

УДК: 616.348-002.4-085

М.В. Осиков, Е.В. Симонян, М.С. Бойко

**ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА D3 В СОСТАВЕ РЕКТАЛЬНЫХ
СУППОЗИТОРИЕВ ОРИГИНАЛЬНОГО СОСТАВА НА ПОКАЗАТЕЛИ
СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ
ТОЛСТОЙ КИШКИ В ДИНАМИКЕ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЯЗВЕННОГО КОЛИТА**

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»,
г. Челябинск, Российская Федерация

M.V. Osikov, E.V. Simonyan, M.S. Boyko

**THE EFFECT OF VITAMIN D3 IN THE COMPOSITION OF RECTAL
SUPPOSITORIES OF THE ORIGINAL COMPOSITION ON THE INDICATORS
OF FREE RADICAL OXIDATION IN THE MUCOUS MEMBRANE OF THE
COLON IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL ULCERATIVE COLITIS**

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South Ural State Medical University»
of the Ministry of Health of the Russian Federation, Chelyabinsk, Russian Federation

Резюме. Свободнорадикальное окисление играет важную роль в патогенезе язвенного колита (ЯК). Активные формы кислорода (АФК) запускают перекисное окисление липидов (ПОЛ) с формированием продуктов окислительного стресса. Базисная терапия ЯК сопровождается побочными эффектами и не эффективна у 30% больных, в связи с чем необходим поиск новых терапевтических подходов. Витамин D3 обладает антиоксидантным, противовоспалительным и иммуномодулирующими свойствами, эффективен при некоторых аутоиммунных заболеваниях, что является предпосылкой для его применения при ЯК. **Цель работы** — исследовать влияние витамина D3 в составе ректальных суппозиторий оригинального состава на содержание продуктов ПОЛ в слизистой оболочке толстого кишечника при экспериментальном ЯК. **Материалы и методы.** Работа выполнена на 49 крысах линии Wistar, ЯК моделировали двухэтапным введением 3% оксазолон, витамин D3 в составе ректальных суппозиторий на основе полиэтиленгликоля применяли каждые 12 часов. Клинический статус оценивали по шкале Disease activity index (DAI), содержание продуктов ПОЛ — экстракционно-спектрофотометрическим методом. **Результаты.** Установлено, что при ЯК на 2, 4 и 6 сутки повышается DAI, что ассоциируется с содержанием первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта гомогената слизистой оболочки толстой кишки. Разработана новая лекарственная форма и проведен комплекс фармацевтико-технологических исследований ректальных суппозиторий оригинального состава, содержащих 10% водный раствор витамина D3. Их применение при экспериментальном ЯК на 4 и 6 сутки наблюдения приводит к снижению DAI и частичному восстановлению содержания первичных,

Abstract. Free radical oxidation plays an important role in the pathogenesis of ulcerative colitis (UC). Active oxygen species (ROS) trigger lipid peroxidation (LPO) with the formation of oxidative stress products. Basic therapy of UC is accompanied by side effects and is not effective in 30% of patients, in connection with which it is necessary to search for new therapeutic approaches. Vitamin D3 has antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulating properties, is effective in some autoimmune diseases, which is a prerequisite for its use in UC. **The aim** of the work was to study the effect of vitamin D3 in the composition of rectal suppositories of the original composition on the content of LPO products in the mucous membrane of the large intestine in experimental UC. **Materials and methods.** Work was performed on 49 Wistar rats; UC was simulated by two-stage administration of 3% oxazolone; vitamin D3 was used every 12 hours in the composition of rectal suppositories based on polyethylene glycol. Clinical status was assessed using the Disease activity index (DAI) scale, and the content of lipid peroxidation products was determined by the extraction-spectrophotometric method. **Results.** It was established that with UC on day 2, 4, and 6, DAI rises, which is associated with the content of primary, secondary, and final LPO products in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract of the colon mucous membrane homogenate. A new dosage form was developed and a complex of pharmaceutical and technological studies of rectal suppositories of the original composition containing 10% aqueous solution of vitamin D3 was carried out. Their use in experimental UC on the 4th and 6th day of observation leads to a decrease in DAI and a partial restoration of the content of primary, secondary, and final LPO products in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract of the colon mucous

вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта гомогената слизистой оболочки толстой кишки.

Ключевые слова: язвенный колит, свободно-радикальное окисление, перекисное окисление липидов, витамин D3, ректальные суппозитории

membrane homogenate.

Keywords: ulcerative colitis, free radical oxidation, lipid peroxidation, vitamin D3, rectal suppositories

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Бойко Маргарита Сергеевна

ri-tochka9@list.ru

Дата поступления 10.12.2020 г.

Образец цитирования:

Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №1, с. 42–52, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-1-42-52

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Margarita S. Boyko

ri-tochka9@list.ru

Received 10.12.2020г

For citation:

Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 1, pp. 42–52. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-1-42-52 (In Russ)

Актуальность

Язвенный колит (ЯК) представляет собой хроническое воспалительное заболевание неизвестной этиологии, патогенез которого до конца не ясен [1], а лекарственные средства, такие как топические ингибиторы воспаления (5-аминосалицилаты), системные ингибиторы воспаления (кортикостероиды) и иммуносупрессоры (азатиоприн, 6-меркаптопурин, метотрексат, циклоспорин и инфликсимаб) [2], применяемые для базисной терапии, обладают рядом побочных эффектов: желудочно-кишечных проявлений (анорексия, тошнота, рвота, боль в эпигастриальной области); общих симптомов (головная боль, лихорадка, слабость, артралгии); гематологических нарушений (агранулоцитоз, панцитопения, анемия, геморрагический синдром); признаков поражения репродуктивной сферы и др.) и не всегда позволяют добиться стойкой ремиссии. Существенный вклад в патогенез ЯК вносит оксидативный стресс, который приводит к накоплению свободных радикалов, обладающих прямым токсическим действием на стенку кишечника [3, 4]. В нормальных условиях в слизистой оболочке толстого кишечника генерация свободных радикалов и уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) регулируется активностью ферментов антиоксидантной системы. К ним относятся супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза и др. При ЯК баланс редокс-статуса смещается в сторону избыточного образования активных форм кислорода (АФК) в толстой кишке — гидроксильного радикала, супероксид-анион радикала, перекись водорода и др. Известно, что при ЯК увеличивается продукция IL-8 — мощного хемоаттрактанта, активатора поглотительной и киллинговой активности нейтрофилов, моноцитов, макрофагов [5]. Нейтрофилы генерируют активные формы кислорода, что, в свою очередь, запускает ПОЛ с формированием продуктов окислительного стресса. В связи с изложенными фактами, изучение свободноради-

Relevance

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease of unknown etiology, the pathogenesis of which is not completely clear [1], and drugs, such as topical inhibitors of inflammation (5-aminosalicylates), systemic inhibitors of inflammation (corticosteroids) and immunosuppressants (azathioprine, 6-mercaptopurine, methotrexate, cyclosporine and infliximab) [2] used for basic therapy have a number of side effects (gastrointestinal manifestations (anorexia, nausea, vomiting, epigastric pain); general symptoms (headache, fever, weakness, arthralgia); hematological disorders (agranulocytosis, pancytopenia, anemia, hemorrhagic syndrome); signs of damage to the reproductive sphere, etc.) and always allow for permanent remission. A significant contribution to the pathogenesis of UC is made by oxidative stress, which leads to the accumulation of free radicals that have a direct toxic effect on the intestinal wall [3, 4]. Under normal conditions, the generation of free radicals and the level of lipid peroxidation products (LPO) in the mucous membrane of the large intestine are regulated by the activity of enzymes of the antioxidant system. These include superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase, etc. With UC, the balance of the redox status shifts toward the excessive formation of reactive oxygen species (ROS) in the colon — hydroxyl radical, superoxide anion radical, hydrogen peroxide, etc. It is known that with UC increased production of IL-8 — a powerful chemoattractant, an activator of the absorption and killing activity of neutrophils, monocytes, macrophages [5]. Neutrophils generate reactive oxygen species, which in turn triggers lipid peroxidation with the formation of oxidative stress products. In connection with the stated facts, the study of free radical oxidation in UC is of scientific and practical importance. Vitamin D3, which has a pleiotropic effect, is of interest as an alternative approach; its positive effect has been described in a number of autoimmune diseases, such as type I diabetes, rheumatoid arthritis, and

кального окисления при ЯК имеет научную и практическую значимость. В качестве альтернативного подхода интерес представляет витамин D3, обладающий плейотропным действием, его положительный эффект был описан при ряде аутоиммунных заболеваний, таких как СД I типа, ревматоидный артрит и псориаз, что предполагает его эффект при ЯК [6, 7, 1].

Цель

Исследовать влияние витамина D3 в составе ректальных суппозиторий оригинального состава на содержание продуктов ПОЛ в слизистой оболочке толстого кишечника при экспериментальном ЯК.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 49 крысах линии Wistar массой 240-250 г в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники (vivarium) в соответствии с правилами гуманного отношения к животным, методическими рекомендациями по их выведению из опыта и эвтаназии [8]. Животные были случайным образом разделены на группы: I (n=7) — интактный контроль; II (n=21) — животные с ЯК; III (n=21) — животные с ЯК в условиях применения каждые 12 часов ректальных суппозиторий с витамином D3. ЯК моделировали двухэтапным введением оксазолон («Sigma-aldrich», USA): на первом этапе проводили накожную сенсибилизацию нанесением на межлопаточную область 150 мкл 3% спиртового раствора оксазолон, на втором этапе — ректально на глубину 7-8 см вводили 150 мкл 3% спиртового раствора оксазолон [9, 1]. Для анестезии использовали препарат «Золетил-100» («Virbac Sante Animal», Франция) в дозе 20 мг/кг. Верификацию ЯК осуществляли с помощью морфологических и клинических методов. Для оценки клинического статуса использовали модифицированную шкалу Disease activity index (DAI) (W.R. Best 1976 г.), адаптированную для крыс, и включающую 3 параметра: масса тела, консистенция стула и наличие крови в кале. Оценку проводили у каждой крысы ежедневно по 4-х балльной шкале от 0 до 4, баллы суммировали (Таблица 1).

Исследования проводили на 2, 4 и 6 сутки. Суппозитории, содержащие в качестве основного действующего вещества водный раствор витамина D, готовили на основе полиэтиленгликоля с различной молекулярной массой с добавлением в качестве вспомогательных веществ для соответствия лекарственной формы фармацевтико-технологическим и биофармацевтическим параметрам эмульгатор Т-2, кремофор RH-40 и колифор. Содержание изопропанол-растворимых и гептан-растворимых первичных (диеновых конъюгатов (ДК)), вторичных (кетодиенов и сопряженных триенов (КДиСТ)) и конечных (основания Шиффа (ШО)) продуктов ПОЛ в гомогенате слизистой оболочки очага повреждения толстого кишечника определяли экстрационно-спектрофотометрическим ме-

psoriasis, which suggests its effect in UC [6, 7, 1].

The aim

To study the effect of vitamin D3 in the composition of rectal suppositories of the original composition on the content of lipid peroxidation products in the mucous membrane of the colon in experimental UC.

Materials and methods

The experiment was performed on 49 Wistar rats weighing 240-250 g under standard conditions of the experimental biological clinic (vivarium) in accordance with the rules of humane treatment of animals, guidelines for their removal from experience and euthanasia [8]. Animals were randomly divided into groups: I (n = 7) — intact control; II (n = 21) — animals with UC; III (n = 21) — animals with UC in the conditions of use of rectal suppositories with vitamin D3 every 12 hours. UC was simulated by two-stage administration of oxazolone (Sigma-aldrich, USA): at the first stage, skin cutaneous sensitization was performed by applying 150 µl of a 3% alcohol solution of oxazolone to the interscapular region, and at the second stage, 150 µl of 3% alcohol was injected rectally to a depth of 7-8 cm oxazolone solution [9, 1]. For anesthesia, the drug Zoetil-100 (Virbac Sante Animal, France) was used at a dose of 20 mg/kg. Verification of UC was carried out using morphological and clinical methods. To assess the clinical status, a modified Disease activity index (DAI) scale was used (W.R. Best 1976), adapted for rats, and includes 3 parameters: body weight, stool consistency, and the presence of blood in the feces. Each rat was evaluated daily on a 4-point scale from 0 to 4, and the scores were summarized (Table 1).

Table 1
Disease Activity Index (DAI) Scale

Parameter	Score	Description
Weight Loss	0	No Loss
	1	1-5% reduction
	2	6-10% reduction
	3	Decrease by 11-20%
	4	Reduced by more than 21%
stool consistency	0	Normal stool
	2	Unformed chair
	4	Diarrhea (3 or more episodes of bowel movements per day for 2 or more days in a row)
Rectal bleeding	0	No blood in the feces
	1	Positive fecal benzidine test
	2	Positive fecal benzidine test and visual analysis of feces
	4	Rectal bleeding, blood around the anus

Studies were carried out on the 2.4 and 6 days. Suppositories containing an aqueous solution of vitamin D as the main active ingredient were prepared on the basis of polyethylene glycol with various molecular weights

тодом [10, 11]. Метод определения продуктов перекисного окисления липидов основан на феномене перегруппировки двойных связей в диеновые конъюгаты при перекислении полиненасыщенных жирных кислот [12]. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Statistica 10.0 for Windows» с использованием непараметрических критериев Краскелла-Манна-Уитни, Вальда Вольфовица, Колмогорова-Смирнова. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Таблица 1

Шкала определения индекса активности болезни (DAI)

Параметр	Балл	Описание
Потеря массы тела	0	Нет потери
	1	Снижение на 1-5%
	2	Снижение на 6-10%
	3	Снижение на 11-20%
	4	Снижение на более 21%
Консистенция стула	0	Нормальный стул
	2	Неоформленный стул
	4	Диарея (3 и более эпизодов дефекации в сутки в течении 2 и более дней подряд)
Ректальное кровотечение	0	Нет крови в фекалиях
	1	Позитивная бензидиновая проба в фекалиях
	2	Позитивная бензидиновая проба в фекалиях и визуальное определение крови в фекалиях
	4	Ректальное кровотечение, кровь вокруг ануса

Результаты исследования

При экспериментальном ЯК у животных на 2 сутки наблюдения снижается масса тела, увеличивается количество дефекаций, консистенция кала становится жидкой, появляется кровь, определяемая визуально и с проведением бензидиновой пробы, на 4 и 6 сутки клинические признаки усугубляются. Клиническая картина нашла отражение в статистически значимом увеличении индекса DAI на 2 сутки (7,00 (3,00-7,00) у.е.; у интактных животных 0 у.е.; $p < 0,01$), на 4 сутки (8,00 (6,00-10,00) у.е.; 0 у.е.; $p < 0,01$) и на 6 сутки (11,00 (9,00-11,00) у.е.; 0 у.е.; $p < 0,01$). Как видно, DAI прогрессивно увеличивается от 2 к 6 суткам наблюдения.

При оценке продуктов ПОЛ в гомогенате слизистой оболочки толстого кишечника при ЯК на 2 сутки зарегистрировано статистически значимое увеличение в гептановой фазе липидного экстракта уровня первичных, вторичных и конечных продуктов, в изопропанольной фазе — вторичных и конечных продуктов ПОЛ (Таблица 2).

with the addition of T-2 emulsifier, cremophor RH-40 and coliphor as excipients for pharmaceutical dosage and technological parameters. The content of isopropanol-soluble and heptane-soluble primary (diene conjugates (DC)), secondary (ketodienes and conjugated trienes (CDST)) and final (Schiff bases (SC)) LPO products in the homogenate of the mucous membrane of the lesion of the large intestine was determined by extraction spectrophotometric method [10, 11]. The method for determining lipid peroxidation products is based on the phenomenon of rearrangement of double bonds into diene conjugates during the oxidation of polyunsaturated fatty acids [12]. Statistical processing of the results was carried out using the program “Statistica 10.0 for Windows” using non-parametric criteria Kraskell-Mann-Whitney, Wald Wolfowitz, Kolmogorov-Smirnov. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Table 2

The effect of local application of vitamin D3 in rectal suppositories on the content of lipid peroxidation products in the homogenate of the large intestine mucosa in experimental UC (Me (Q25-Q75))

Parameter	Group 1 Intact (n=7)	Group 2 UC			Group 3 UC+ vitamin D3		
		2 days (n=7)	4 days (n=7)	6 days (n=7)	2 days (n=7)	4 days (n=7)	6 days (n=7)
DC (h) e.i.o.	0.63 (0.55-0.65)	0.79 (0.75-0.81) *	0.78 (0.77-0.78) *	0.76 (0.75-0.77) *	0.77 (0.71-0.78) *	0.68 (0.63-0.68) #	0.70 (0.65-0.73) * #
CDST (h) e.i.o.	0.06 (0.05-0.06)	0.08 (0.07-0.08) *	0.22 (0.21-0.22) *	0.09 (0.09-0.11) *	0.06 (0.06-0.09)	0.19 (0.18-0.19) * #	0.06 (0.05-0.07) #
SC (h) e.i.o.	0.01 (0.01-0.02)	0.03 (0.02-0.04) *	0.02 (0.02-0.05) *	0.05 (0.04-0.06) *	0.03 (0.02-0.04) *	0.01 (0.01-0.01) * #	0.02 (0.01-0.03) #
DC (i) e.i.o.	0.34 (0.32-0.36)	0.38 (0.33-0.43)	0.55 (0.52-0.56) *	0.43 (0.43-0.45) *	0.38 (0.33-0.43)	0.51 (0.51-0.51) * #	0.41 (0.39-0.42) * #
CDST (i) e.i.o.	0.31 (0.29-0.32)	0.72 (0.56-0.91) *	0.51 (0.51-0.57) *	0.48 (0.47-0.49) *	0.72 (0.56-0.91) *	0.42 (0.41-0.43) * #	0.42 (0.41-0.42) * #
SC (i) e.i.o.	0.01 (0.01-0.02)	0.07 (0.07-0.09) *	0.24 (0.21-0.31) *	0.11 (0.11-0.14) *	0.07 (0.07-0.09) *	0.01 (0.01-0.01) #	0.06 (0.05-0.08) * #

Note. * — significant ($p < 0.01$) differences with group 1, # — with group 2. The indicators reflect the content of lipid peroxidation products in heptane (h) and isopropanol (i) phases of the lipid extract of the mucous membrane homogenate of the large intestine.

The results of the study

In experimental UC in animals, body weight decreases on the 2nd day of observation, the number of bowel movements increases, the stool texture becomes liquid,

Таблица 2

Влияние локального применения витамина D₃ в составе ректальных суппозиториях на содержание продуктов ПОЛ в гомогенате слизистой оболочки толстого кишечника при экспериментальном ЯК (Ме (Q₂₅-Q₇₅))

Показатели	Группа 1 Интактные (n=7)	Группа 2 ЯК			Группа 3 ЯК+ витамин D ₃		
		2 сутки (n=7)	4 сутки (n=7)	6 сутки (n=7)	2 сутки (n=7)	4 сутки (n=7)	6 сутки (n=7)
ДК (г) е.и.о.	0,63 (0,55-0,65)	0,79 (0,75-0,81) *	0,78 (0,77-0,78) *	0,76 (0,75-0,77) *	0,77 (0,71-0,78) *	0,68 (0,63-0,68) #	0,70 (0,65-0,73) * #
КДиСТ (г) е.и.о.	0,06 (0,05-0,06)	0,08 (0,07-0,08) *	0,22 (0,21-0,22) *	0,09 (0,09-0,11) *	0,06 (0,06-0,09)	0,19 (0,18-0,19) * #	0,06 (0,05-0,07) #
ШО (г) е.и.о.	0,01 (0,01-0,02)	0,03 (0,02-0,04) *	0,02 (0,02-0,05) *	0,05 (0,04-0,06) *	0,03 (0,02-0,04) *	0,01 (0,01-0,01) * #	0,02 (0,01-0,03) #
ДК (и) е.и.о.	0,34 (0,32-0,36)	0,38 (0,33-0,43)	0,55 (0,52-0,56) *	0,43 (0,43-0,45) *	0,38 (0,33-0,43)	0,51 (0,51-0,51) * #	0,41 (0,39-0,42) * #
КДиСТ (и) е.и.о.	0,31 (0,29-0,32)	0,72 (0,56-0,91) *	0,51 (0,51-0,57) *	0,48 (0,47-0,49) *	0,72 (0,56-0,91) *	0,42 (0,41-0,43) * #	0,42 (0,41-0,42) * #
ШО (и) е.и.о.	0,01 (0,01-0,02)	0,07 (0,07-0,09) *	0,24 (0,21-0,31) *	0,11 (0,11-0,14) *	0,07 (0,07-0,09) *	0,01 (0,01-0,01) #	0,06 (0,05-0,08) * #

Примечание. * — значимые (p<0,01) различия с группой 1, # — с группой 2.

Показатели отражают содержание продуктов ПОЛ в гептановой (г) и изопропанольной (и) фазах липидного экстракта гомогената слизистой оболочки толстого кишечника.

На 4 сутки экспериментального ЯК зафиксировано статистически значимое увеличение в гептановой и в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената слизистой оболочки толстой кишки первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ. На 6 сутки ЯК обнаружено статистически значимое увеличение в гептановой и в изопропанольной фазах первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ.

Двумя основными свойствами любого лекарственного вещества, влияющими на его кишечную проницаемость, являются растворимость в воде и его липофильность. Для того чтобы субстанция абсорбировалась через стенку кишечника, она, с одной стороны, должна раствориться в среде ЖКТ, достигнуть слизистой оболочки, а с другой стороны — достаточно липофильной, чтобы проникнуть через липидный барьер мембран. На данные параметры влияют многие факторы, среди которых можно выделить степень ионизации вещества и заряд, его кислотно-основные свойства, молекулярную массу, водородные связи и т.д.

Для разработки составов суппозиториях с витами-

blood appears visually and with a benzidine test; on the 4th and 6th day, clinical signs are aggravated. The clinical picture was reflected in a statistically significant increase in the DAI index on the 2nd day (7.00 (3.00-7.00) cu; in intact animals, 0 cu; p<0.01), on the 4th day (8.00 (6.00-10.00) cu; 0 cu; p<0.01) and on the 6th day (11.00 (9.00-11.00) cu.; 0 e.; p<0.01). As can be seen, DAI progressively increases from 2 to 6 days of observation.

When evaluating LPO products in the homogenate of the large intestine mucosa with UC on day 2, a statistically significant increase in the level of primary, secondary and final products in the heptane phase of the lipid extract was recorded, and in the isopropanol phase, secondary and final LPO products (Table 2). On the 4th day of the experimental UC, a statistically significant increase in the heptane and isopropanol phase of the lipid extract of the mucous membrane homogenate of the colon of the primary, secondary and final LPO products was recorded. On the 6th day of UC, a statistically significant increase was found in the heptane and isopropic phases of primary, secondary, and final LPO products.

The two main properties of any drug substance that affect its intestinal permeability are its solubility in water and its lipophilicity. In order for the substance to be absorbed through the intestinal wall, on the one hand, it must dissolve in the gastrointestinal tract, reach the mucous membrane, and on the other hand, it is lipophilic enough to penetrate through the lipid bilayer of the membrane. These parameters are influenced by many factors, among which one can distinguish the degree of ionization of the substance and charge, its acid-base properties, molecular weight, hydrogen bonds, etc.

To develop the compositions of suppositories with vitamin D, hydrophilic, diphilic and lipophilic bases were chosen, which included excipients of various nature. In total, more than 20 compositions were considered. the choice of basis was based on a complex of biopharmaceutical and pharmaceutical technological studies, since it is a matter of creating a fundamentally new drug with more pronounced biopharmaceutical and new pharmacological properties. Based on the data obtained in the study of the kinetics of the release of the active substance from the dosage form in the Dissolution test, the optimal composition of the dosage form was determined: Vitamin D₃ solution, aqueous — 1 ml; PEG 1500 — 0.3; PEG 6000 — 0.5; Emulsifier T-2 — 0.1; Cremophor RH-40 — 1.15; colifor — 0.55. Suppositories were prepared as follows. In a beaker, the base components were fused in the sequence of PEG 6000, emulsifier T-2, colifor, cremophor RH-40, PEG 1500 in a water bath at a temperature of no more than 70°C with constant stirring. Then the mixture was kept for 30 minutes at a temperature of 45°C without stirring for deaeration. A solution of vitamin D₃ was introduced into the semi-cooled base, continuously stirring with a glass rod. The metal suppository forms were wiped with a gauze swab moistened with liquid paraffin, cooled in

ном D, выбраны гидрофильные, дифильные и липофильные основы, в состав которых входили различные по своей природе вспомогательные вещества. Всего рассмотрено более 20 композиций. Выбор основы базировался на проведении комплекса биофармацевтических и фармацевтико-технологических исследований, поскольку речь идет о создании принципиально нового лекарственного препарата с более выраженными биофармацевтическими и новыми фармакологическими свойствами. На основании данных, полученных при исследовании кинетики высвобождения действующего вещества из лекарственной формы в тесте «Растворение», был определен оптимальный состав лекарственной формы: Раствор витамина D3 водный — 1 мл; ПЭГ 1500 — 0,3; ПЭГ 6000 — 0,5; Эмульгатор Т-2 — 0,1; Кремофор RH-40 — 1,15; колифор — 0,55. Суппозитории готовили следующим образом. В химическом стакане сплавливали компоненты основы в последовательности ПЭГ 6000, эмульгатор Т-2, колифор, кремофор RH-40, ПЭГ 1500 на водяной бане при температуре не более 70°C при постоянном перемешивании. Затем смесь выдерживали 30 минут при температуре 45°C без перемешивания для дезаэрирования. В полуостывшую основу вводили раствор витамина D3, непрерывно помешивая стеклянной палочкой. Металлические суппозиторные формы протирали марлевым тампоном, смоченным вазелиновым маслом, охлаждали в холодильнике при температуре 3-5°C в течение 5-6 минут и разливали приготовленную суппозиторную массу. Формы помещали в холодильник на 7-10 минут, после чего застывшие суппозитории вынимали. Качество суппозитория оценивали в соответствии с ОФС.1.4.1.0013.15 Суппозитории.

Применение при экспериментальном ЯК ректальных суппозитория с витамином D3 приводит к изменению клинической картины у животных. Масса тела на фоне применения витамина D3 не снижалась, каловые массы были более плотными, кровь определялась только в бензидиновой пробе, индекс DAI статистически значительно уменьшился на 4 сутки (4,00 (4,00-5,00) у.е.; $p < 0,01$) и на 6 сутки (4,00 (4,00-4,00) у.е.; $p < 0,01$), а на 2 сутки уменьшается на правах тенденции (5,00 (5,00-5,00) у.е.).

На фоне применения при экспериментальном ЯК ректальных суппозитория с витамином D3 в гомогенате слизистой оболочки толстого кишечника на 2 сутки не обнаружено значимых изменений содержания первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта (табл. 2). На 4 и 6 сутки ЯК в условиях применения ректальных суппозитория с витамином D3 в гептановой и в изопропанольной фазах липидного экстракта статистически значительно снижаются первичные, вторичные и конечные продукты ПОЛ.

Таким образом, при экспериментальном оксазолон-индуцированном ЯК зафиксированы клинические признаки, характерные для этого заболевания. В гомогенате слизистой оболочки толстой кишки в липид-

the refrigerator at a temperature of 3-5°C for 5-6 minutes and the prepared suppository mass was poured. The forms were placed in the refrigerator for 7-10 minutes, after which the frozen suppositories were removed. The quality of suppositories was evaluated in accordance with the General Pharmacopoeia Monograph 1.4.4.1.0013.15 Suppositories.

The use of rectal suppositories with vitamin D3 in experimental UC leads to a change in the clinical picture in animals. Body weight did not decrease with the use of vitamin D3, feces were denser, blood was determined only in a benzidine test, the DAI index statistically significantly decreased by 4 days (4.00 (4.00-5.00) cu; $p < 0.01$) and on the 6th day (4.00 (4.00-4.00) cu; $p < 0.01$), and on the 2nd day it decreases on the rights of the trend (5.00 (5.00-5.00) cu).

On the background of the use of rectal suppositories with vitamin D3 in experimental UC in the homogenate of the large intestine mucosa, no significant changes in the content of primary, secondary, and final lipid peroxidation products in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract were detected on the 2nd day (Table 2).

On the 4th and 6th day of UC under the conditions of the use of rectal suppositories with vitamin D3 in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract, the primary, secondary, and final LPO products are statistically significantly reduced.

Thus, in experimental oxazolone-induced UC, clinical signs characteristic of this disease were recorded. In the homogenate of the mucous membrane of the colon in the lipid extract, the content of primary, secondary and final products increases in the heptane phase, which accumulates triglycerides, as well as in the isopropanol phase, which concentrates most of the membrane phospholipids. The source of ROS initiating the generation of lipid peroxidation products in the colon wall is predominantly phagocytic cells — neutrophils, monocytes / macrophages, whose infiltration is a characteristic morphological sign of UC [13]. In addition, endotheliocytes can participate in the formation of ROS, including in connection with the activation of eNOS, the synthesis of nitric oxide (II) and peroxy nitrite. Pro-inflammatory cytokines (prostaglandins, leukotrienes, cytokines — IL-1, IL-6, IL-8, TNF-alpha and ROS) secreted by monocytes and other cells after damage to the mucous membrane of the large intestine cause mature neutrophils to escape from the bone marrow into the focus of inflammation, leading to neutrophilic infiltration [14]. In the dynamics of the experimental UC, we noted that the content of secondary lipid peroxidation products in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract of the colon mucosa, as well as the final products in the isopropanol phase, is significantly higher on day 4 than on day 2, and significantly lower on day 6 than on 4 days, which indicates a predominant increase in the content of these products of lipid peroxidation in the colon mucosa on the 4th day of observation.

We believe that oxidative stress in the colon wall,

ном экстракте повышается содержание первичных, вторичных и конечных продуктов в гептановой фазе, аккумулирующей триглицериды, а также в изопропанольной фазе, сосредоточивающей большую часть мембранных фосфолипидов. Источником АФК, инициирующих генерацию продуктов ПОЛ в стенке толстой кишки выявляются преимущественно фагоцитирующие клетки – нейтрофилы, моноциты/макрофаги, инфильтрация которыми является характерным морфологическим признаком ЯК [13]. Кроме этого, в образовании АФК могут участвовать эндотелиоциты, в том числе в связи с активацией eNOS, синтезом оксида азота(II) и пероксинитрита. Провоспалительные цитокины (простагландины, лейкотриены, цитокины — IL-1, IL-6, IL-8, TNF-альфа и АФК), выделяющиеся моноцитами и другими клетками после повреждения слизистой оболочки толстого кишечника, вызывают выход из костного мозга зрелых нейтрофилов в очаг воспаления, что ведет к нейтрофильной инфильтрации [14].

В динамике экспериментального ЯК нами отмечено, что содержание вторичных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта слизистой толстой кишки, а также конечных продуктов в изопропанольной фазе на 4 сутки значимо выше, чем на 2 сутки, а на 6 сутки значимо ниже, чем на 4 сутки, что свидетельствует о преимущественном увеличении содержания указанных продуктов ПОЛ в слизистой толстой кишки на 4 сутки наблюдения.

Полагаем, что оксидативный стресс в стенке толстой кишки, отражаемый высоким содержанием продуктов ПОЛ, вносит существенный вклад в патогенез повреждения толстого кишечника и формирование клинической картины ЯК. Нами при проведении корреляционного анализа обнаружены связи между DAI и содержанием продуктов ПОЛ в стенке толстой кишки (таблица 3).

Таблица 3

Корреляция между содержанием продуктов ПОЛ в гомогенате слизистой оболочке толстого кишечника и индексом активности болезни при экспериментальном ЯК

Показатели	Группа 2 ЯК		
	2 сутки (n=7)	4 сутки (n=7)	6 сутки (n=7)
ДК (г), е.и.о.	R=0,39	R=0,28	R=0,25
КДиСТ (г), е.и.о.	R=0,55	R=0,14	R=0,71
ШО (г), е.и.о.	R=0,15	R=0,57	R=0
ДК (и), е.и.о.	R=0,26	R=0,86	R=0
КДиСТ (и), е.и.о.	R=0,41	R=0,91	R=0,28
ШО (и), е.и.о.	R=0,89	R=0,44	R=0,28

Примечание. Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена (R) с индексом активности болезни (DAI, у.е.). Полужирным шрифтом выделены статисти-

reflected by the high content of lipid peroxidation products, makes a significant contribution to the pathogenesis of damage to the colon and the formation of the clinical picture of UC. When conducting a correlation analysis, we found the relationship between DAI and the content of lipid peroxidation products in the colon wall (Table 3).

Table 3

Correlation between the content of lipid peroxidation products in the homogenate of the mucous membrane of the large intestine and the disease activity index in experimental UC

Parameter	Group 2 UC		
	2 days (n=7)	4 days (n=7)	6 days (n=7)
DC (h). e.i.o.	R=0.39	R=0.28	R=0.25
CDST (h). e.i.o.	R=0.55	R=0.14	R=0.71
SC (h). e.i.o.	R=0.15	R=0.57	R=0
DC (i). e.i.o.	R=0.26	R=0.86	R=0
CDST (i). e.i.o.	R=0.41	R=0.91	R=0.28
SC (i). e.i.o.	R=0.89	R=0.44	R=0.28

Note. The values of the Spearman correlation coefficient (R) with the disease activity index (DAI, y.e.) are given. Statistically significant ($p<0.05$) connections are highlighted in bold.

Thus, the DAI in experimental UC increases by 2 days as the content of secondary lipid peroxidation products in the colon wall in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract increases, as well as the final products in the isopropanol phase. On the 4th day — as the content of the final products in the heptane and isopropanol phases increases, as well as the primary and secondary products in the isopropanol phase, on the 6th day — as the content of the final products in the heptane phase increases. As can be seen, the largest number of statistically significant relationships were recorded between DAI and the content of lipid peroxidation products in the isopropanol phase of the lipid extract of the mucous membrane homogenate of the large intestine on the 2nd and 4th day of experimental UC.

In experimental UC, we have found a POL-limiting effect of local application of vitamin D3 in rectal suppositories. When assessing the content of lipid peroxidation products in the intestinal wall in the dynamics of UC under local application of vitamin D3, it was found that on the 4th day of the experiment, the level of primary and secondary lipid peroxidation products in the heptane and isopropanol phases is significantly lower than on the 2nd day, and on the 6th day the content of secondary products in the heptane phase and primary products in the isopropanol phase is significantly lower than on the 4th day of the experiment, which suggests a potentiating LPO-limiting effect of vitamin D3. However, the entire spectrum of LPO products, with the exception of secondary products in the heptane phase and primary products in the isopropanol phase on the 2nd day, primary products in the heptane phase on the 4th day and final products in the isopropanol

чески значимые ($p < 0,05$) связи.

Так, показатель DAI при экспериментальном ЯК увеличивается на 2 сутки по мере увеличения содержания вторичных продуктов ПОЛ в стенке толстого кишечника в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта, а также конечных продуктов в изопропанольной фазе. На 4 сутки — по мере увеличения содержания конечных продуктов в гептановой и изопропанольной фазах, а также первичных и вторичных продуктов в изопропанольной фазе, на 6 сутки — по мере увеличения содержания конечных продуктов в гептановой фазе. Как видно, наибольшее количество статистически значимых связей зафиксировано между DAI и содержанием продуктов ПОЛ в изопропанольной фазе липидного экстракта гомогената слизистой оболочки толстого кишечника на 2 и 4 сутки экспериментального ЯК.

Нами обнаружен при экспериментальном ЯК ПОЛ-ограничивающий эффект локального применения витамина D3 в составе ректальных суппозиторий. При оценке содержания продуктов ПОЛ в стенке кишечника в динамике ЯК в условиях локального применения витамина D3 выявлено, что на 4 сутки эксперимента уровень первичных и вторичных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах значимо ниже, чем на 2 сутки, а на 6 сутки содержание вторичных продуктов в гептановой фазе и первичных продуктов в изопропанольной фазе значимо ниже, чем на 4 сутки эксперимента, что позволяет говорить о потенцирующем ПОЛ-ограничивающем эффекте витамина D3. Однако весь спектр продуктов ПОЛ за исключением на 2 сутки вторичных продуктов в гептановой фазе и первичных продуктов в изопропанольной фазе, на 4 сутки — первичных продуктов в гептановой фазе и конечных продукты в изопропанольной фазе, на 6 сутки — вторичных и конечных продуктов, а в гептановой фазе не достигал значений в группе интактных животных, что свидетельствует только о частичном восстановлении содержания продуктов ПОЛ в стенке толстого кишечника при ЯК в условиях применения витамина D3.

Полагаем, что механизм протекторного действия витамина D3 при ЯК является многофакторным [15, 16]. Так, в доступной литературе имеются сведения о противовоспалительном и иммуномодулирующем эффектах витамина D3. В частности, при рассеянном склерозе показано, что применение витамина D3 приводит к увеличению продукции IL-10 и числу Treg-клеток, изменение баланса Th1/Th2 в сторону Th2 зависимого иммунного ответа [17]. При применении витамина D3 при псориазе зафиксировано усиление экспрессии хемокинового рецептора, который связывает выделяемый кератиноцитами лиганд CCL27, направляющий в кожу T-лимфоциты, способствует дифференцировке Treg-клеток, оказывает иммуноподавляющее действие в участке воспаленной кожи. Кроме того, подавляет продукцию IFN- γ , IL-23 и IL-17 [18]. При ревма-

phase, secondary and final products on the 6th day, and in the heptane phase phase did not reach values in the group of intact animals, which indicates only a partial restoration of the content of lipid peroxidation products in the wall of the colon with UC under the conditions of vitamin D3. We believe that the protective effect of vitamin D3 in UC is multifactorial [15, 16]. So, in the available literature there is information about the anti-inflammatory and immunomodulatory effects of vitamin D3. In particular, with multiple sclerosis, it was shown that the use of vitamin D3 leads to an increase in the production of IL-10 and the number of Treg cells, a change in the Th1/Th2 balance towards the Th2 dependent immune response [17]. When vitamin D3 was used in psoriasis, an increase in the expression of the chemokine receptor was detected, which binds CCL27 ligand secreted by keratinocytes, directing T lymphocytes into the skin, promotes the differentiation of Treg cells, and has an immunosuppressive effect in the area of inflamed skin. In addition, it inhibits the production of IFN- γ , IL-23, and IL-17 [18]. In rheumatoid arthritis in the synovial fluid, a marker of disease activity is an increase in IL-17, vitamin D3 has an inhibitory effect on Th17 cells and their production of IL-17. The use of vitamin D3 in the above diseases is associated with the suppression of the production of IL-8 — an activator of the functional activity of neutrophils, monocytes, macrophages. In dendritic cells (DCs), vitamin D3 inhibits the transcription of proteins necessary for phagocytic and antigen-presenting functions, making these cells immunologically tolerant, inhibits TLR expression, inhibits the formation of CD40, CD80, CD83 and CD86 molecules on the surface of DCs, and such DCs, in turn produce less IL-2 and IFN- γ , and IL-10 is isolated instead of IL-12 [19].

Findings

1. With oxazolone-induced UC, the disease activity index rises on days 2, 4, and 6, which is associated with the content of primary, secondary, and final LPO products in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract of the colon mucosa homogenate.

2. A new dosage form was developed and a complex of pharmaceutical and technological studies of rectal suppositories of the original composition containing 10% aqueous solution of vitamin D3, which can be used in UC.

3. The use of original rectal suppositories with vitamin D3 in experimental UC on the 4th and 6th day of observation leads to a decrease in the disease activity index and a partial restoration of the content of primary, secondary and final LPO products in the heptane and isopropanol phases of the lipid extract of the colon mucosa homogenate.

тоидном артрите в синовиальной жидкости маркером активности болезни служит повышение ИЛ-17, витамин D3 оказывает ингибирующее влияние на Th17-клетки и продукцию ими ИЛ-17. Применение витамина D3 при выше перечисленных заболеваниях связано с подавлением выработки ИЛ-8 — активатора функциональной активности нейтрофилов, моноцитов, макрофагов. У дендритных клеток (ДК) витамин D3 ингибирует транскрипцию белков, необходимых для фагоцитирующей и антигенпрезентирующей функции, делая эти клетки иммунологически толерогенными, препятствует экспрессии TLR, подавляет образование молекул CD40, CD80, CD83 и CD86 на поверхности ДК, а такие ДК, в свою очередь, производят меньше ИЛ-2 и IFN- γ и вместо ИЛ-12 выделяют ИЛ-10 [19].

Выводы

1. При оксазолон-индуцированном ЯК на 2, 4 и 6 сутки повышается индекс активности болезни, что ассоциируется с содержанием первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта гомогената слизистой оболочки толстой кишки.

2. Разработана новая лекарственная форма и проведен комплекс фармацевтико-технологических исследований ректальных суппозиторий оригинального состава, содержащих 10% водный раствор витамина D3, которые могут быть использованы при ЯК.

3. Применение оригинальных ректальных суппозиторий с витамином D3 при экспериментальном ЯК на 4 и 6 сутки наблюдения приводит к снижению индекса активности болезни и частичному восстановлению содержания первичных, вторичных и конечных продуктов ПОЛ в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта гомогената слизистой оболочки толстой кишки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Осиков М.В., Симонян Е.В., Бакеева А.Е., Бойко М.С., Бивалькевич В.А. Экспериментальное моделирование и перспективные направления коррекции гомеостаза при воспалительных заболеваниях кишечника // Аспирантский вестник Поволжья. 2018. № 1–2. С. 153–160. doi: 10.17816/2075-2354.2018.18.153-160.
2. Фаттал А. Экспериментальное обоснование использования таблеток экстракта коры осины при язвенных заболеваниях кишечника: автореф. Дис. На соиск. Учен. Степ. Канд. Фарм. Наук (14.03.05) / Фаттал Анас; Национальный фармацевтический университет — Харьков, 2016. с. 13-33.
3. Третьякова Ю.И., Щёкотова А.П., Булатова И.А. Особенности антиоксидантной системы и перекисидации липидов у больных язвенным колитом и их динамика в процессе противовоспалительной терапии // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 3.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24756> (дата обращения: 16.10.2019).

REFERENCES

1. Osikov M.V., Simonyan E.V., Bakeeva A.E., Boyko M.S., Bivalkevich V.A. Experimental modeling and perspective directions for the correction of homeostasis in inflammatory bowel diseases. Postgraduate Bulletin of the Volga Region. 2018. No. 1–2. S. 153-160. doi: 10.17816 / 2075-2354.2018.18.153-160. (in Rus)
2. Fattal A. Experimental justification for the use of tablets of aspen bark extract for intestinal ulcers: abstract. Dis. To the competition. Scientist Step. Cand. Farm. Sciences (14.03.05) / Fattal Anas; National University of Pharmacy - Kharkov, 2016. p. 13-33. (in Rus)
3. Tretyakov YI, Schokotova AP Bulatova IA Features of the antioxidant system and lipid peroxidation in patients with ulcerative colitis and their dynamics in the process of anti-inflammatory therapy Modern problems of science and education. 2016. No. 3.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24756> (accessed: 10/16/2019). (in Rus)
4. Gopabandhu Jena, Priyanka Pushkarbhai Trivedi &

4. Gopabandhu Jena, Priyanka Pushkarbhai Trivedi & Balanarsimha Sandala. Oxidative stress in ulcerative colitis: an old concept but a new concern // Free Radical Research. 2012. 46(11). P. 1339–1345.
5. Yuji Naito, Tomohisa Takagi, Toshikazu Yoshikawa. Neutrophil-Dependent Oxidative Stress in Ulcerative Colitis // J. Clin. Biochem. Nutr. 2007. 41. P. 18–26.
6. О.М. Драпкина, Р.Н. Шепель. Плейтропные эффекты витамина D // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2016. №12 (2). с. 227-233.
7. С.В.Мальцева, Н.В. Рылова. Витамин D и иммунитет // Практическая медицина. 2015. Т. 1. № 86.
8. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Санкт-Петербург 2012г.
9. Frank Heller, Ivan J. Fuss, Edward E. Nieuwenhuis, Richard S. Blumberg, and Warren Strober. Oxazolone Colitis, a Th2 Colitis Model Resembling Ulcerative Colitis Is Mediated by IL-13-Producing NK-T Cells // Immunity. Vol. 17. P. 629–638.
10. Львовская, Е.И., Волчегорский И.А, Шемяков С.Е. и др. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов ПОЛ // Вопросы мед. химии. 1991. № 4. С. 92–93.
11. Фомина М.А. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации. Рязань, 2014. 60 с.
12. Волчегорский, И.А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан–изопропанольных экстрактах крови / И.А. Волчегорский, А.Г. Налимов, В.Г. Яровинский // Вопр. мед. химии. 1989. Т. 35, № 1. С. 127–131.
13. Tian Tian, Ziling Wang, and Jinhua Zhang. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/4535194>.
14. Sebastiaan De Schepper, Nathalie Stakenborg, Gianluca Matteoli, Simon Verheijden, Guy E. Boeckxstaens. Muscularis macrophages: Key players in intestinal homeostasis and disease // Cellular Immunology. 2018. №330. P. 142–150.
15. Практические рекомендации по поступлению витамина d и лечению его дефицита в Центральной Европе - Рекомендуемое потребление витамина d среди населения в целом и в группах риска по дефициту витамина D / Плудовски П. [и др.] // Журнал ГрГМУ. 2014. №.2. (46). С.109-118.
16. Осиков М.В., Симонян Е.В., Бойко М.С. Влияние витамина D3 в составе ректальных суппозиторий на концентрацию IgG, IgM и IL-8 в сыворотке при экспериментальном язвенном колите // Российский иммунологический журнал. 2019. Том 13 (22), №2. С. 885-887.
17. Снопов С.А. Механизмы действия витамина D на иммунную систему // Медицинская иммунология. Balanarsimha Sandala. Oxidative stress in ulcerative colitis: an old concept but a new concern. Free Radical Research. 2012.46 (11). R. 1339–1345.
5. Yuji Naito, Tomohisa Takagi, Toshikazu Yoshikawa. Neutrophil-Dependent Oxidative Stress in Ulcerative Colitis. J. Clin. Biochem. Nutr. 2007. 41. R. 18–26.
6. O.M. Drapkina, R.N. Shepel. Pleiotropic effects of vitamin D // Rational Pharmacotherapy in Cardiology. 2016. No12 (2). from. 227-233. (in Rus)
7. S.V. Maltseva, N.V. Rylova. Vitamin D and immunity. Practical medicine. 2015.Vol. 1. No. 86.
8. Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. St. Petersburg 2012
9. Frank Heller, Ivan J. Fuss, Edward E. Nieuwenhuis, Richard S. Blumberg, and Warren Strober. Oxazolone Colitis, a Th2 Colitis Model Resembling Ulcerative Colitis Is Mediated by IL-13-Producing NK-T Cells. Immunity. Vol. 17. R. 629-638.
10. Lvovskaya, E.I., Volchegorsky I.A., Shemyakov S.E. and others. The spectrophotometric determination of POL. Questions honey end products. chemistry. Number 4. 1991. pp 92-93. (in Rus)
11. Fomina M.A. A method for a comprehensive assessment of the content of oxidative protein modification products in tissues and biological fluids: guidelines. Ryazan, 2014. 60 p. (in Rus)
12. Volchegorsky, I.A. Comparison of various approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane – isopropanol blood extracts. I.A. Volchegorsky, A.G. Nalimov, V.G. Yarovinsky. Vopr. honey. chemistry. 1989. Vol. 35, No. 1. P. 127–131. (in Rus)
13. Tian Tian, Ziling Wang, and Jinhua Zhang. Pathomechanisms of Oxidative Stress in Inflammatory Bowel Disease and Potential Antioxidant Therapies. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/4535194>.
14. Sebastiaan De Schepper, Nathalie Stakenborg, Gianluca Matteoli, Simon Verheijden, Guy E. Boeckxstaens. Muscularis macrophages: Key players in intestinal homeostasis and disease. Cellular Immunology. 2018. No.330. R. 142-150.
15. Practical recommendations for vitamin D intake and treatment of its deficiency in Central Europe - Recommended intake of vitamin D among the general population and at risk groups for vitamin D deficiency. Pludowski P. [et al.]. Journal of the State Medical University. 2014. No.2. (46). S.109-118. (in Rus)
16. Osikov MV, Simonyan EV, Boyko MS. The effect of vitamin D3 in the composition of rectal suppositories on the concentration of IgG, IgM and IL-8 in serum with experimental ulcerative colitis. Russian immunological journal. 2019. Volume 13 (22), №2. S. 885-887. (in Rus)
17. Snopov S.A. Mechanisms of action of vitamin D on the immune system. Medical Immunology. 2014, T. 16, No. 6, pp. 499-530. (in Rus)

2014, Т. 16, № 6, стр. 499-530.

18. Van der Aar A.M., Sibiryak D.S., Bakdash G., van Capel T.M., van der Kleij H.P., Opstelten D.J., Teunissen M.B., Kapsenberg M.L., de Jong E.C. Vitamin D3 targets epidermal and dermal dendritic cells for induction of distinct regulatory T cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, Vol. 127, no. 6, pp. 1532-1540.

19. Jeffery L.E., Burke F., Mura M., Zheng Y., Qureshi O.S., Hewison M., Walker L.S., Lammas D.A., Raza K., Sansom D.M. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, no. 9, pp. 5458-5467.

18. Van der Aar A.M., Sibiryak D.S., Bakdash G., van Capel T.M., van der Kleij H.P., Opstelten D.J., Teunissen M.B., Kapsenberg M.L., de Jong E.C. Vitamin D3 targets epidermal and dermal dendritic cells for induction of distinct regulatory T cells. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011, Vol. 127, no. 6, pp. 1532-1540.

19. Jeffery L.E., Burke F., Mura M., Zheng Y., Qureshi O.S., Hewison M., Walker L.S., Lammas D.A., Raza K., Sansom D.M. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, no. 9, pp. 5458-5467.

Авторы

Осиков Михаил Владимирович

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии
prof.osikov@yandex.ru

Симонян Елена Владимировна

Кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармации и химии фармацевтического факультета
elenasimonian@yandex.ru

Бойко Маргарита Сергеевна

Ассистент кафедры патологической физиологии
ri-tochka9@list.ru

ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России

454092, Российская Федерация, Уральский федеральный округ, Челябинская область, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

Authors

Mikhail V. Osikov

Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department of Pathological physiology
prof.osikov@yandex.ru

Elena V. Simonian

Cand. Sci. (Pharmaceutical), Associate Professor, Head of the Department of Pharmacy and Chemistry
elenasimonian@yandex.ru

Margarita S. Boyko

Assistant of the Department of Pathological Physiology
ri-tochka9@list.ru

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South-Ural State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

64 Vorovsky ul. Chelyabinsk Russian Federation 454092