of orthopaedic science*. <https://doi.org/10.1016/j.jos.2019.09.017>
 21. Chou, P., Lin, Y., Wu, S., et al. (2020). Supercritical decellularized CO₂ porcine dermal matrix combined with adipose-derived stem cells: its role in accelerated diabetic wound healing. *International journal of medical sciences*, 17, 354–367. <https://doi.org/10.7150/ijms.41155>
 22. Hirota, J., Hasegawa, T., Inui, A., et al. (2023). Local application of a transcutaneous carbon dioxide paste prevents excessive scarring and promotes muscle regeneration in a bupivacaine-induced rat model of muscle injury. *International wound journal*, 20(4), 1151–1159. <https://doi.org/10.1111/iwj.13974>
 23. Periasamy, S., Chen, Y. J., Hsu, D. Z., & Hsieh, D. J. (2024). Collagen type II solution extracted from supercritical carbon dioxide decellularized porcine cartilage: regenerative efficacy on post-traumatic osteoarthritis model. *Bioresources and bioprocessing*, 11(1), 21. <https://doi.org/10.1186/s40643-024-00731-1>
 24. Amano-Iga, R., Hasegawa, T., Takeda, D., Murakami, A., Yatagai, N., Saito, I., Arimoto, S., Kakei, Y., Sakakibara, A., & Akashi, M. (2021). Local application of transcutaneous carbon dioxide paste decreases inflammation and accelerates wound healing. *Cureus*, 13(11), e19518. <https://doi.org/10.7759/cureus.19518>
 25. Mehrani, Y., Junqani, R., Morovati, S., Mehrani, H., Karimi, N., & Ghasemi, S. (2023). The significance of neutrophils in osteoarthritis: current concepts and therapeutic perspectives. *Immuno*, 3(3), 195–211. <https://doi.org/10.3390/immuno3030017>

Стаття надійшла до редакції 17.12.2024	Отримано після рецензування 17.01.2025	Прийнято до друку 20.02.2025
---	---	---------------------------------

THE EFFECT OF CO₂ THERAPY AND ITS COMBINATIONS ON INFLAMMATORY ACTIVITY AND IMMUNE STATUS: AN EXPERIMENTAL STUDY

V. V. Shtroblia

Uzhhorod National University. Ukraine

✉ Viktor Shtroblia, MD: viktor.shtroblia@uzhnu.edu.ua; <https://orcid.org/0009-0003-3299-4329>