

О.А. ГРОМОВА¹, д.м.н., И.Ю. ТОРШИН², к.ф.-м.н., Е.А. ДИБРОВА³, к.э.н.,
А.В. ГИЛЕЛЬС^{1,2}, В.И. ДЕМИДОВ¹, к.м.н.

¹ Ивановская государственная медицинская академия Минздрава России

² Московский физико-технический институт (государственный университет), Долгопрудный

³ Медицинская корпорация RHANA, Москва

ГИДРОЛИЗАТЫ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА В РЕКОНСТРУКТИВНОЙ ТЕРАПИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ХРЯЦА И СУСТАВОВ

Одним из перспективных направлений клинического применения препаратов на основе гидролизатов плаценты человека (ГПЧ) является лечение ревматоидного артрита. Показано, что пептидные компоненты ГПЧ могут способствовать существенному ускорению восстановления соединительной ткани за счет противовоспалительного и трофического действия. Представлены результаты экспериментальных исследований препаратов на основе ГПЧ для терапии моделей артрита. Рассмотрены перспективы клинического применения препаратов ГПЧ для лечения артрита.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, остеоартроз, пептиды, регенеративная терапия.

O.A. GROMOVA¹, MD, I.Y. TORSHIN², Mathematics Physics PhD, E.A. DIBROVA³, PhD in Economics,
A.V. GILEL'S^{1,2}, V.I. DEMIDOV¹, PhD in Medicine

¹ Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

² Moscow Institute of Physics and Technology (State University)

³ RHANA, Moscow

HUMAN PLACENTA HYDROLYZATES IN RECONSTRUCTIVE THERAPY OF CONNECTIVE TISSUE OF CARTILAGE AND JOINTS

Treatment of rheumatoid arthritis is one of the promising directions for the clinical application of human placenta hydrolysates (HPH). HPH peptide components can contribute to a significant acceleration of recovery of connective tissue due to anti-inflammatory and trophic effects. The results of experimental studies of HPH-containing medications for the treatment of arthritis models are presented. The prospects for clinical applications of HPH-containing preparations for the treatment of arthritis are discussed.

Keywords: rheumatoid arthritis, osteoarthritis, peptides, regenerative therapy.

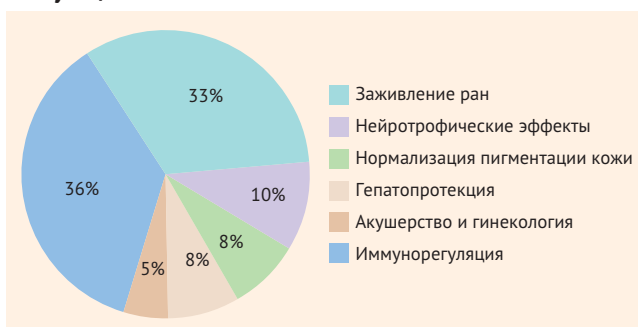
ВВЕДЕНИЕ

Препараты на основе гидролизатов плаценты человека (ГПЧ) используются в современной клинической медицине начиная с первой четверти XX в. Во многом клиническое использование ГПЧ стало возможным благодаря результатам, полученным известнейшим российским офтальмологом и хирургом В.П. Филатовым (1875–1956) [1]. С 1940-х гг. ГПЧ все более активно начинают исследоваться и в других странах (Германия, Япония, Индия, Франция) [2]. К настоящему времени опубликовано более 4500 статей по эффектам ГПЧ. Результаты проведенных исследований указали на широкий спектр возможного клинического применения ГПЧ: иммуномодуляция, ранозаживление, нейротрофические эффекты, нормализация пигментации кожи, гепатопротекция и др. (рис. 1).

Одним из перспективных направлений использования препаратов на основе ГПЧ представляется лечение ревматоидного артрита – хронического воспалительного заболевания, приводящего к прогрессирующей деструкции хрящевой ткани суставов и эрозии костной ткани. У пациентов с ревматоидным артритом, особенно у женщин и пациентов с депрессией, все большее распространение получают методы комPLEMENTАРНОЙ и альтернативной медицины, включающие, в частности, инъекции ГПЧ [3].

Экспериментальные [4, 5] и клинические [6, 7] исследования, проведенные в 1950–1960-х гг., показали эффективность использования плацентарных препаратов при лечении артритов [8]. На моделях остеоартроза у кроликов, вызванного моноиодацетатом, применение ГПЧ ингибировало деградацию протеогликана в суставном хряще, подавляло активность матричных коллагеназ 2 и 9, избыточная активность которых приводит к ускоренной деградации коллагеновых волокон соединительной ткани. Показано, что применение ГПЧ оказы-

Рисунок 1. Использование плацентарных препаратов в мировой практике. Указан % исследований по соответствующей тематике



вало проекторный эффект на хрящевую ткань коленных суставов [9].

Далее последовательно рассмотрены молекулярно-физиологические механизмы действия ГПЧ на регенерацию соединительной ткани, результаты экспериментальных исследований ГПЧ на моделях артрита и перспективы клинического применения препаратов на основе ГПЧ для терапии артрита и других патологий костно-мышечной и костно-связочной систем.

МОЛЕКУЛЯРНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ГПЧ НА РЕГЕНЕРАЦИЮ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Использование ГПЧ для ускорения процессов регенерации тканей (например, ранозаживления) основано на противовоспалительном, трофическом и антитромботическом эффектах ГПЧ. В эксперименте на модели резаной раны (выполнена биопсия эпителия длиной 8 мм) ГПЧ применялись топически и внутривенно (2,5 мл/кг). При обоих путях введения использование ГПЧ соответствовало значительному сокращению размера раны ($p < 0,05$), индекса тяжести состояния раны ($p < 0,05$), уменьшению среднего количества дней, необходимых для полного заживления ($p < 0,01$), значительному приросту эластичности рубца и прочности на растяжение ($p < 0,01$), заметному увеличению общего тканевого содержания ДНК и белков (в частности, коллагена) [10].

Важным компонентом регенеративного действия ГПЧ является *противовоспалительный эффект*. В эксперименте введение препарата стандартизированного ГПЧ в/в достоверно снижало уровни ФНО- α и фермента синтеза простагландинов ЦОГ-2 при избыточно повышенных уровнях/активности этих белков. На моделях артрита отмечены снижение воспаления и повышение болевого порога [11].

Следует отметить, что ГПЧ также характеризуются выраженным *противоболевым эффектом*. В эксперименте ГПЧ значительно ингибировал выработку фактора некроза опухоли альфа и циклооксигеназы-2, синтезирующей провоспалительные простагландины. В модели хронического артрита применение ГПЧ ослабляет отек, снижает образование гранулемы, увеличивает болевой порог в тесте Рэндалл – Селитто и продлевает время реакции крыс при нагреве поверхности кожи инфракрасными лучами [11].

Регенеративный, противовоспалительный и противоболевой эффекты ГПЧ обусловлены компонентами пептидного состава. К настоящему времени было предложено несколько различных молекулярных и физиологических механизмов, объясняющих ранозаживляющий эффект ГПЧ: увеличение уровней ростовых факторов фибробластов (ФРФ) [12], быстрая миграция нейтрофилов к ране [13], синтез NO, важнейшего клеточного медиатора в заживлении ран [14]. В частности, в составе некоторых препаратов на основе ГПЧ был найден *противовоспалительный дипептид JBP485* (цикло-транс-4-гидроксипролилсерин), который снижает уровни секре-

ции и ФНО-альфа и проявляет антиапоптотический эффект (снижение уровней и активности каспазы-3 – фермента-активатора апоптоза клеток [15]).

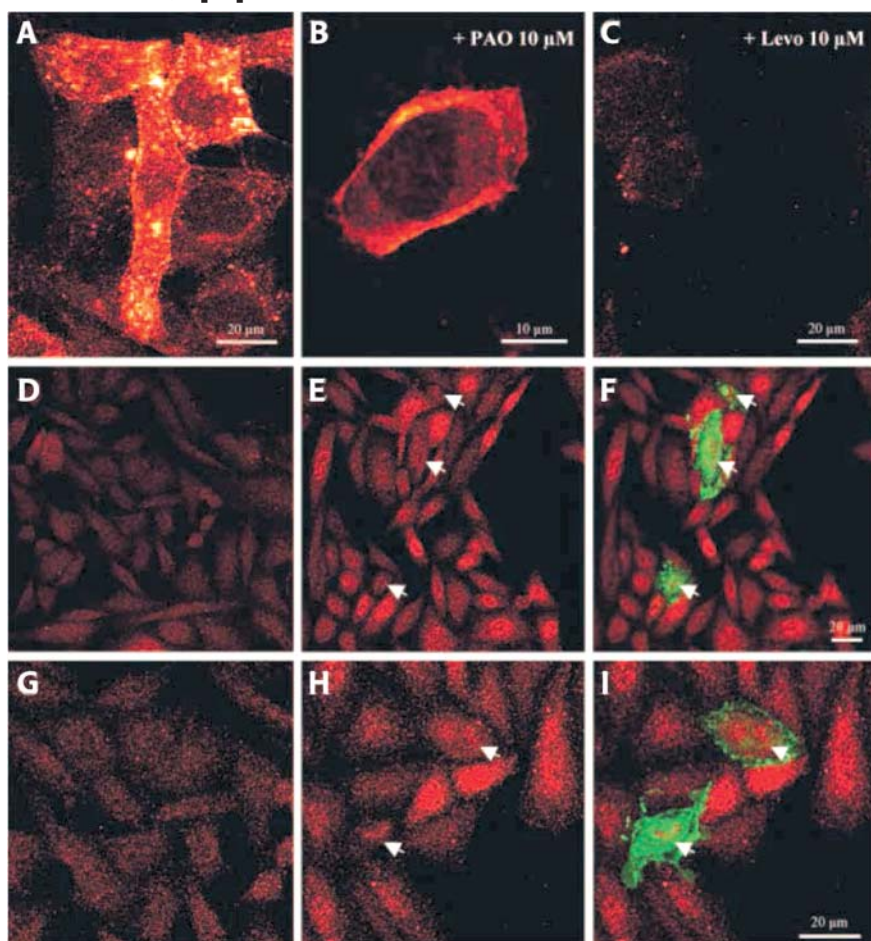
В работе [16] представлены результаты комплексного анализа пептидного состава одного из препаратов ГПЧ. В «легкой» фракции препарата (до 3000 Да) были найдены активный пептид нейромедина N и фрагмент активного пептида кокальцигенина. Было показано, что в состав данного препарата ГПЧ входят пептидные фрагменты факторов роста фибробластов (ФРФ), фактора роста гепатоцитов (ФРГ, англ. HGF), инсулиноподобного фактора роста (ИФР, англ. IGF), эпидермальный фактор роста (ЭФР, англ. EGF), фактор роста нервов (ФРН, англ. NGF) и др. Эти ростовые факторы значительно ускоряют процессы регенерации поврежденных тканей и в то же время не оказывают существенного воздействия на здоровые ткани.

Результаты проведенных исследований указали на широкий спектр возможного клинического применения ГПЧ: иммуномодуляция, ранозаживление, нейротрофические эффекты, нормализация пигментации кожи, гепатопротекция и др.

Для регенерации соединительной ткани наиболее важна активность *факторов роста фибробластов*, которые индуцируют клеточное деление фибробластов, хондроцитов, остеоцитов и других видов клеток соединительной ткани. Белки ФРФ связываются рецепторами ФРФ (FGFR) 4-х различных типов. Связываясь с одноименными рецепторами, ФРФ активируют несколько путей передачи сигнала, в т. ч. с участием таких широко известных сигнальных белков, как Mg-зависимые MAPK (митоген-активируемые протеинкиназы), ERK (внеклеточно регулируемые киназы), фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), фосфолипаза-C-гамма, JNK (Jun N-терминальная киназа) и PKC (протеинкиназа-C). Активация рецепторов вызывает фосфорилирование определенного тирозинового остатка белка FRS2, который затем взаимодействует с сигнальными белками Grb2, SOS, GAB1 и др. Эти начальные события способствуют устойчивой активации сигнального белка Ras, который, в свою очередь, активирует MEK-MAPK путь, ведущий к изменениям в транскрипции генов, отвечающих, в частности, за структуру соединительной ткани (рис. 2).

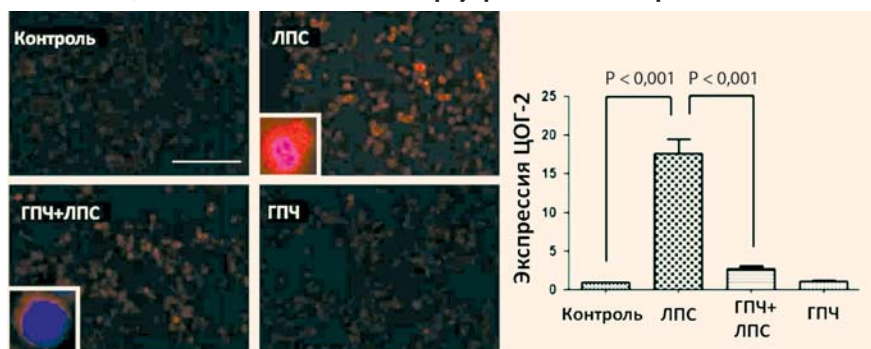
В составе препарата ГПЧ достоверно установлено присутствие пептида с аминокислотной последовательностью KIPYI [16], соответствующего биологически **активному пептиду нейромедина N**, характеризующемуся анальгезическим эффектом [17]. Низкоафинные рецепторы типа NTS2 играют важную роль в осуществлении антиноцицептивных свойств нейромедина. В экспериментальном исследовании [18] было показано, что связывание NTS2-рецепторами активного пептида нейромедина приводит к интернализации рецептора внутри клетки с последующей активацией внутриклеточного сигнального каскада внеклеточно-регулируемых киназ 1/2 (ERK1/2),

Рисунок 3. Роль интернализации рецептора NTS2 в активации сигнального каскада ERK1/2 [18]



A–C, активация рецепторов различными лигандами: нейротензин/нейромедин (A), ингибитор PAO (B); левокабастин (C). Яркость свечения точек отражает интенсивность активации рецепторов. D–I, прокрашивание для установления активации каскада ERK1/2 нейротензином/нейромедином. D и G, базальный уровень активации каскада, E–H, начинают появляться активные формы рецепторов, F и I, зеленые точки указывают на присутствие фосфорилированной формы ERK1/2, т.е. активацию всего каскада ERK1/2

Рисунок 4. Влияние ГПЧ на ЛПС-индуцированную экспрессию ЦОГ-2 в клетках линии bv2, наблюдаемых с помощью флуоресцентной микроскопии



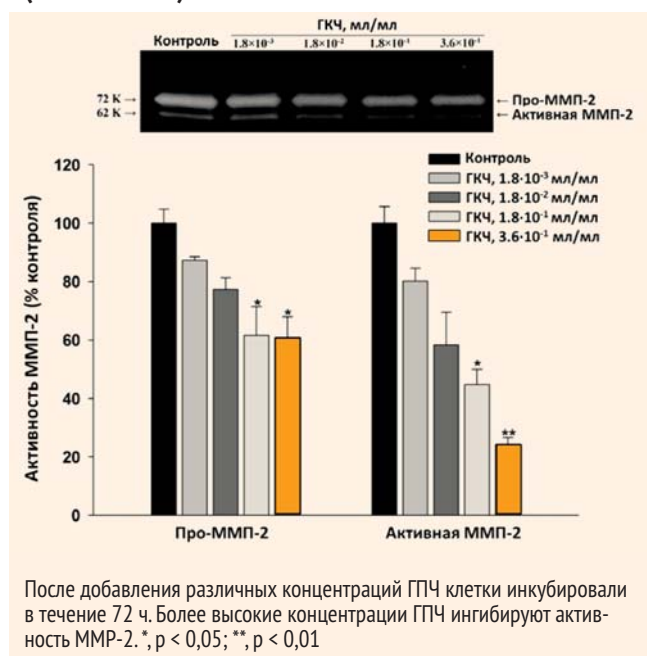
Предварительная обработка ГПЧ подавляла повышенную экспрессию ЦОГ-2, вызываемую обработкой клеток ЛПС. Масштабная линейка – 200 мкм.

Ревматоидный артрит характеризуется хроническим воспалением синовиальной оболочки сустава, что приводит к проградентному разрушению суставного хряща, связок и костей. Такие цитокины, как фактор некроза опухоли альфа (ФНО-α), интерлейкин-1-бета (ИЛ-1β) и интерлейкин 6 (ИЛ-6) вовлечены в механизмы деградации синовиальной ткани, суставов и апоптоза клеток хряща при ревматоидном артрите. В частности, цитокин ИЛ-1β участвует в разрушении хряща сустава при хроническом артрите, а не в начале опухания суставов; экспрессия ИЛ-1β постепенно увеличивается с возрастом. Цитокин ФНО-α, наоборот, участвует в разрушении хряща сустава на ранних стадиях артритического опухания суставов [25].

Применение ГПЧ оказывает *терапевтическое воздействие на воспалительные реакции в субхондральной области кости на модели артрита у крыс*. Модель ревматоидного артрита создавалась посредством подкожного введения высушенных клеток микобактерий туберкулеза, эмульгированных в сквалене. После формирования модели полиартрита (11-е сут после инъекции) ГПЧ ежедневно вводили в акупунктурную точку ST36 («Дзу-санли», т.е. точка, расположенная в переднебоковой проекции, снаружи от коленного сустава задней лапы) в течение 2-х нед. После лечения отмечена нормализация массы тела, объема лап, которые были восстановлены почти до уровней интактного контроля. Уровни цитокинов ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6 в клетках субхондральной области кости сустава значительно снижались после обработки ГПЧ по сравнению с плацебо [25].

На 25-е сут (середина хронической стадии адьювантного артрита у крыс) количество клеток, иммунопозитивных на ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6, значительно возросло в клетках, расположенных между утолщениями трабекулярной части субхондральной кости, по сравнению с интактным контролем (рис. 7). Лечение посредством ГПЧ резко снижало уровни экспрессии этих провоспалительных цитокинов, что совпадало по времени с улучшением массы тела, объема лапы и индекса состояния суставов [25].

Рисунок 5. Активность металлопротеиназы MMP-2 (желатиназа А) в остеобластах линии MG-63



ПОТЕНЦИРОВАНИЕ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ХРЯЩА И ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ АДЬЮВАНТНОГО АРТРИТА ПРЕПАРАТОМ ГПЧ

Приведенные выше результаты фундаментальных и клинических исследований препаратов на основе ГПЧ показывают перспективность использования препарата ГПЧ для реконструктивной терапии хряща и суставов. В настоящем разделе представлены результаты исследования эффектов препарата ГПЧ на модели экспериментального артрита у кроликов.

Так называемый «адьювантный артрит», вызываемый введением адьюванта Фройнда, широко используется для изучения специфической противовоспалительной и противоревматоидной активности препаратов. Адьювантный артрит во многом схож с ревматоидным артритом: для него также характерны развитие отека околосуставных тканей, деградация хряща, потеря функ-

циональной активности сустава, лимфоцитарная инфильтрация внутрисуставной полости и др. [26, 27].

Терапевтическая эффективность препарата ГПЧ оценивалась на модели адьювантного артрита у кроликов. Эксперимент проводился на 12 однополых беспородных кроликах массой тела 4,0–4,5 кг. Животные содержались в индивидуальных клетках при естественном освещении, температуре воздуха около 20–22 °С и свободном доступе к пище и воде.

Для индукции артрита в плантарную поверхность задней лапы вводили полный адьювант Фройнда (CFA, complete Freund adjuvant, пр-во Sigma-Aldrich) в объеме 250 мкл. На протяжении всего эксперимента (4 нед.) ежедневно, с перерывом на выходные, проводили клинический осмотр животных с оценкой тяжести развития патологии в баллах. При отсутствии изменений инъекционной лапы присваивалась оценка «0», при наличии слабо выраженного отека – «1», при наличии отека и слабо выраженного покраснения – «2», при наличии значительного отека и сильно выраженного покраснения – «3», при наличии сильно выраженного отека и покраснения, затрагивающих все суставы инъекционной лапы, и/или при генерализации процесса (вовлечение суставов контралатеральной лапы, суставов в основании хвоста, передних лап) – оценка «4» [28].

На 7-й день после создания модели животные были рандомизированы на две экспериментальные группы по 6 животных так, чтобы степень тяжести развития заболевания минимально различалась между группами. Далее одна из групп с 7-го дня эксперимента получала инъекции препарата ГПЧ (в/м по 0,2 мл на 1 кг массы тела), а другая – инъекции плацебо (физ. р-р) в течение 4 нед. по 3 раза в неделю.

По окончании эксперимента суставы были подвергнуты гистологическому исследованию. Для этого образцы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали и заливали в парафин. Критериями гистологической оценки служили изменения околосуставного аппарата, наличие воспалительного инфильтрата, состояние суставного хряща и костной ткани [29]. Состояние хряща по каждому из этих критериев оценивали в баллах так, что при максимальной выраженности патологического

Рисунок 6. Рентгенографические и гистологические признаки остеоартритического поражения коленного сустава через 28 сут после создания модели

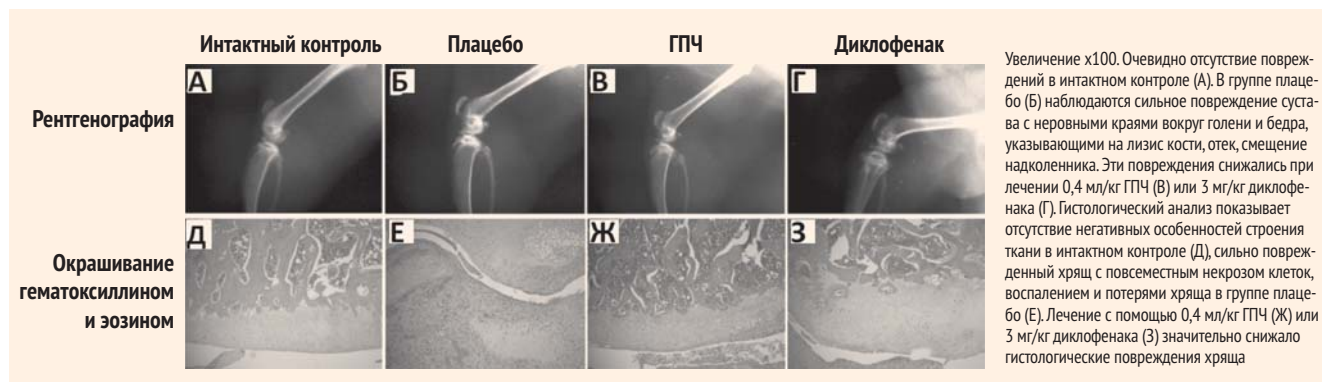
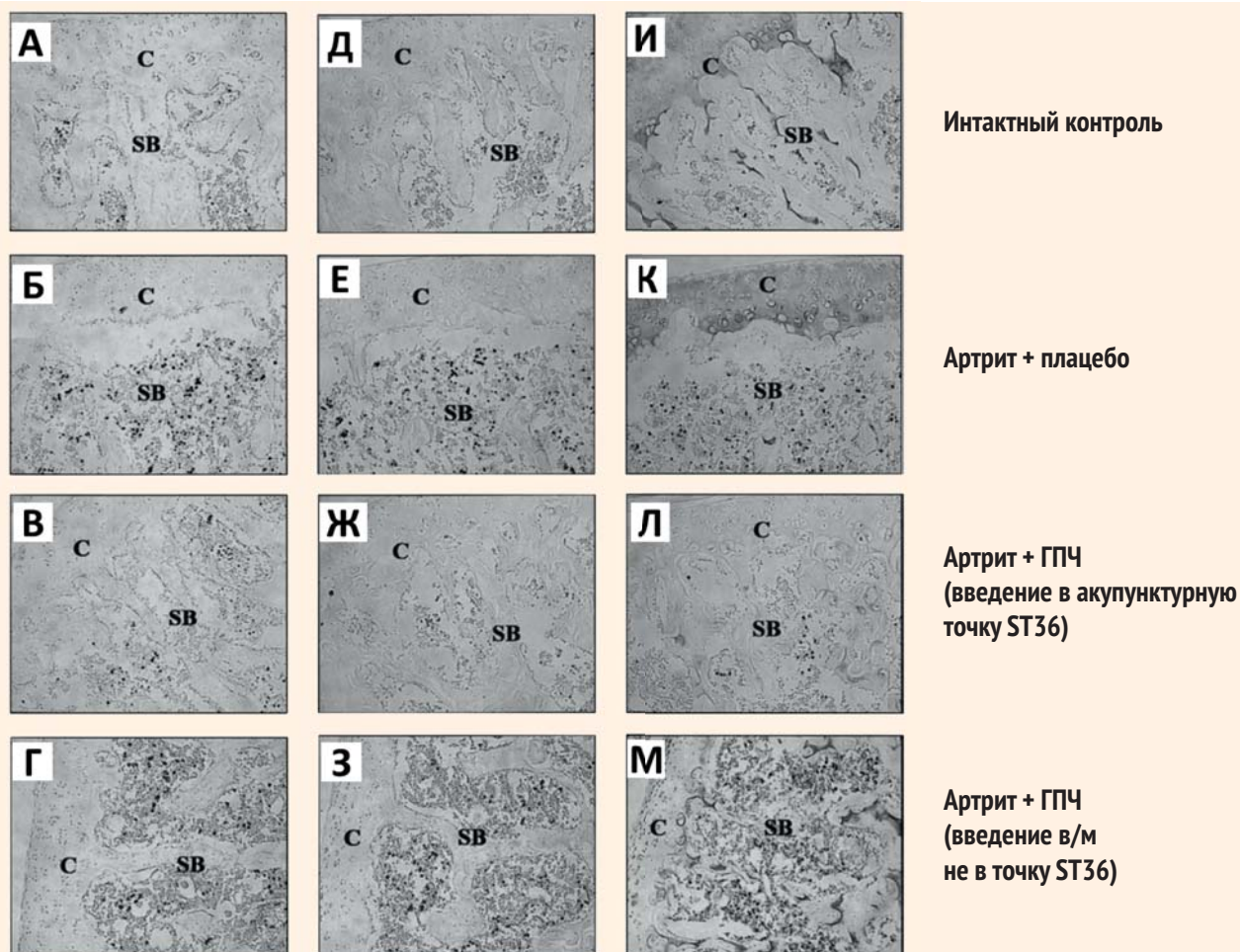


Рисунок 7. Иммуногистологическое исследование провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1 β и ИЛ-6 в субхондральной области кости на 25-й день после создания модели адьювант-индуцированного артрита



Обозначения: SB – субхондральная область кости; C – хрящ коленного сустава

Таблица 1. Динамика балла клинической оценки развития патологии

День	1-й	7-й	11-й	15-й	19-й	23-й	27-й	30-й
Контроль	2,82	3,14	2,52	2,76	2,92	2,94	3,08	2,91
Препарат ГПЧ	3,07	3,04	2,88	3,11	2,81	2,54*	2,33*	2,23*

* $p < 0,05$ – достоверное отличие (U-тест)

процесса балльная оценка для одного животного составляет 30 баллов по шкале проф. В.Г. Макарова (2015) [30].

В результате проведения эксперимента установлена положительная клиническая и гистологическая динамика, ассоциированная с использованием препарата ГПЧ. С 23-х сут эксперимента после создания модели балл клинической оценки тяжести был достоверно ниже в группе, в которой проводилась терапия препаратом ГПЧ (табл. 1).

Гистологический анализ показал, что создание модели приводило к усиленной пролиферации синовиоцитов, гиперплазии соединительной ткани, отечности. Оценка гистологического качества ткани сустава по компонентам

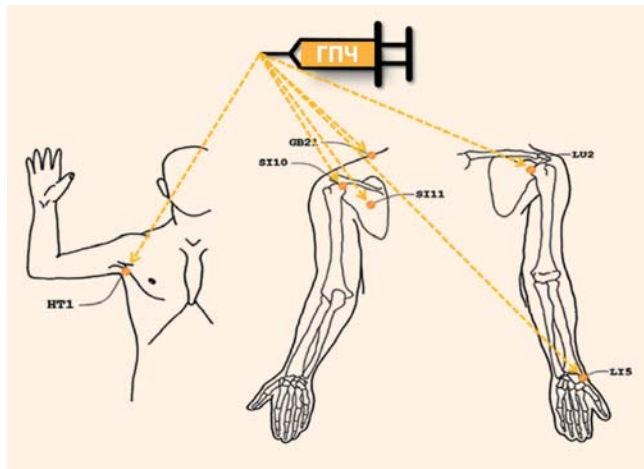
30-балльной шкалы показала достоверно более высокое качество соединительной ткани хряща в случае терапии препаратом ГПЧ по всем изученным гистологическим показателям (табл. 2).

Таблица 2. Балльные оценки развития патологии суставов

Гистологический показатель	Контроль	Препарат ГПЧ
Общее воспаление	3,46	1,70*
Сужение суставной полости	3,21	0,18*
Изменения костной ткани	1,58	0,28*
Изменения синовиальной оболочки	3,58	2,08*
Формирование паннуса	3,46	2,01*
Дегенерация хряща	2,72	1,43*
Сумма	18,01	7,67*

* $p < 0,05$, достоверное отличие (U-тест)

Рисунок 8. Точки введения препарата ГПЧ пациентке с травматическим повреждением дистальной части левого предплечья



Таким образом, гистологическое исследование показало, что у животных, получавших препарат ГПЧ, достоверно снижалось общее воспаление соединительной ткани, устранялось сужение суставной полости, предотвращались патологические изменения костной ткани и синовиальной оболочки, устранялась дегенерация хряща.

О КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГПЧ ПРИ АРТРИТЕ

Наиболее интенсивно клинические исследования эффектов ГПЧ проводились в 1950-х гг. Были получены обнадеживающие клинические результаты лечения ревматоидного артрита и артроза посредством как внутрисуставных [31], так и чрескожных инъекций ГПЧ [32, 33]. Например, в опубликованном в 1954 г. исследовании было показано, что имеются свидетельства улучшения состояния пациентов со II степенью ревматоидного артрита после подкожной имплантации ткани плаценты человека. При этом улучшение сохранялось на протяжении по меньшей мере 6 мес. после окончания терапии [34].

Современные клинические исследования эффективности стандартизированных ГПЧ только начинают проводиться. Имеющиеся результаты клинических исследований показывают, что при практическом лечении болевого синдрома при заболеваниях костно-мышечной системы лечение ГПЧ может быть проведено с использованием различных зон в/м введения препарата.

Например, в клиническом случае у пациентки А., 42 года, развился комплексный региональный болевой синдром в левой верхней конечности после травматического повреждения дистальной части левого предплечья. Боль возникла немедленно, была устойчивой к пероральным анальгетикам и электромиостимуляции. Даже через 5 мес. после травмы у пациентки отмечались сильная боль, отек, покраснение, ощущение холода в левой руке и потеря ее функции. Препарат ГПЧ вводил-

ся в акупунктурные точки LI5, LU2, SI10, HT1, GB21 и SI11 (рис. 8), которые локализованы в суставах или мышцах, ответственных за движение левой верхней конечности. Инъекции ГПЧ привели к выраженному снижению интенсивности боли, опухания, к нормализации температуры, исчезновению покраснения и восстановлению двигательных функций [35].

Балл боли по визуально-аналоговой шкале (ВАШ) уменьшался по мере проведения терапии (рис. 9). Уже после 6-й процедуры отмечены снижение балла по ВАШ до 7, уменьшение ощущений скованности, холода и отека левого сустава запястья [35].

К 22-й процедуре балл по ВАШ снизился до 3, покраснение кожи было практически полностью устранено (рис. 10).

Рисунок 9. Влияние инъекций ГПЧ на балл боли по визуальной аналоговой шкале (ВАШ)

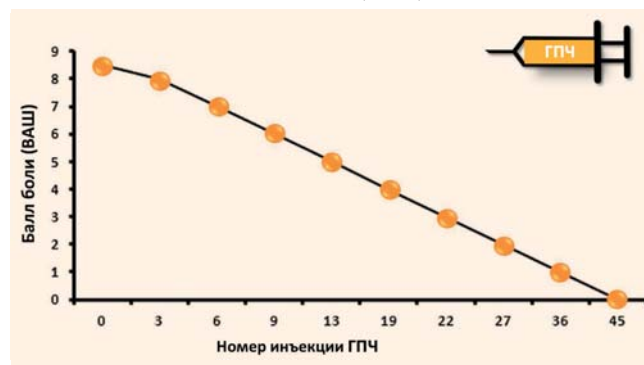
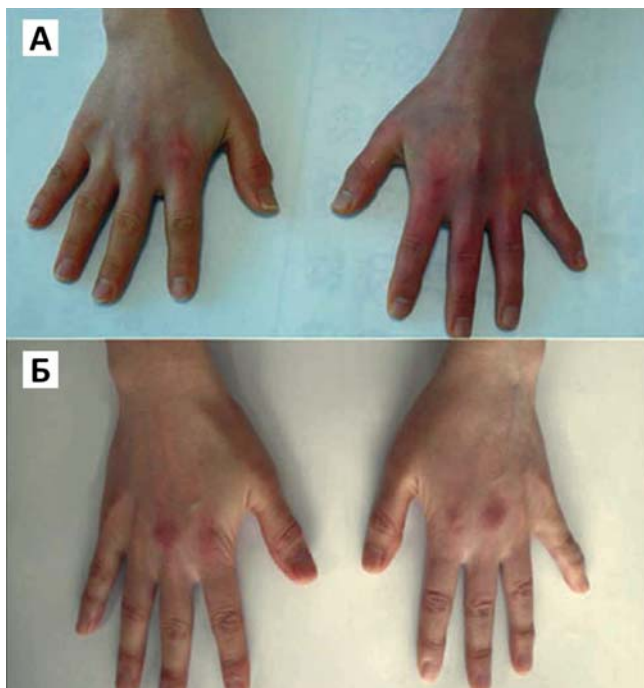


Рисунок 10. Улучшение цвета кожи и снижение отека при введении ГПЧ, до (А) и после (Б) лечения



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ревматоидный артрит является серьезной проблемой в терапии и в ряде случаев весьма тяжело поддается лечению. ГПЧ могут являться существенным дополнением к комплексной терапии артрита, т. к. пептидные компоненты препаратов ГПЧ оказывают выраженное противовоспалительное и трофическое действие, что потенцирует процессы регенерации соединительной ткани хряща и кости.

По результатам рассмотренных исследований следует также отметить несколько принципиально разных путей введения препаратов на основе ГПЧ (для наружного применения, в/м или в/в введения, введения в определенные акупунктурные точки). В частности, в/в введение ГПЧ и введение в акупунктурные точки предполагает высочайшую степень очистки гидролизата, жесткую стандартизацию по рН, аминокислотам, молекулярным массам белков, отсутствие раздражающих компонентов (этанол, фенол, хлорид натрия и другие агрессивные консерван-

ты). Такого рода препарат должен производиться в условиях, способствующих сохранению биологической активности действующего начала ГПЧ – пептидов, в т. ч. фрагментов ростовых факторов.

ГПЧ могут являться существенным дополнением к комплексной терапии артрита, т. к. пептидные компоненты препаратов ГПЧ оказывают выраженное противовоспалительное и трофическое действие, что потенцирует процессы регенерации соединительной ткани хряща и кости

Нельзя забывать и о том, что сырьем для приготовления высокоочищенных форм ГПЧ должна быть плацента полностью здоровой женщины, без вирусных и бактериальных инфекций, получавшей полноценное питание в течение всего срока беременности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филатов В.П. Тканевая терапия (учение о био-генных стимуляторах). (изд. третье, дополн.). М.: Знание, 1955. 63 с.
2. Beysac I, Martini MC, Cotte J. Oestrogen identification and dosage in filatov human placenta extracts by high performance liquid chromatography. *Int J Cosmet Sci*, 1986, 8(4): 175-188.
3. Han M, Sung YK, Cho SK, Kim D, Won S, Choi CB, Bang SY, Cha HS, Choe JY, Chung WT, Hong SJ, Jun JB, Jung YO, Kim SK, Kim TH, Koh E, Lee HS, Lee J, Lee JH, Lee SS, Nah SS, Shim SC, Yoo DH, Yoo WH, Yoon BY, Jee SH, Bae SC. Factors Associated with the Use of Complementary and Alternative Medicine for Korean Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol*, 2015, 42(11): 2075-81.
4. Gold-Aubert P, Chaumontet M, Capt M. An experimental study of the anti-inflammatory and anti-arthritis properties of a standardized placental extract. *Int J Tissue React*, 1981, 3(3-4): 155-165.
5. Zorn BL Jr. Effect of placental extracts on experimental formaldehyde arthritis in albino rats. *Z Gesamte Inn Med*, 1955, 10(21): 1009-1012.
6. Traut EF. Placental extract effective in arthritis. *IMI Ill Med J*, 1969, 135(1): 5-8.
7. Colinet E, Bolcke R. Treatment of chronic evolutive polyarthritis by lyophilized placental extracts. *Acta Physiother Rheumatol Belg*, 1952, 7(4): 247-250.
8. Rogers BJ, Chang L, Yanagimachi R. Glucose effect on respiration: possible mechanism for capacitation in guinea pig spermatozoa. *J Exp Zool*, 1979, 207(1): 107-112.
9. Kim JK, Kim TH, Park SW, Kim HY, Kim S, Lee S, Lee SM. Protective effects of human placenta extract on cartilage degradation in experimental osteoarthritis. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(6): 1004-1010.
10. Biswas TK, Auddy B, Bhattacharya NP, Bhattacharya S, Mukherjee B. Wound healing activity of human placental extracts in rats. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(12): 1113-1116.
11. Lee KH, Kim TH, Lee WC, Kim SH, Lee SY, Lee SM. Anti-inflammatory and analgesic effects of human placenta extract. *Nat Prod Res*, 2011 Jul, 25(11): 1090-1100.
12. Hong JW, Lee WJ, Hahn SB, Kim BJ, Lew DH. The effect of human placenta extract in a wound healing model. *Ann Plast Surg*, 2010, 65(1): 96-100.
13. Gupta R, Chattopadhyay D. Glutamate is the chemotaxis-inducing factor in placental extracts. *Amino Acids*, 2009, 37(2): 359-66.
14. Chakraborty PD, Bhattacharyya D, Pal S, Ali N. In vitro induction of nitric oxide by mouse peritoneal macrophages treated with human placental extract. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6(1): 100-7.
15. Wu J, Wang C, Liu Q, Yang T, Zhang Q, Peng J, Gao Y, Sun H, Kaku T, Liu K. Protective effect of JBP485 on concanavalin A-induced hepatocyte toxicity in primary cultured rat hepatocytes. *Eur J Pharmacol*, 2008 Jul 28, 589(1-3): 299-305.
16. Громова О.А., Торшин И.Ю., Сухих Г.Т., Згода В.Г., Баранов И.И., Демидов В.И., Федотова Л.Э., Назаренко О.А. Анализ легкой пептидной фракции Лаеннека методами современной протеомики, *Фармакокинетика и фармакодинамика*, 2016, 4: 13-17.
17. Li XM, Ferraro L, Tanganelli S, O'Connor WT, Hasselrot U, Ungerstedt U, Fuxe K. Neurotensin peptides antagonistically regulate postsynaptic dopamine D2 receptors in rat nucleus accumbens: a receptor binding and microdialysis study. *J Neural Transm Gen Sect*, 1995, 102(2): 125-137.
18. Gendron L, Perron A, Payet MD, Gallo-Payet N, Sarret P, Beaudet A. Low-affinity neurotensin receptor (NTS2) signaling: internalization-dependent activation of extracellular signal-regulated kinases 1/2. *Mol Pharmacol*, 2004, 66(6): 1421-30.
19. Watkins LR, Milligan ED, Maier SF. Glial activation: a driving force for pathological pain. *Trends in Neurosciences*. 2001, 24(8): 450-455.
20. Lee KW, Ji HM, Kim DW, Choi SM, Kim S, Yang EJ. Effects of Hominis placenta on LPS-induced cell toxicity in BV2 microglial cells. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(2): 286-92.
21. Song Y, Bi L, Zhang Z, Huang Z, Hou W, Lu X, Sun P, Han Y. Increased levels of calcitonin gene-related peptide in serum accelerate fracture healing following traumatic brain injury. *Mol Med Report*, 2012, 5(2): 432-8.
22. Leventoglu S, Koksal H, Sancak B, Taneri F, Onuk E. The effect of calcitonin gene-related peptide on healing of intestinal anastomosis in rats with experimental obstructive jaundice. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2009, 16(4): 546-51.
23. Lee KH, Kim TH, Lee WC, Kim SH, Lee SY, Lee SM. Anti-inflammatory and analgesic effects of human placenta extract. *Nat Prod Res*, 2011, 25(11): 1090-100.
24. Kim JK, Kim TH, Park SW, Kim HY, Kim Sh, Lee Sy, Lee SM. Protective effects of human placenta extract on cartilage degradation in experimental osteoarthritis. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(6): 1004-1010.
25. Yeom MJ, Lee HC, Kim GH, Shim I, Lee HJ, Hamm DH. Therapeutic effects of Hominis placenta injection into an acupuncture point on the inflammatory responses in subchondral bone region of adjuvant-induced polyarthritic rat. *Biol Pharm Bull*, 2003, 26(10): 1472-1477.
26. Bartlett RR, Schleyerbach R. Immunopharmacological profile of a novel isoxazol derivative, HWA 486, with potential antirheumatic activity-I. Disease modifying action on adjuvant arthritis of the rat. *Int. J. Immunopharmacol.*, 1985, 7: 7-18.
27. Blackham A, Burns JW, Farmer JB et al. An X-ray analysis of adjuvant arthritis in the rat. The effect of prednisolone and indomethacin. *Agents Actions*, 1977, 7: 145-151.
28. Fitzpatrick LR, Green C, Frauenhofer EE et al. Attenuation of arthritis in rodents by a novel orally-available inhibitor of sphingosine kinase. *Inflammopharmacology*, 2011, 19: 75-87.
29. Chang TK, Huang CH, Huang CH et al. The influence of long-term treadmill exercise on bone mass and articular cartilage in ovariectomized rats. *BMC Musculoskelet Disord*, 2010, 11: 185.
30. Кашкин В.А., Шекунова Е.В., Мужикян А.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Комплексная оценка степени развития патологии при моделировании адьювант-индуцированного артрита у крыс. *Международный вестник ветеринарии*, 2015, 1: 92-103.
31. Verhaeghe A, Lebeurre R, Lesage R, Minne A. 1st rheumatological trials of intra-articular injections of placental extracts. *Lille Med*, 1961, 6: 244-245.
32. Meixner HK. Effects of percutaneously applied placenta extracts in chronic rheumatism and arthrosis. *Medizinische*, 1955, 31-32: 1091-1093.
33. Dillon RN, Majnarich JJ. Placental extract in treatment of rheumatoid arthritis. *Northwest Med*, 1951, 50(9): 677-679.
34. Lintz RM. Implantation of placental tissue in patients with rheumatoid arthritis; preliminary report. *Ann Rheum Dis*, 1954 Mar, 13(1): 63-6.
35. Cho TH, Park KM. Complex regional pain syndrome type 1 relieved by acupuncture point injections with placental extract. *J Acupunct Meridian Stud*, 2014, 7(3): 155-8.

