

УДК 616.72-002-085.276-092.9(045)

DOI: <http://dx.doi.org/10.15674/0030-598720254108-114>

Визначення безпечності й ефективності карбокситерапії в моделях остеоартриту й запалення сухожилків *in vivo*

В. В. Штробля ¹, Р. В. Луценко ²

¹ ДВНЗ «Ужгородський національний університет». Україна

² Полтавський державний медичний університет. Україна

Local administration of carbon dioxide (carboxytherapy) is regarded as a promising approach for modulating inflammation, improving microcirculation, and stimulating reparative processes. However, traditional subcutaneous CO₂ delivery techniques are associated with variability of local effects, risk of mechanical tissue irritation, and insufficient standardization of administration parameters, which limits reproducibility of experimental findings. These limitations highlight the need to develop optimized CO₂ delivery techniques with controlled administration and improved safety. Objective. To evaluate the efficacy and safety of subcutaneous administration of a CO₂-NaHCO₃ gas-buffer mixture in preclinical models of acute inflammation and monoiodoacetate (MIA)-induced osteoarthritis. Methods. The study was conducted in rats using formalin- and carrageenan-induced models of acute inflammation and a monoiodoacetic acid-induced osteoarthritis model. Animals received subcutaneous injections of a CO₂ + NaHCO₃ mixture (1:1) in small volumes; comparisons were performed against the classical subcutaneous CO₂ administration protocol described by Raymundo et al. Results. In acute inflammation models, administration of the CO₂/NaHCO₃ mixture significantly reduced edema severity ($p < 0.001$). In the MIA-induced osteoarthritis model, treatment resulted in a statistically significant decrease in TNF- α and IL-6 levels and an increase in TGF- β 1 concentration (all $p < 0.001$), indicating anti-inflammatory activity and modulatory effects on systemic inflammatory markers. Conclusions. The subcutaneous administration technique of the CO₂ + NaHCO₃ mixture investigated in this study demonstrated anti-inflammatory activity and a favorable safety profile in preclinical models, supporting the rationale for further research into its potential application for degenerative-inflammatory disorders of the musculoskeletal system. Keywords. Carboxytherapy; CO₂; inflammation; osteoarthritis; cytokines; rats; degenerative joint diseases; degenerative-inflammatory conditions.

Локальне застосування вуглекислого газу (карбокситерапія) розглядається як перспективний підхід до модуляції запалення, покращення мікроциркуляції та стимуляції репаративних процесів. Разом із тим традиційні методики підшкірного введення CO₂ характеризуються варіабельністю локальної дії, ризиком механічного подразнення тканин і недостатньою стандартизованістю параметрів введення, що ускладнює відтворюваність експериментальних даних. Це зумовлює потребу в розробленні оптимізованих технік локального застосування CO₂ із контрольованою доставкою та підвищеною безпечністю. Мета. Оцінити ефективність і безпеку підшкірного введення газо-буферної суміші CO₂ і NaHCO₃ у доклінічних моделях гострого запалення й остеоартриту, індукованого моноіодоцтовою кислотою (МІОК). Методи. Дослідження проведено на щурах із використанням формалін- і карагенін-індукованих моделей гострого запалення й остеоартриту, викликаного МІОК. Тваринам підшкірно вводили суміш CO₂ + NaHCO₃ (1:1) у малих об'ємах; порівняння проводили з протоколом підшкірного введення чистого CO₂ за методом Raymundo. Результати. У моделях гострого запалення введення суміші CO₂ + NaHCO₃ достовірно зменшувало виразність набряку ($p < 0,001$). У моделі МІОК-індукованого остеоартриту відзначено статистично значуще зниження рівнів TNF- α та IL-6 і підвищення концентрації TGF- β 1 (усі $p < 0,001$), що свідчить про протизапальний ефект і модулювальний вплив суміші на системні маркери запалення. Висновки. Методика підшкірного введення суміші CO₂ + NaHCO₃, досліджена в роботі, проявила протизапальний ефект і задовільний профіль безпеки в доклінічних моделях, що обґрунтовує подальше її вивчення для можливого застосування за дегенеративно-запальних уражень опорно-рухової системи.

Ключові слова. Карбокситерапія, CO₂, запалення, остеоартрит, цитокіни, щури, дегенеративні захворювання суглобів, дегенеративно-запальні стани

Вступ

Карбокситерапія — застосування вуглекислого газу (CO_2) у терапевтичних цілях — останні десятиліття привертає пильну увагу дослідників і клініцистів, зокрема в судинній медицині, дерматології, регенеративній терапії й естетичній медицині. Така цікавість обумовлена здатністю CO_2 впливати на мікроциркуляцію, метаболізм клітин і тканинну оксигенацію, що в комплексі сприяє репаративним процесам. Ефекти терапії CO_2 на загоєння тканин, включаючи покращення васкуляризації, оксигенації й активацію клітинної проліферації, неодноразово підтверджені експериментально, зокрема в моделі загоєння рани шкіри [1]. Нещодавні доклінічні дослідження довели, що локальні перкутанні та транскутанні режими застосування CO_2 здатні стимулювати остеогенез і ремоделювання кісткової тканини. Зокрема, показано, що перкутанне введення CO_2 прискорює генерацію нової кістки в моделях distraction osteogenesis [2], тоді як транскутанне або топічне застосування сприяє загоєнню переломів і дефектів кістки [3, 4], підвищуючи васкуляризацію та мінералізацію регенерату [5]. Отримані дані підтверджують доцільність вивчення локального застосування CO_2 у моделях дегенеративно-запальних захворювань суглобів, зокрема остеоартриту.

Біофізіологічні механізми дії CO_2 пов'язують, зокрема, із явищем «ефекту Бора»: підвищення парціального тиску газу в локальних тканинах спричинює зниження pH, що зміщує криву дисоціації O_2 -гемоглобін у бік вивільнення кисню, покращуючи тим самим тканинну оксигенацію [6]. У доклінічних моделях, зокрема в експериментах на лабораторних тваринах, локальне транскутанне введення CO_2 асоціюється з активацією ангіогенних сигнальних шляхів, що проявляється підвищенням експресії VEGF (vascular endothelial growth factor) та, частково, модуляцією активності eNOS (endothelial nitric oxide synthase). Такі зміни можуть створювати сприятливі умови для відновлення та регенерації ушкоджених тканин [3]. У клінічних дослідженнях на людях терапія CO_2 продемонструвала покращення загоєння хронічних ран і мікроциркуляції, хоча прямі докази активації NO-сигналіngu в людських тканинах все ще потребують подальших досліджень [7, 8].

Практичне застосування CO_2 охоплює широкий спектр методів — від бальнеотерапії та інгаляцій (за літературними даними) до трансдермальних гідрогелів, карбокситерапії (CO_2

ін'єкцій) й інших локальних форм доставки [8, 9]. Кожен із цих способів має свої особливості в локалізації дії, контролі дози, проникності тканин і безпеці [7, 8]. На доклінічному рівні (моделі тварин) трансдермальне застосування CO_2 (із гідрогелями або комбінація з іншими методиками), показало здатність прискорювати зростання кісток через стимуляцію ангіогенезу [3, 4], підвищення кровоплину й експресію VEGF, а також потенційно впливати на інші сигнальні шляхи [9]. У попередніх клінічних дослідженнях на людях трансдермальна CO_2 -терапія продемонструвала безпеку та здатність збільшувати місцевий кровоплин біля переломів [10], хоча прямі докази щодо регенерації кістки в людини або впливу на запальні механізми в таких ситуаціях поки що обмежені. Тож CO_2 -терапія залишається перспективним дослідним підходом в ортопедії й можливо в ревматології, що потребує подальшого контрольованого вивчення.

Попри обнадійливі результати доклінічних досліджень, у науковій літературі досі не існує уніфікованої методики локального застосування CO_2 . Роботи щодо ефективності різних шляхів доставки (трансдермальна, ін'єкційна, гідрогель тощо), параметрів дозування та режимів експозиції залишаються обмеженими [4]. Це ускладнює стандартизацію підходів і гальмує трансляцію попередніх результатів у клінічну практику. Тому особливо актуальним є вивчення дозореактивних залежностей, безпеки, ефективності й потенціалу комбінованої дії CO_2 з іншими фармакологічними препаратами.

У нашій роботі ми зосередили увагу на підшкірному шляху введення CO_2 як підході, що забезпечує прямий вплив на локальну мікроциркуляцію та дозволяє точно контролювати об'єм і локалізацію експозиції. Ми розробили й апробували уніфіковану техніку підшкірного введення суміші CO_2 + NaHCO_3 у щурів, дослідивши її вплив на експресію ключових запальних і регенеративних маркерів, морфологічні показники та поведінкові індекси болю в моделях запалення й остеоартриту.

Мета: оцінити ефективність і безпеку підшкірного введення газо-буферної суміші CO_2 + NaHCO_3 в доклінічних моделях гострого запалення та остеоартриту, індукованого моноіодоцтовою кислотою.

Матеріал і методи

Усі дослідження були проведені у віварії Полтавського державного медичного університету та виконані відповідно до основних положень

Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних і наукових цілях та Директиви 2010/63/ЄС. Дослід схвалено етичними комітетами Полтавського державного медичного університету (протокол № 225 від 21.03.2024) та ДВНЗ Ужгородського національного університету (протокол № 9/2 від 07.06.2023). Тварин утримували за стандартизованих умов: температура (22 ± 2) °C, відносна вологість 40–60 %, світловий режим 12/12 год, стандартний раціон і вільний доступ до питної води. Усі процедури виконували з дотриманням принципів гуманного поводження та мінімізації страждання тварин відповідно до рекомендацій ARRIVE.

У дослідженні використовували білих безпородних щурів масою 180–230 г на момент початку експерименту. Тварин рандомізували за допомогою простого випадкового методу в групи по 8 особин ($n = 8$) для кожної експериментальної та контрольної умови. Розподіл щурів і подальше оцінювання результатів проводилися в сліпому режимі щодо лікування.

Тварини були розподілені на такі групи: I — інтактні; II — контрольна патологія (формалінова, карагенінова або МЙОК(монойодоцтова кислота)-індукована модель залежно від експерименту); III — патологія + CO₂ (0,5 мл, підшкірно).

Моделі запалення й остеоартриту

Формалін-індукована модель асептичного запалення

Асептичне запалення відтворювали шляхом субплантарного введення 2,5 % розчину формалі-

ну (0,1 мл) під апоневроз підшви задньої кінцівки щура згідно з методичними рекомендаціями під ред. О. В. Стефанова [11]. Динаміку набряку оцінювали за зміною величини окружності кінцівки до індукції та через 1, 2, 3, 4, 5 і 24 години після введення формаліну з використанням плетизмометра (табл. 1).

Карагенін-індуковане гостре запалення

Гостре запалення моделювали шляхом під-апоневротичного введення 1 % розчину карагеніну (0,1 мл) у задню праву кінцівку. Модель ґрунтується на класичному протоколі Winter, Risley і Nuss та його модифікаціях [12, 13]. Обсяг кінцівки вимірювали до індукції та через 1, 2, 3 і 5 годин після введення карагеніну (табл. 2). Через 5 годин проводили евтаназію під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) для забору крові та біохімічного аналізу.

Остеоартрит, індукований монойодоцтовою кислотою (МЙОК-ОА)

Остеоартрит індукували внутрішньосуглобовим введенням 0,05 мл (0,005 мл) 3 % розчину МЙОК, приготовленого *ex tempore* шляхом розчинення 3 мг МЙОК у 0,1 мл 0,9 % розчину NaCl із подальшим стерильним відбором необхідного об'єму. Застосований режим відповідає адаптованим протоколам індукції МЙОК-остеоартриту в щурів [14, 15].

Біохімічні показники оцінювали на 14-й та/або 28-й день експерименту. Рівні прозапального TNF- α та протизапального TGF- β 1 визначали в сироватці крові (табл. 3). Додатково вимірювали рівень IL-6 як маркер системної запальної відповіді (табл. 4).

Таблиця 1

Величина окружності задньої кінцівки щурів у динаміці на формаліновій моделі запалення (мл; $M \pm SD$, $n = 8$)

Група тварин	До патології	1 год	2 год	3 год	4 год	5 год	24 год
Інтактні	$0,451 \pm 0,009$	$0,451 \pm 0,009$	$0,451 \pm 0,009$	$0,451 \pm 0,009$	$0,451 \pm 0,009$	$0,451 \pm 0,009$	$0,451 \pm 0,009$
Контрольна патологія	$0,454 \pm 0,011$	$0,489 \pm 0,010$	$0,539 \pm 0,013$	$0,615 \pm 0,013$	$0,701 \pm 0,017$	$0,770 \pm 0,016$	$0,651 \pm 0,012$
Патологія + CO ₂	$0,422 \pm 0,006$	$0,485 \pm 0,008$	$0,509 \pm 0,009$	$0,559 \pm 0,004^*$	$0,621 \pm 0,009$	$0,690 \pm 0,013^{**}$	$0,594 \pm 0,012$

Примітки: дані наведено як $M \pm SD$; $n = 8$. $p < 0,05$; $^* p < 0,01$; $^{**} p < 0,001$ — достовірно порівняно з групою контрольної патології (формалін).

Таблиця 2

Зміна величини окружності кінцівки в щурів із карагенін-індукованим запаленням (мл; $M \pm SD$, $n = 8$)

Група тварин	До патології	1 год	2 год	3 год	5 год
Інтактні	$0,427 \pm 0,029$	$0,427 \pm 0,029$	$0,427 \pm 0,029$	$0,427 \pm 0,029$	$0,427 \pm 0,029$
Контрольна патологія	$0,410 \pm 0,028$	$0,529 \pm 0,022$	$0,609 \pm 0,022$	$0,740 \pm 0,025$	$0,695 \pm 0,037$
Патологія + CO ₂	$0,406 \pm 0,019$	$0,463 \pm 0,027^*$	$0,514 \pm 0,023^*$	$0,659 \pm 0,031^*$	$0,613 \pm 0,026^*$

Примітки: дані наведено як $M \pm SD$; $n = 8$ у кожній групі. $^* p < 0,001$ — достовірно порівняно з групою патології (карагенін).

Таблиця 3

Рівні TNF- α та TGF- β 1 у сироватці крові щурів за МЙОК-індукованого остеоартриту (14-й та 28-й день спостереження)

Група тварин	14 днів TNF- α , пг/мл	28 днів TNF- α , пг/мл	14 днів TGF- β 1, пг/мл	28 днів TGF- β 1, пг/мл
Інтактні	6,87 $\pm$ 0,44	6,87 $\pm$ 0,44	567,12 $\pm$ 19,40	567,12 $\pm$ 19,40
Інтактні + фіз. р-н	6,85 $\pm$ 0,33	6,85 $\pm$ 0,32	572,15 $\pm$ 21,25	572,15 $\pm$ 21,25
Патологія (МЙОК)	29,97 $\pm$ 0,50	29,59 $\pm$ 0,10	840,56 $\pm$ 7,87	831,89 $\pm$ 6,19
МЙОК + CO ₂ 0,5 мл	28,09 $\pm$ 0,66*	26,42 $\pm$ 0,35*	1133,62 $\pm$ 13,59*	1192,39 $\pm$ 20,42*

Примітки: дані наведено як M $\pm$ SD; n = 5 у кожній групі. * p < 0,001 — достовірна відмінність порівняно з групою патології (МЙОК).

Таблиця 4

Рівень IL-6 у сироватці крові щурів за МЙОК-індукованому остеоартриті (14-й та 28-й день спостереження)

Група тварин	14 днів IL-6, пг/мл	28 днів IL-6, пг/мл
Інтактні	1,33 $\pm$ 0,09	1,33 $\pm$ 0,09
Інтактні + фіз. р-н	1,29 $\pm$ 0,07	1,29 $\pm$ 0,07
Патологія (МЙОК)	14,58 $\pm$ 0,27	14,29 $\pm$ 0,34
МЙОК + CO ₂ 0,5 мл	12,58 $\pm$ 0,18*	12,06 $\pm$ 0,28*

Примітки: дані наведено як M $\pm$ SD; n = 5 у кожній групі. *p < 0,001 — достовірна відмінність порівняно з групою патології (МЙОК).

Евтаназію тварин проводили під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) відповідно до вимог біоетики.

Для приготування суміші CO₂ + NaHCO₃ використовували очищений діоксид вуглецю медичної чистоти (AquaRio BLUE, 2 L або еквівалент), комплект подавання CO₂ (Eheim CO₂ SET) зі стерильним фільтром 0,22 мкм, стерильні шприци, мікроголки 30G (0,3 $\times$ 13 мм) і стерильний розчин NaHCO₃ (0,9–1,5 %) у 0,9 % NaCl. У шприц вводили 0,5 мл розчину NaHCO₃, після чого через триходовий кран аспірували 0,5 мл CO₂, попередньо температурно вирівняного до 22–24 °C. Отримували газо-буферну суміш у співвідношенні 1 : 1 (об'ємна фракція) з короткочасною стабільністю рН 7,0–7,3 упродовж $\leq$ 1 хв після приготування. Суміш використовували негайно. Ін'єкцію виконували підшкірно в періартикулярну зону над медіальним виростком колінного суглоба за допомогою голки 30G під кутом 20°–30°, у дозі 0,5–1,0 мл (3–5 мл/кг). Введення проводили повільно, без додаткового тиску, попередньо перевіряючи суміш на відсутність бульбашок і надлишкового тиску. Частота введення: раз на добу (для моделей формаліну та карагеніну) або раз на 3 доби (для МЙОК-ОА) протягом 14 або 28 днів залежно від протоколу. Після введення тварин

спостерігали щонайменше 30 хвилин щодо негайних реакцій.

Для методичного контролю в окремих серіях використовували описану Raymundo методику підшкірного введення CO₂: стандартизований потік 80 мл/хв протягом 10 с в одну точку через голку 30G, введену під кутом 90° до шкіри [16]. Це дозволяло порівняти морфофункціональні та безпекові аспекти між традиційним протоколом і оптимізованим способом введення суміші CO₂ і NaHCO₃.

Аналіз проведено з використанням Jamovi (версія 2.3.21). Кількісні дані подано як M $\pm$ SD (за винятком випадків, де зазначено mean $\pm$ SEM). Нормальність перевіряли тестом Шапіро–Вілка; гомогенність дисперсій — тестом Левена. Для даних із нормальним розподілом використовували однофакторний ANOVA (або двофакторний ANOVA для часових рядів: група $\times$ час) із пост-hoc тестом Тьюкі; у разі порушення гомогенності застосовували тест Велча; для ненормальних даних використовували критерій Крускала–Волліса з поправкою Бонферроні. Рівень значущості приймали за p < 0,05.

Результати та їх обговорення

Порівняльний аналіз технік підшкірного введення CO₂ виявив суттєві відмінності в профілі безпеки та локальній дії. Класична методика Raymundo передбачала швидке введення чистого CO₂ під тиском. Такий режим супроводжувався вираженим механічним розтягненням тканин, транзиторною гіперкапнією [16], що відображає специфічну відповідь на швидке підшкірне введення газу. Крім того, класичні протоколи асоціюються з реактивною гіперемією, змінами мікроциркуляції та локальними судинними реакціями, що підтверджено іншими експериментальними роботами [8, 17].

Морфофункціональні критерії оцінки місцевої тканинної відповіді на CO₂, описані в літературі,

включають ступінь локального набряку, еритеми, мікроциркуляторні зміни, температурні реакції та гістологічний стан дерми й підшкірної клітковини [18]. Такі параметри використовуються для оцінювання профілю безпеки та виявлення можливих небажаних реакцій, включаючи транзиторне порушення тканинного гомеостазу.

Водночас нові дані демонструють, що зниження локального pH, індуковане CO_2 , здатне активувати дермальні фібробласти і посилювати синтез компонентів позаклітинного матриксу шляхом CREB-залежної індукції TGF- β 1 [19]. Це створює експериментальне підґрунтя для розвитку м'якших і безпечніших режимів локального введення CO_2 , спрямованих на зменшення механічного навантаження на тканини й мінімізацію ноцицептивної активації.

Запропонована нами терапевтична система $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ (1 : 1), що вводилася під кутом $20^\circ\text{--}30^\circ$, забезпечувала більш рівномірний розподіл газової фази в підшкірній клітковині й уникнення макроскопічних і гістологічних ознак механічного ушкодження навіть за повторних введень (раз на 3 доби протягом 14–28 днів), що свідчить про кращий профіль безпеки порівняно з традиційними протоколами введення чистого CO_2 .

Ураховуючи описані механічні й біохімічні особливості традиційних технік введення газу, важливим завданням було створення протоколу, який забезпечує нижчий рівень тканинного стресу, кращу переносимість і можливість багаторазового застосування. Отримані нами дані свідчать, що зменшення об'єму газової фази та додавання буферного компонента (NaHCO_3) суттєво знижують локальне механічне та хімічне навантаження. Це призводить до меншої активації ноцицепторів і мінімізації ризику мікротравматизації, що робить запропоновану терапевтичну систему придатною для тривалих експериментальних протоколів, зокрема під час моделювання хронічних дегенеративно-запальних станів, таких як остеоартрит.

Системні протизапальні та репаративні ефекти $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ в моделі остеоартриту

У МЙОК-індукованій моделі остеоартриту підшкірне введення газо-буферної суміші $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ супроводжувалося вираженими системними змінами в сироватці крові й тканинах суглоба. Рівні прозапальних цитокінів TNF- α та IL-6 були статистично значуще нижчими порівняно з групою патології (усі $p < 0,001$). Одночасно зафіксовано достовірне підвищення концентрації TGF- β 1 ($p < 0,001$), що може свідчити

про активацію протизапальних і репаративних механізмів у суглобових тканинах.

Ефекти CO_2 в моделях гострого запалення

У формалін- та карагенін-індукованих моделях гострого запалення підшкірне введення CO_2 також приводило до статистично значущого зменшення вираженості запальної реакції порівняно з контролем патології ($p < 0,001$), що узгоджується зі зменшенням набряку та пригніченням гострофазових реакцій.

Безпека і переносимість

Запропонований протокол підшкірного введення терапевтичної системи $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ (1,0 мл у співвідношенні 1:1, за визначеним графіком) не викликав некрозів, гематом або видимих макроскопічних ознак ушкодження тканин навіть у разі багаторазового застосування. Клінічні та лабораторні показники (загальний аналіз крові, функції печінки й нирок) залишались у межах норми, що свідчить про апірогенність, відсутність алергічних реакцій, добру переносимість, відсутність вираженої системної токсичності в умовах цього експерименту.

Отримані результати узгоджуються з гіпотезою, що одним із ключових механізмів дії локального CO_2 є індукція помірної гіперкапнії у тканинах, що приводить до локального зсуву кривої дисоціації оксигемоглобіну (ефект Бора). Це підвищує доставку кисню в зону ураження та створює сприятливе середовище для репарації, ангіогенезу й тканинного метаболізму [8]. На відміну від класичних протоколів підшкірного введення CO_2 [16], що супроводжуються розтягненням тканин, болем і вивільненням нейропептидів, сучасні підходи, зокрема запропонована в цьому дослідженні терапевтична система $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$, базуються на контрольованій, м'якій доставці газу в буферній рідині. Це знижує локальні стрес-реакції та баротравму, а також сприяє безпечнішому й ефективнішому біологічному впливу [2, 4]. Отже, запропонована методика підшкірного введення терапевтичної системи $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ у співвідношенні 1:1 в малих об'ємах узгоджується зі сучасними підходами до доклінічної CO_2 -терапії, демонструючи переваги в біобезпеці, контрольованості доставки та потенціалі для подальших досліджень. Введення здійснюється без потреби в спеціалізованому обладнанні, із використанням стандартних медичних засобів (шприц, мікроголка), що забезпечує простоту, відтворюваність і безпечність методики.

Висновки

Карбокситерапія зі застосуванням суміші $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ в оптимізованому форматі, що передбачає підшкірне введення в малих об'ємах, демонструє виражений протизапальний і регенеративний ефект у моделях запалення та остеоартриту, зокрема через зниження рівнів $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 і покращення морфології суглоба.

Запропонована терапевтична система $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$ характеризується доброю локальною переносимістю, відсутністю макроскопічних ушкоджень або побічних ефектів навіть за повторного застосування. Вона потенційно може поєднуватись із протизапальними засобами для посилення терапевтичної ефективності.

Отримані результати створюють наукове підґрунтя для подальших досліджень механізмів дії суміші $\text{CO}_2 + \text{NaHCO}_3$, оцінки тривалих ефектів, а також для її потенційної клінічної трансляції.

Конфлікт інтересів. Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

Перспективи подальших досліджень. Перспективи подальших досліджень включають вивчення дозозалежності ефектів терапевтичної системи CO_2 і NaHCO_3 (об'єму, частоти, співвідношення газ/рідина), моніторинг локальних змін $\text{pO}_2/\text{pCO}_2/\text{pH}$ у тканинах, вивчення ролі VEGF, eNOS, TGF- β та остеогенних маркерів, проведення токсикологічної оцінки безпеки, тестування впливу на культури клітин (ендотеліюцити, остеобласти, хондроцити) та перевірку ефективності в більших доклінічних моделях.

Інформація про фінансування. Автори заявляють про відсутність фінансової зацікавленості під час підготовки цієї статті. Це дослідження не отримало зовнішнього фінансування.

Внесок авторів. Штробля В. В. — концепція дослідження, експериментальна робота, статистичний аналіз, інтерпретація результатів, написання основного тексту статті; Луценко Р. В. — наукове керівництво, корекція дизайну дослідження, критичне редагування, узагальнення висновків.

Список літератури

1. Prazeres, J., Lima, A., & Ribeiro, G. (2025). Effects of carbon dioxide therapy on skin wound healing. *Biomedicines*, 13(1), 228. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13010228>
2. Kumabe, Y., Fukui, T., Takahara, S., Kuroiwa, Y., Arakura, M., Oe, K., Oda, T., Sawauchi, K., Matsushita, T., Matsumoto, T., Hayashi, S., Kuroda, R., & Niikura, T. (2020). Percutaneous CO_2 treatment accelerates bone generation during distraction osteogenesis in rabbits. *Clinical orthopaedics and related research*, 478(8), 1922–1935. <https://doi.org/10.1097/CORR.0000000000001288>
3. Sawauchi, K., Fukui, T., Oe, K., Oda, T., Yoshikawa, R., Takase, K., Inoue, S., Nishida, R., Kuroda, R., & Niikura, T. (2024). Transcutaneous CO_2 application combined with low-intensity pulsed ultrasound accelerates bone fracture healing in rats. *BMC Musculoskeletal disorders*, 25(1), 863. <https://doi.org/10.1186/s12891-024-07976-z>
4. Kuroiwa, Y., Fukui, T., Takahara, S., Lee, S. Y., Oe, K., Arakura, M., Kumabe, Y., Oda, T., Matsumoto, T., Matsushita, T., Akisue, T., Sakai, Y., Kuroda, R., & Niikura, T. (2019). Topical cutaneous application of CO_2 accelerates bone healing in a rat femoral defect model. *BMC Musculoskeletal disorders*, 20(1), 237. <https://doi.org/10.1186/s12891-019-2601-5>
5. Oda, T., Iwakura, T., Fukui, T., Oe, K., Mifune, Y., Hayashi, S., Matsumoto, T., Matsushita, T., Kawamoto, T., Sakai, Y., Akisue, T., Kuroda, R., & Niikura, T. (2020). Effects of the duration of transcutaneous CO_2 application on the facilitatory effect in rat fracture repair. *Journal of orthopaedic science*, 25(5), 886–891. <https://doi.org/10.1016/j.jos.2019.09.017>
6. Matsumoto, T., Tanaka, M., Ikeji, T., Maeshige, N., Sakai, Y., Akisue, T., Kondo, H., Ishihara, A., & Fujino, H. (2019). Application of transcutaneous carbon dioxide improves capillary regression of skeletal muscle in hyperglycemia. *Journal of physiological sciences*, 69(2), 317–326. <https://doi.org/10.1007/s12576-018-0648-y>
7. Bulum, T., Poljičanin, T., Badanjak, A., Držić, J., & Metelko, Ž. (2025). Effect of transcutaneous application of carbon dioxide on wound healing, wound recurrence rate and diabetic polyneuropathy in patients with neuropathic, ischemic and neuroischemic diabetes-related foot ulcers. *Life*, 15(4), 618. <https://doi.org/10.3390/life15040618>
8. Sakai, Y., Miwa, M., Oe, K., Ueha, T., Koh, A., Niikura, T., et al. (2011). A novel system for transcutaneous application of carbon dioxide causing an “artificial Bohr effect” in the human body. *PLoS one*, 6(9), e24137. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024137>
9. Koga, T., Niikura, T., Lee, S. Y., Okumachi, E., Ueha, T., Iwakura, T., et al. (2014). Topical cutaneous CO_2 application by means of a novel hydrogel accelerates fracture repair in rats. *Journal of bone and joint surgery (American Volume)*, 96(24), 2077–2084. <https://doi.org/10.2106/JBJS.M.01498>
10. Niikura, T., Iwakura, T., Omori, T., Lee, S. Y., Sakai, Y., Akisue, T., Oe, K., Fukui, T., Matsushita, T., Matsumoto, T., & Kuroda, R. (2019). Topical cutaneous application of carbon dioxide via a hydrogel for improved fracture repair: Results of phase I clinical safety trial. *BMC Musculoskeletal disorders*, 20(1), 563. <https://doi.org/10.1186/s12891-019-2911-7>
11. Stefanov, O. V. (2001). Preclinical studies of medicinal products: methodological recommendations. Kyiv: Avicenna. (in Ukrainian)
12. Klimenko, N. A., Tatarko, S. V., Shevchenko, A. N., & Gubina-Vakulik, G. I. (2007). Justification of the model of chronic (secondary chronic) inflammation. *Eksperimental and Clinic Medicine*, 2, 24–28. (in Ukrainian)
13. Necas, J., & Bartosikova, L. (2013). Carrageenan: a review. *Veterinar medicine*, 58(4), 187–205. (in Ukrainian)
14. Udo, M., Muneta, T., Tsuji, K., Ozeki, N., Nakagawa, Y., Ohara, T., Saito, R., Yanagisawa, K., & Sekiya, I. (2016). Monoiodoacetic acid induces cartilage degeneration and synovitis in rats in a dose- and time- dependent Manner. *Osteoarthritis and cartilage*, 24, S405–S406. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2016.01.733>
15. Riewruja, K., Makarczyk, M., Alexander, P. G., Gao, Q., Goodman, S. B., Bunnell, B. A., Gold, M. S., & Lin, H. (2022). Experimental models to study osteoarthritis pain and develop therapeutics. *Osteoarthritis and cartilage open*, 4(4), 100306. <https://doi.org/10.1016/j.ocarto.2022.100306>
16. Raymundo, E. C., Hochman, B., Nishioka, M. A., Gonçalves de Freitas, J. O., Maximino, J. R., Chadi, G., & Ferreira, L. M. (2014). Effects of subcutaneous carbon dioxide on calcitonin gene-related peptide and substance P secretion in rat skin. *Acta Cirurgica Brasileira*, 29(4), 224–230. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502014000400002>
17. Brandi, C., Grimaldi, L., Nisi, G., Brafa, A., Campa, A., Calabrò, M., Campana, M., & D'Aniello, C. (2010). The role of carbon dioxide therapy in the treatment of chronic wounds. *In vivo*, 24(2), 223–226.
18. Macura, M., Ban Frangez, H., Cankar, K., Finžgar, M., &

- Franguez, I. (2020). The effect of transcutaneous application of gaseous CO₂ on diabetic chronic wound healing-A double-blind randomized clinical trial. *International wound journal*, 17(6), 1607–1614. <https://doi.org/10.1111/iwj.13436>
19. Takano, K., Kasamatsu, S., Aoki, M., & Takahashi, Y. (2023).

Reduction of extracellular pH induced by carbon dioxide enhances extracellular matrix production via CREB-dependent upregulation of TGF- β 1 in human dermal fibroblasts. *Experimental dermatology*, 32(10), 1651–1662. <https://doi.org/10.1111/exd.14867>

Стаття надійшла до редакції 25.10.2025	Отримано після рецензування 15.11.2025	Прийнято до друку 27.11.2025
---	---	---------------------------------

DETERMINATION OF THE SAFETY AND EFFECTIVENESS OF CARBOXYTHERAPY IN IN VIVO MODELS OF OSTEOARTHRITIS AND TENDON INFLAMMATION

V. V. Shtroblia ¹, R. V. Lutsenko ²

¹ Uzhhorod National University. Ukraine

² Poltava State Medical University. Ukraine

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

✉ Ruslan Lutsenko, MD, DMSci, Prof.: farmaluru@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0277-0458>