DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-141-145

Иммуотропный эффект оригинальных ректальных суппозиториях с витамином D3 в динамике экспериментального язвенного колита

Осиков М. В., Симонян Е. В., Бойко М. С., Богомолова А. М.

Федеральное Государственное Бюджетное Образовательное Учреждение Высшего Образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (454092, Российская Федерация, Челябинская область, г. Челябинск, улица Воровского, 64)

Immunotropic effect of rectal suppositories with vitamin D3 in dynamics of experimental ulcer colitis

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

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "South-Ural State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (Russia, 454092, Chelyabinsk, Vorovskogo, 64)

Для цитирования: Осиков М. В., Симонян Е. В., Бойко М. С., Богомолова А. М. Иммуотропный эффект оригинальных ректальных суппозиториях с витамином D3 в динамике экспериментального язвенного колита. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;178(6): 141–145. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-141-145

For citation: Osikov M. V., Simonyan E. V., Boyko M. S., Bogomolova A. M. Immunotropic effect of rectal suppositories with vitamin D3 in dynamics of experimental ulcer colitis. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;178(6): 141–145. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-141-145

Осиков Михаил Владимирович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патофизиологии

Симонян Елена Владимировна, к.фарм.н., доцент, заведующая кафедрой химии и фармации фармацевтического факультета

Бойко Маргарита Сергеевна, ассистент кафедры патологической физиологии

Богомолова Анна Максимовна, лаборант кафедры патологической физиологии

Mikhail V. Osikov, Doctor of Medical Sciences, professor, Head of the Department of Pathophysiology

Elena V. Simonyan, Ph. D., Head of the Department of Chemistry and Pharmacy, Pharmaceutical Faculty

Margarita S. Boyko, Assistant, Department of Pathophysiology

Anna M. Bogomolova, Laboratory Assistant, Department of Pathophysiology

✉ Corresponding author:

Бойко Маргарита СергеевнаMargarita S. Boyko; Russia
ri-tochka9@list.ru

Резюме

Цель исследования — разработать новую лекарственную форму — ректальные суппозитории с витамином D3 и на доклиническом этапе провести анализ ее клинико-иммунологической эффективности по сравнению с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК) в динамике экспериментального язвенного колита (ЯК) у крыс.

Материалы и методы. ЯК моделировали накожным, а затем ректальным применением 3% раствора оксазолон. Оригинальные ректальные суппозитории с 1500МЕ витамина D3 вводили per rectum каждые 12 часов, в группе сравнения с тем же интервалом — ректальные суппозитории с 50 мг 5-АСК. Для оценки клинического статуса использовали шкалу Disease activity index (DAI), концентрацию в сыворотке IgG, IgM, IL-6, IL-8 определяли иммуноферментным методом с помощью специфических для крыс тест-систем на 2 и 6 сутки эксперимента.

Результаты исследования. При экспериментальном ЯК повышается DAI, в сыворотке увеличивается концентрация IgG, IgM, IL-8 и IL-6 на 2 и 6 сутки эксперимента. DAI нарастает по мере увеличения концентрации в сыворотке IgG, IgM, IL-8 и IL-6. Применение витамина D3 при ЯК приводит к снижению DAI и концентрации в сыворотке IgG, IgM, IL-8, IL-6 преимущественно на 6 сутки наблюдения. Применение при ЯК ректальных суппозиториях с 5-АСК приводит к снижению DAI и концентрации IgM, IgG, IL-6, IL-8 на 2 и 6 сутки наблюдения.

Вывод. Выявлена эффективность применения при экспериментальном ЯК ректальных суппозиториях, содержащих 1500 МЕ витамина D3, сопоставимая с применением ректальных суппозиториях с 5-АСК на основании оценки клинического статуса и концентрации в сыворотке IgM, IgG, IL-6, IL-8.

Ключевые слова: язвенный колит, витамин D3, IgG, IgM, IL-6, IL-8, ректальные суппозитории

Summary

Purpose of the study — to develop a new dosage form — rectal suppositories with vitamin D3 and at the preclinical stage to analyze its clinical and immunological efficacy compared to 5-aminosalicylic acid (5-ASA) in the dynamics of experimental ulcerative colitis (UC) in rats.

Materials and methods. UC was simulated by cutaneous and then rectal application of a 3% solution of oxazolone. Original rectal suppositories with 1500ME of vitamin D3 were administered per rectum every 12 hours, in the comparison group with the same interval, rectal suppositories with 50 mg of 5-ASA. To assess the clinical status, the Disease activity index (DAI) scale was used, the serum concentration of IgG, IgM, IL-6, IL-8 was determined by the enzyme immunoassay using rat-specific test systems on days 2 and 6 of the experiment.

The results of the study. In experimental UC, DAI rises, and the concentration of IgG, IgM, IL-8 and IL-6 in serum increases on the 2nd and 6th day of the experiment. DAI increases as serum concentrations of IgG, IgM, IL-8 and IL-6 increase. The use of vitamin D3 in UC leads to a decrease in DAI and serum concentrations of IgG, IgM, IL-8, IL-6 mainly on the 6th day of observation. The use of rectal suppositories with 5-ASA in UC leads to a decrease in DAI and the concentration of IgM, IgG, IL-6, IL-8 on the 2nd and 6th day of observation.

Conclusion. The efficacy of rectal suppositories containing 1500 IU of vitamin D3 in experimental UC was found to be comparable with the use of rectal suppositories with 5-ASA based on the assessment of the clinical status and serum concentration of IgM, IgG, IL-6, IL-8.

Keywords: ulcerative colitis, vitamin D3, IgG, IgM, IL-6, IL-8, rectal suppositories

Введение

Язвенный колит (ЯК) – хроническое полиэтиологичное заболевание иммуновоспалительного генеза с преимущественным поражением толстой кишки [1]. В патогенезе ЯК важная роль отводится развитию аутоиммунного воспаления в стенке толстой кишки, инициируемого нарушением целостности эпителиального барьера [2]. Повреждение эпителиального барьера, в том числе, связано с дефектами в генах цитоплазматических рецепторов и внутриклеточных сигнальных путей (PRR, TLR, NOD2, NF-κB), приводящими к активации иммунитета с гиперпродукцией провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8 и др.) и повреждению стенки кишки [3]. Прогрессирование и нарастание клинической симптоматики при ЯК связано с увеличением количества в крови и нарушением баланса между эффекторными (Th1, Th2, Th17 и др.) и регуляторными клетками (Treg), что приводит к накоплению аутоагрессивных лимфоцитов в стенке кишки [4]. В сыворотке и в слизистой оболочке толстой кишки больных ЯК зафиксированы высокие уровни IgG-1, IgG-2 и IgG-3, что подтверждает Th2-зависимые иммунные реакции, что приводит к образованию иммунных комплексов и стимулирует дифферен-

цировку Т-лимфоцитов [5]. Для базисной терапии ЯК используют производные 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), глюкокортикоиды, цитостатики, антицитокиновые и др. препараты, обладающие широким спектром побочных эффектов, у 30% больных развивается резистентность к терапии и непереносимость препаратов при длительном применении, что говорит о необходимости поиска новых терапевтических подходов [6]. В связи с этим, интерес представляют плейотропные свойства витамина D3, положительные эффекты которого продемонстрированы при сахарном диабете I типа, ревматоидном артрите и др. аутоиммунных заболеваниях, что является предпосылкой для его применения при ЯК [7, 8]. В настоящее время в РФ не зарегистрированы лекарственные формы, содержащие витамин D3, для применения *per rectum* локального воздействия на участок повреждения в толстой кишке.

Цель работы – разработать новую лекарственную форму – ректальные суппозитории с витамином D3 и на доклиническом этапе провести анализ ее клинико-иммунологической эффективности по сравнению с 5-АСК в динамике экспериментального ЯК у крыс.

Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 70 крысах-самцах линии Wistar массой 230–250г на базе вивария ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России в соответствии с правилами гуманного отношения к животным [9]. Сформировано 4 группы: I (n=7) – интактный контроль; II (n=21) – животные с ЯК; III (n=21) – животные с ЯК в условиях применения ректальных суппозиториях с витамином D3 каждые 12 ч до выведения из эксперимента на 6 сутки; IV (n=21) – животные

с ЯК в условиях применения ректальных суппозиториях с 5-АСК как в группе III. ЯК моделировали двухэтапным применением 3% спиртового раствора оксазолонa (“Sigma-aldrich”, USA): на первом этапе проводили кожную сенсibilизацию 150 мкл, на втором этапе 150 мкл вводили *per rectum* [10]. Нами разработан состав и проведены фармацевтические и фармако-технологические исследования новой лекарственной формы – суппозиториях, содержащих

1500МЕ витамина D3 на основе 10% водного раствора («Аквадетрим», АО «МЕДАНА ФАРМА», Польша), в качестве основы использованы полиэтиленгликоль (ПЭГ) 1500, ПЭГ 6000, эмульгатор Т-2, кремофор RH-40, колифор [11]. Качество суппозиториев оценивали в соответствии с ОФС.1.4.1.0013.15 Суппозитории Суппозитории с 5-АСК готовили путем расплавления и ручного формования ректальных суппозиториев «Салофальк» («Doctor Falk Pharma GmbH», Германия), содержание 5-АСК в 1 суппозитории составило 50 мг. Размеры суппозиториев с витамином D3 и 5-АСК были адаптированы под анатомические особенности кишечника крыс, конечная масса отдельного суппозитория составила 0,3 г. Исследования в группах II, III и IV проводили на 2 и 6 сутки. Для оценки клинического

статуса использовали модифицированную шкалу Disease activity index (DAI) с ежедневной оценкой массы тела, консистенции стула и наличия крови в кале (табл. 1) [12]. На автоматическом иммуноферментном анализаторе «Personal LAB» (Италия) определяли концентрацию в сыворотке IgG и IgM (результат выражали нг/мл), интерлейкина-8 (IL-8) и интерлейкина-6 (IL-6) (результат выражали в пг/мл) с помощью специфических тест-систем для крыс фирмы «Cloud-Clon Corp., ELISA KIT» (Китай). Данные обрабатывали в программе «Statistica 10.0 for Windows», используя критерии Краскелла-Манна-Уитни, Вальда-Вольфовитца, Колмогорова-Смирнова, коэффициент корреляции Спирмена. Отличия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Критерии Indications	Баллы Points	Описание Description
Масса тела Bodyweight	0	Нет потери No mass loss
	1	Снижение на 1–5% от исходной Reduction of 1–5% of the original weight
	2	Снижение на 6–10% от исходной Reduction of 6–10% of the original weight
	3	Снижение на 11–20% от исходной Reduction of 11–20% of the original weight
	4	Снижение на 21% и более от исходной Reduction of 21% and more of the original weight
Консистенция кала Consistency of the feces	0	Нормальный стул Regular solid stool
	2	Неоформленный стул Loose stool
	4	Диарея (3 и более эпизодов дефекации в сутки в течение 2 и более дней подряд) Diarrhea (3 or more episodes of defecation per day for 2 or more consecutive days)
Наличие крови в кале Presence of blood in the feces	0	Нет крови в кале No blood in the stool
	1	Позитивная бензидиновая проба в кале Positive benzidine test in feces
	2	Позитивная бензидиновая проба и визуальное определение крови в каловых массах Positive benzidine test and visual determination of blood in feces
	4	Свежая кровь на шерсти вокруг ануса и/или большое количество крови в каловых массах Fresh blood on the fur around the anus and / or a large amount of blood in the feces

Таблица 1.
Показатели индекса активности болезни (DAI)

Table 1.
Disease Activity Index (DAI) Scale

Результаты

Установлено, что при ЯК на 2 и 6 сутки наблюдения увеличивается частота дефекаций, изменяется консистенция кала на менее оформленный или жидкий, появляется кровь в каловых массах, верифицируемая визуально или путём проведения бензидиновой пробы. На 6 сутки к указанным симптомам добавляется снижение массы тела, что отразилось в увеличении DAI [табл. 2]. Кроме этого, у крыс снижается двигательная активность, подходы к пище и воде. Концентрация в сыворотке IgM и IgG, IL-6 и IL-8 при ЯК возрастает на 2 и 6 сутки наблюдения с максимумом на 6 сутки [табл. 2]. При проведении корреляционного анализа установлены прямые сильные и средней силы связи между DAI и концентрацией в крови IgG, IgM, IL-6, IL-8 на 2 и 6 сутки экспериментального ЯК [табл. 3].

В условиях применения ректальных суппозиториев с витамином D3 при ЯК наблюдалось улучшение клинической картины: каловые массы становились более плотными с меньшим количеством крови, что привело к значимому снижению DAI на 6 сутки. Концентрация IgM и IgG в сыворотке уменьшалась на 6 сутки наблюдения с максимальной выраженностью эффекта на 6 сутки эксперимента. Концентрация IL-8 снижалась на 6 сутки, IL-6 – на 2 и 6 сутки эксперимента с максимальной выраженностью на 6 сутки [табл. 2]. По сравнению с группой интактных животных имеются значимые отличия по показателю DAI на 2 и 6 сутки. Отметим, что в группе III концентрация в сыворотке IgM на 6 сутки наблюдения достигает значений в группе интактных животных, концентрация в сыворотке

Таблица 2.
Влияние витамина D₃ в составе ректальных суппозиториях на клинический статус и иммунологические показатели при экспериментальном ЯК, Me(Q₂₅-Q₇₅)

Примечание.
* – статистически значимые различия (p<0,05) с группой 1.
– статистически значимые различия (p<0,05) с группой 2.
\$ – статистически значимые различия (p<0,05) с группой 3.

Table 2.
The effect of vitamin D₃ in the composition of rectal suppositories on the clinical status and immunological parameters in experimental UC, Me(Q₂₅-Q₇₅)

Note.
* – statistically significant differences (p <0.05) with group 1.
– statistically significant differences (p <0.05) with group 2.
\$ – statistically significant differences (p <0.05) with group 3.

Показатель	Группа I Интактные (n=7)	Группа II ЯК 2 сутки (n=7)	Группа II ЯК 6 сутки (n=7)	Группа III ЯК+VD3 2 сутки (n=7)	Группа III ЯК+VD3 6 сутки (n=7)	Группа IV ЯК+5-АСК 2 сутки (n=7)	Группа IV ЯК+5-АСК 6 сутки (n=7)	
Индекс ДАИ	0,00 (0,00–0,00)	7,00 (3,00–7,00) *	11,00 (11,00–11,00) *	5,00 (5,00–5,00) *	4,00 (4,00–4,00) * #	5,00 (4,00–5,00) *	4,00 (2,00–4,00) * #	Index DAI
Ig G, нг/мл	3,23 (3,05–7,27)	10,51 (10,32–10,67) *	10,58 (10,51–16,66) *	9,81 (8,23–10,15) *	9,54 (7,53–9,63) * #	6,66 (3,36–8,41) #	6,31 (5,01–7,79) #	IgG, ng/ml
Ig M, нг/мл	12,71 (11,82–17,64)	29,98 (29,63–60,58) *	34,22 (29,63–34,92) *	27,16 (26,45–27,16) *	20,46 (15,52–21,87) #	25,05 (25,05–25,04) * # \$	20,81 (20,81–21,87) * #	IgM, ng/ml
IL-8, пг/мл	90,61 (88,51–93,12)	273,47 (222,36–291,08) *	245,74 (225,76–296,36) *	227,46 (205,35–243,62) *	216,41 (184,94–226,19) * #	91,44 (70,47–118,28) # \$	79,27 (77,61–90,18) # \$	IL-8, pg/ml
IL-6, пг/мл	16,57 (15,65–18,41)	45,11 (44,18–46,03) *	52,47 (49,71–54,31) *	38,66 (37,74–39,58) * #	24,85 (23,93–25,77) * #	27,61 (26,69–28,53) * # \$	22,09 (21,17–23,01) * #	IL-6, pg/ml
	Group I Intact (n=7)	Group II UC2 day (n=7)	Group II UC6 day (n=7)	Group III UC+VD3 2 day (n=7)	Group III UC6 day (n=7)	Group IV UC+5-ASA 2 day (n=7)	Group IV UC+5-ASA 6 day (n=7)	Indicator

Таблица 3.
Корреляция между показателями иммунного статуса и индексом активности болезни (DAI) при экспериментальном ЯК

Примечание.
Приведены значения коэффициента корреляции Спирмена (R) с индексом активности болезни (DAI, у.е.). Полужирным шрифтом выделены статистически значимые (p<0,05) связи.

Table 3.
Correlation between indicators of immune status and disease activity index (DAI) in experimental UC

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

Показатели	Группа II ЯК 2 сутки	Группа II ЯК 6 сутки	
IgG, нг/мл	R=0,74	R=0,94	IgG, ng/ml
IgM, нг/мл	R=0,67	R=0,73	IgM, ng/ml
IL-6, пг/мл	R=0,79	R=0,89	IL-6, pg/ml
IL-8, пг/мл	R=0,64	R=0,69	IL-8, pg/ml
	Group II UC2 day	Group II UC6 day	Indicator

IgG имеет значимые отличия с группой интактных. Концентрация IL-8 и IL-6 значимо выше на 2 и 6 сутки наблюдения по сравнению с группой интактных животных.

В условиях применения ректальных суппозиториях с 5-АСК при экспериментальном ЯК зафиксировано снижение DAI на 6 сутки наблюдения [табл. 2]. По сравнению с группой интактных животных имеются значимые различия по показателям DAI на 2 и 6 сутки наблюдения, а по сравнению с группой крыс на фоне применения суппозиториях с витамином D₃ значимые отличия не выявлены во все сроки наблюдения. Концентрация в сыворотке IgM, IgG, IL-6 и IL-8 снижалась на 2 и 6 сутки с максимальной выраженностью эффекта на 6 сутки эксперимента [табл. 2]. Отметим, что в группе IV концентрация в сыворотке IgG на 2 и 6 сутки наблюдения достигает значений в группе интактных животных, отличия с группой III не выявлены. Концентрация в сыворотке

IgM на 2 и 6 сутки наблюдения в группе IV значимо выше, чем в группе интактных животных, отличие с группой III наблюдается на 2 сутки эксперимента. Концентрация в сыворотке IL-8 в группе IV имеет значимые отличия с группой интактных животных на 2 сутки эксперимента, отличия с группой III зафиксированы на 2 и 6 сутки наблюдения. Концентрация в сыворотке IL-6 в группе IV значимо выше на 2 и 6 сутки эксперимента по сравнению с группой интактных животных, отличия по сравнению с III группой животных отмечены на 2 сутки эксперимента.

Итак, эффективность применения при экспериментальном ЯК ректальных суппозиториях с витамином D₃ сопоставима с эффективностью применения суппозиториях с 5-АСК в отношении DAI, концентрации IgG и IgM, IL-6 на 6 сутки. При этом ректальные суппозитории с 5-АСК оказывают более выраженное влияние на концентрацию в сыворотке IL-8.

Обсуждение

Полученные результаты об увеличении при оксалонон-индуцированном ЯК концентрации в сыворотке IgM и IgG, а также IL-6 и IL-8 подтверждают данные литературы о важном значении дисрегуляции иммунного ответа, нарушении баланса между эффекторными (Th1, Th2, Th17, В-лимфоциты и др.)

и регуляторными (Treg) клетками в аутоиммунном повреждении стенки толстой кишки [3, 5].

Снижение концентрации IL-6, IL-8 в сыворотке в условиях применения ректальных суппозиториев с витамином D3 может быть связано с противовоспалительным и иммуномодулирующим эффектами витамина D3. Применение витамина D3 при рассеянном склерозе приводит к увеличению продукции IL-10 и количества Treg в крови, изменению баланса Th1/Th2 в сторону Th2-зависимого иммунного ответа; при псориазе витамин D3 опосредованно увеличивает количество Treg, что ведет

к ограничению воспаления. Витамин D3 ингибирует активность Th17 со снижением продукции IL-17 при ревматоидном артрите [7, 13].

Локальное применение витамина D3 при экспериментальном ЯК привело к снижению концентрации в сыворотке IL-8 – активатора функциональной активности нейтрофилов, моноцитов, макрофагов. Уменьшение концентрации IgM, IgG в сыворотке может быть связано с угнетением дифференцировки Th1 / Th17 Т-клеток, снижением продукции провоспалительных цитокинов, подавлением управляемой Т-клетками продукции иммуноглобулинов.

Выводы

1. В динамике экспериментального оксазолон-индуцированного ЯК клинические признаки заболевания (увеличение частоты и снижение оформленности стула, появление крови в каловых массах, снижение массы тела), ассоциированы с увеличением в сыворотке концентрация IgG, IgM, IL-8 и IL-6.
2. Обоснован состав и разработана технология получения и стандартизации новой лекарственной формы – ректальных суппозиториев, содержащих 1500МЕ витамина D3.
3. Применение витамина D3 в составе ректальных суппозиториев оригинального состава ежедневно с интервалом в 12 ч при экспериментальном ЯК приводит к снижению индекса активности болезни, концентрации в сыворотке IL-6 на 2 и 6 сутки, IgG, IgM, IL-8 – на 6 сутки наблюдения.
4. Применение ректальных суппозиториев с 5-АСК при экспериментальном ЯК приводит к снижению индекса активности болезни, снижению в сыворотке IgG, IgM и IL-6, IL-8 на 2 и 6 сутки эксперимента.
5. При экспериментальном ЯК эффективность применения ректальных суппозиториев оригинального состава с витамином D3 сопоставима с эффективностью применения ректальных суппозиториев с 5-АСК по индексу клинической активности, концентрации в сыворотке IgG, IgM и IL-6.

Литература | References

1. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis // *The Lancet*. 2017. 389, 10080, 1756–1770. doi:10.1016/S0140-6736(16)32126-2.
2. Lee SH, Kwon JE, Cho ML. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease // *Intest Res*. 2018. 16, 1, 26–42. doi:10.5217/ir.2018.16.1.26.
3. Martinez-Fierro ML, Garza-Veloz I, Rocha-Pizaña MR, et al. Serum cytokine, chemokine, and growth factor profiles and their modulation in inflammatory bowel disease // *Medicine*. 2019. 98, 38, 17208. doi:10.1097/MD.00000000000017208.
4. Castro-Dopico T., Dennison T. W., Ferdinand J. et. al. Anti-commensal IgG Drives Intestinal Inflammation and Type 17 Immunity in Ulcerative Colitis // *Immunity*. 2019. 50, 4. 10.1016/j.immuni.2019.02.006.
5. Silva FA, Rodrigues BL, Ayrisono ML, Leal RF. The Immunological Basis of Inflammatory Bowel Disease // *Gastroenterol Res Pract*. 2016. 2016, 2097274. doi:10.1155/2016/2097274.
6. Ивашкин В.Т., Шелыгин Ю.А., Халиф И.Л., Белоусова Е.А. и др. Клинические рекомендации российской гастроэнтерологической ассоциации и ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению язвенного колита // *Колопроктология*. 2017. 1, 59, 6–30. Ivashkin V. T., Shelygin Yu. A., Khalif I. L., Belousova E. A. et al. Clinical guide of russian association of gastroenterology and russian association of coloproctology on diagnostics and treatment of ulcerative colitis. *Koloproktologia*. 2017. 1, 6–30.
7. Снопов С.А. Механизмы действия витамина d на иммунную систему // *Медицинская иммунология*. 2014. 16, 6, 499–530. Snopov S. A. Mechanisms of vitamin d action on the immune system. *Medical Immunology (Russia)*. 2014. 1, 6, 499–530.
8. Мальцев С. В., Рылова Н. В. Витамин d и иммунитет // *Практическая медицина*. 2015. 1, 86, 114–120. Maltsev S. V., Rylova N. V. Vitamin D and immunity. *Practical medicine*. 2015. 1, 86, 114–120.
9. Директива 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Санкт-Петербург 2012 г. 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.
10. Boirivant M, Fuss IJ, Chu A, Strober W. Oxazolone colitis: A murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4 // *J Exp Med*. 1998, 188, 10, 1929–39. DOI: 10.1084/jem.188.10.1929.
11. Патент РФ № 2019115328, 2019.05.20. Симонян Е.В., Осиков М.В., Бойко М.С., Бакеева А.Е. Средство с витамином D3 для лечения язвенного колита в форме ректальных суппозиториев. Патент РФ № 2709209. 2019. Бюл. № 35. RF patent No. 2019115328, 2019.05.20. Simonyan E. V., Osikov M. V., Boyko M. S., Bakeeva A. E. An agent with vitamin D3 for the treatment of ulcerative colitis in the form of rectal suppositories. RF patent No. 2709209. 2019. Bull. Number 35.
12. Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis // *Lab. Invest*. 1993. 69, 2, 238–249.
13. Del Pinto R, Ferri C, Cominelli F. Vitamin D Axis in Inflammatory Bowel Diseases: Role, Current Uses and Future Perspectives // *Int J Mol Sci*. 2017. 18, 11, 2360. doi:10.3390/ijms18112360.